

Aus der Klinik für Neurochirurgie
der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. V. Tronnier

**Die diagnostische Wertigkeit von Liquor- und
Serum-Markern zur Früherkennung einer
Meningitis**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

-Aus der Medizinischen Fakultät-

vorgelegt von
Andrea Finis
aus Hamburg

Lübeck 2009

1. Berichtstatter: Priv. Doz. Dr. med. Jan Gliemroth
2. Berichtstatter: Priv. Doz. Dr. med. Ulrich Missler

Tag der mündlichen Prüfung: 08.07.2009
Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 08.07.2009

Inhaltsverzeichnis

	Seite	
1	Einleitung	1
1.1	Grundlagen	1
1.2	Meningitis/ Shuntinfektionen	4
1.2.1	Definition	4
1.2.2	Diagnostik, Therapie und Prognose der Meningitis	7
1.2.3	Meningitis als Folge einer Drainageanlage	10
1.3	Zerebrale Proteine	11
1.3.1	Übersicht über zerebrale Proteine	11
1.3.2	S-100	13
1.3.3	Saures Gliafaserprotein (GFAP)	15
1.3.4	Sonstige Proteine	16
1.4	Procalcitonin als Entzündungsmarker	17
1.5	Fragestellung	18
2	Material und Methoden	19
2.1	Übersicht über die Patientengruppe	20
2.1.1	Allgemeiner Überblick	20
2.1.2	Diagnosen	21
2.1.3	Art der Liquordrainage	21
2.2	Probengewinnung und Verarbeitung	22
2.3	Assaybeschreibung	23
2.3.1	Allgemeiner Überblick	23
2.3.2	In allen Assays angewendete Verfahren	23
2.3.2.1	Biotinylierung der zweiten Antikörper	23

2.3.2.2	Markierung des Streptavidin mit Europium	24
2.3.2.3	Herstellung der Enhancementlösung	24
2.3.2.4	Herstellung des Waschpuffers	24
2.3.2.5	Herstellung des TRIS/HCl/NaCl-Puffers	24
2.3.3	Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung von GFAP	25
2.3.4	Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung von S-100	27
2.3.5	Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung von NSE	28
2.3.6	Immunoluminometrischer Assay (ILMA) zur Bestimmung von PCT	29
2.4	Statistik	32
3	Ergebnisse	33
3.1	Klinischer Verlauf	33
3.2	Verlauf der Laborparameter bei liegender Liquordrainage	38
3.3	GFAP-, S-100- und PCT-Level in Blut und Liquor bei Meningitis-Patienten	40
3.3.1	Patient 1	43
3.3.2	Patient 2	44
3.3.3	Patient 3	45
3.3.4	Patient 4	46
3.3.5	Patient 5	47
3.3.6	Patient 6	48
3.3.7	Patient 7	49
3.3.8	Patient 8	50
3.3.9	Patient 9	50
3.3.10	Patient 10	50
3.3.11	Patient 11	50
3.3.12	Patient 12	50
3.3.13	Patient 13	56
3.3.14	Patient 14	57

3.3.15	Patient 15	58
3.3.16	Patient 16	59
3.3.17	Patient 17	60
3.4	Vergleich der GFAP-Level im Blut und Liquor mit den jeweiligen S-100- und PCT-Level	61
4	Diskussion	67
4.1	Morbidität und Mortalität bei Meningitis	67
4.2	GFAP bei Meningitis	71
4.3	S-100 bei Meningitis	73
4.4	PCT bei Meningitis	75
4.5	Zusammenfassende Bewertung der zerebralen Proteine als Marker bei einer Meningitis	78
5	Zusammenfassung	80
6	Abkürzungsverzeichnis	82
7	Literaturverzeichnis	84
8	Danksagung	93
9	Lebenslauf	95

1 Einleitung

1.1 Grundlagen

Erworbene Erkrankungen während eines Krankenhausaufenthaltes, insbesondere im Bereich einer Intensivstation, sind häufig. Sie erhöhen die Morbidität und Mortalität und tragen zur Steigerung der Versorgungskosten bei. Bestimmte nosokomiale Infektionen scheinen, wie in der Arbeit von *Arunodaya* beschrieben, besonders im Bereich der neurologischen und neurochirurgischen Intensivmedizin mit einer höheren Morbidität und Mortalität assoziiert zu sein (*Arunodaya*, 2001). Deshalb hat eine Vermeidung von nosokomialen Infektionen bei immungeschwächten Patienten auf einer Intensivstation durch die Ausschaltung von Infektionsquellen oberste Priorität. Ist dieses jedoch nicht durchgehend durchführbar, so kommt der frühzeitigen Erkennung einer Infektion zur Komplikationsminderung und Senkung der Mortalität eine bedeutende Rolle zu.

Eine dieser möglichen schwerwiegenden Infektionen auf einer neurochirurgischen Intensivstation ist eine akute Hirnhautentzündung (Meningitis) infolge der Anlage von therapeutisch notwendigen Liquorableitungen in Form von externen Ventrikeldrainagen oder Lumbaldrainagen. Diese stellen eine potentielle Eintrittspforte für Erreger dar, so dass das Risiko für eine Meningitis bei notwendiger Anlage deutlich erhöht ist (*Alleyne et al.*, 2000). Obwohl in der randomisierten Studie von *Poon et al.* eine signifikante Reduktion von schwerwiegenden ventrikeldrainagenassoziierten Infektionen nachgewiesen werden konnte, ist die prophylaktische Gabe von Antibiotika sowohl aus ökonomischen als auch aus infektiologischen Gründen wegen eines gehäuftten Auftretens von resistenten oder opportunistischen Erregern nicht uneingeschränkt indiziert (*Poon et al.*, 1998; *Namias et al.*, 1999). Aufgrund dessen ist es von entscheidender Bedeutung, eine lebensbedrohliche akute Meningitis in der Frühphase zu erkennen, um eine erfolgreiche Therapie durchführen zu können.

Zur Diagnostik der akuten Meningitis steht zunächst einmal die klinisch-neurologische Untersuchung zur Verfügung, die jedoch bei komatösen oder narkotisierten Patienten nur sehr eingeschränkt durchführbar ist. Weitere diagnostische Möglichkeiten stellen moderne bildgebende Verfahren wie beispielsweise die Computertomographie (CT) oder die Magnetresonanztomographie (MRT) dar. Sie liefern jedoch in der Frühphase einer Meningitis keine sicheren Erkennungsmerkmale (*Kastrup et al.*, 2005; *Ferreira et al.*, 2005). Abgesehen davon sind diese diagnostischen Maßnahmen teuer. Die dafür

notwendigen Transporte können für die ohnehin schwer kranken Patienten zusätzlich gefährdend sein.

Laborchemische Routineuntersuchungen können z.B. durch Erhöhungen der Blutsenkungsgeschwindigkeit, der Leukozytenzahl und des C-reaktiven Proteins einen verzögerten Hinweis auf eine Entzündung geben, eine Infektion jedoch nicht spezifizieren (*Povoa et al., 2006*). Dieses ist auf einer Intensivstation schwierig zu differenzieren, da insbesondere bei beatmeten und analgosedierten Patienten z.B. eine erhöhte Inzidenz von Atemwegsinfektionen zu verzeichnen ist (*Arunodaya, 2001; Sallam et al., 2005*). Harnwegsinfekte bei Dauerkatheterversorgung treten auf allen Intensivstationen mit ähnlicher Inzidenz auf und können ebenfalls die genannten Laborparameter beeinflussen (*Clyne und Olshaker, 1999; Zollmann et al., 2005; Akcam et al., 2006*). In Folge operativer Eingriffe können die laborchemischen Parameter unspezifisch erhöht sein (*Powell, 1979; Arunodaya, 2001*).

Eine gezielte antibiotische Therapie beim mikrobiologischen Nachweis von pathogenen Keimen ist selbstverständlich und wird in der Praxis auch durchgeführt. Eine prophylaktische Antibiotika-Gabe dagegen ist umstritten; sie ist kostspielig und nachgewiesenen Maßen nicht ausreichend effektiv (*Namias et al., 1999*). Dieses gilt insbesondere für Liquordrainagen. Die Gefahr der Selektion multiresistenter Erreger ist groß (*Poon et al., 1999; Anupurba und Sen, 2005; Dai et al., 2006*). Auch andere vergleichende Studien kommen zu dem Resultat, dass es keinen definitiven Nutzen für eine prophylaktische Antibiotika-Gabe bei liegender Ventrikeldrainage gibt (*Prabhu et al., 1999; Alleyne et al., 2000*). So konnte in der retrospektiven Studie von *Alleyne et al.* unter Einschluss von 308 Patienten mit liegenden Ventrikeldrainagen für mehr als 3 Tage nachgewiesen werden, dass eine prophylaktische Langzeittherapie keine wesentliche Besserung des Outcomes im Vergleich mit einer perioperativen Gabe erbrachte. Des weiteren wird auch in dieser Studie die Selektion von multiresistenten Erregern beschrieben. Die Kosten für eine antibiotische Langzeittherapie werden allein in den Institutionen der Autoren auf etwa 80000 U.S.-Dollar pro Jahr veranschlagt (*Alleyne et al., 2000*).

Auch die Untersuchung des Liquors ist zur Frühdiagnostik der akuten Meningitis nicht uneingeschränkt einsetzbar. Zellzahl und Gesamteiweiß steigen erst im Verlauf einer Meningitis an, so dass diese zwar diagnostiziert, aber nicht immer frühzeitig erkannt werden kann. Dazu muss noch bedacht werden, dass auch die neurochirurgischen Grunderkrankungen, wie beispielsweise eine Subarachnoidalblutung oder eine intraventrikuläre

Blutung, zur Erhöhung der Zellzahl und des Eiweißes im Liquor führen können. Des weiteren ist eine engmaschige Untersuchung des Liquors bei Patienten ohne Liquordrainage nicht möglich und bei Patienten mit angelegten Liquordrainagen aus infektiologischen und ökonomischen Gründen nur eingeschränkt vertretbar. Auch die Wertigkeit bleibt wegen der Maskierung der laborchemischen Parameter und des klinischen Erscheinungsbildes durch andere Infektionen fraglich (*Hader und Steinbok, 2000*). Somit ist es nötig, nach einem spezifischen und kostengünstigen Marker zu suchen, der ein frühzeitiges Erkennen einer Meningitis und folglich ein erfolgreicherer Therapieregime erlaubt. Ein möglicher Ansatzpunkt ist die Bestimmung zerebraler und nicht-zerebraler Proteine im Blut und Liquor.

In mehreren Untersuchungen wurde bereits gezeigt, dass der Nachweis von einzelnen ZNS-Proteinen wie z.B. des S-100 Proteins (S-100) und auch des saure Gliafaserproteins (GFAP) im Blut möglich ist und eine quantitative Aussage über die Schädigung von Zellen des ZNS erlaubt (*Missler und Wiesmann, 1995; Missler et al., 1999*). Auch gibt es erste Hinweise darauf, dass die Konzentrationen dieser Proteine im Liquor bereits in der Frühphase einer Meningitis ansteigen.

Ein weiteres interessantes Protein ist die Neuronspezifische Enolase (NSE) in ihrer Rolle als Destruktionsmarker. Hierzu untersuchten *Lima et al.* 4 Patientengruppen, unter anderem Patienten mit einer Meningitis, und bestimmten den NSE-Spiegel im Serum und im Liquor. Hierbei fand sich keine eindeutige Relation zwischen einer Meningitis und des NSE als Marker zur Früherkennung dieser Erkrankung (*Lima et al., 2004*).

Im Blut wiederum konnte ein sekundärer Konzentrationsanstieg der neurobiochemischen Marker nachgewiesen werden (*Missler und Wiesmann, 1995*). Ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des ZNS-Schadens initial sowie im Verlauf und der Höhe des Konzentrationsunterschiedes der neuronalen Strukturproteine konnte dargestellt werden (*Michetti et al., 1980; Sindic et al., 1982; Aurell et al., 1991*). Dieses eröffnet die Möglichkeit einer zusätzlichen Patientenüberwachung im Rahmen einer ZNS-Erkrankung.

Im Blut steigt das C-reaktive Protein (CRP) im Rahmen einer Entzündung üblicherweise an und wird routinemäßig bestimmt. Ein Nachweis des CRP im Liquor, welcher zum Zeitpunkt der Zielsetzung noch nicht in der Literatur beschrieben worden war, könnte einen deutlichen Fortschritt bei der Früherkennung einer Meningitis bedeuten.

Ein weiterer interessanter Marker ist das Präcalcitonin (PCT) im Blut. Es gibt bereits Untersuchungen, die die Bestimmung von Präcalcitonin als Marker in der Frühphase von Entzündungen und zur Unterscheidung von bakteriellen und viralen Infektionen für

sinnvoll erachten (*Meisner*, 1999). Erste Daten sprechen gegen ein Vorkommen von Präcalcitonin im Liquor (*Meisner*, 2000).

1.2 Meningitis/ Shuntinfektionen

1.2.1 Definition

Eine Meningitis bezeichnet unabhängig von der auslösenden Ursache eine entzündliche Erkrankung der Hirn- und/ oder Rückenmarkshäute (Meningen). Nach Lokalisation der Entzündung lässt sich eine überwiegend die Konvexität des Gehirns betreffende Haubenmeningitis von einer die Schädelbasis betreffenden basalen Meningitis unterscheiden. Greift die Entzündung auf die inneren Liquorräume über, spricht man von einer Ventrikulitis (*Classen et al.*, 1998). Pathologisch-anatomisch unterscheidet man zwischen der Entzündung der harten (Pachymeningitis) oder der weichen Hirnhaut (Leptomeningitis) bzw. der Rückenmarkshäute (Meningitis spinalis), meist kombiniert (Meningitis cerebrospinalis). Nach dem Verlauf lassen sich drei verschiedene Arten unterscheiden: a) die schwere eitrige, akut verlaufende, meist bakterielle Meningitis, b) die nicht-eitrige, lymphozytäre, meist viral bedingte Meningitis und c) die chronische Meningitis, für die eine Vielzahl verschiedener Erreger in Betracht kommen.

Für diese Studie ist die **akute bakterielle Meningitis** entscheidend, die auch als eitrige Meningitis bezeichnet wird. Es handelt sich um eine Leptomeningitis, d.h. eine bakterielle Entzündung der Pia mater und der Arachnoidea. Grundsätzlich sind die weichen Häute des Gehirns und Rückenmarks in ihrer ganzen Ausdehnung erkrankt. Der Subarachnoidalraum zwischen der Pia mater und der Arachnoidea ist dabei mit serösem Exsudat gefüllt. Die Entzündung greift regelmäßig auf die Ependymauskleidung der Ventrikel über. Häufig ist auch die oberflächliche Hirnrinde entzündlich infiltriert (Meningoenzephalitis). Die Hirnnerven sowie die Rückenmarkswurzeln, die den Subarachnoidalraum durchziehen, sind vielfach ebenfalls mit betroffen.

Epidemiologisch liegt die Inzidenz in Mitteleuropa bei etwa 5-10 Fällen pro 100.000 Einwohner pro Jahr. Die Häufigkeit ist insgesamt eher rückläufig, unter anderem aufgrund der zunehmenden Durchimpfung gegen *Haemophilus influenzae* (*Thomson und Bertram*, 2001; *Chadwick und Lever*, 2002). Dieser Keim stellte bis dahin im Kindesalter die häufigste Erregerursache dar. In Entwicklungsländern dagegen ist die Meningitis,

besonders auch die epidemisch auftretende Meningokokkenmeningitis, weitaus häufiger geworden und gehört bei den Kindern zu den häufigsten Todesursachen überhaupt. Die World Health Organisation (WHO) bezeichnet die bakterielle Meningitis immer noch als ernste Bedrohung der globalen Gesundheit mit ca. 170000 Toten pro Jahr weltweit. Trotz der vorhandenen Antibiotikatherapie und der möglichen Intensivtherapie enden 5-10% der Fälle in den Industrieländern fatal. In den Entwicklungsländern ist diese Rate noch höher. Die Erreger können zum einen über eine Tröpfcheninfektion wie bei einer Meningokokkenmeningitis und zum anderen hämatogen bei Generalisierung einer bakteriellen Infektion oder durch Streuung aus einem chronischen Entzündungsherd in die Meningen gelangen. Ebenso können sie per continuitatem bei Infektionen im HNO-Bereich, zum Beispiel bei einer Sinusitis, oder über eine eitrige Thrombophlebitis in den Subarachnoidalraum vordringen. Ein weiterer direkter Infektionsweg ist bei Schädel- und Schädelbasisfrakturen gegeben, insbesondere wenn es zum Einriss der harten Hirnhaut (Dura mater) kommt. Bei einer offenen Hirnverletzung gelangen die Erreger direkt in die Liquorräume.

Das Erregerspektrum hängt von der Umgebungsanamnese und dem Lebensalter ab. Im Säuglingsalter sind Infektionen durch Enterobakterien, *Escherichia coli* und Streptokokken der Serogruppe B vorherrschend. Im Kleinkindesalter vom 1. - 6. Lebensjahr treten am häufigsten Infektionen mit *Haemophilus influenzae* auf, während im Schulkindalter Infektionen durch Meningokokken, Pneumokokken und *Haemophilus influenzae* vorherrschen. Im Erwachsenenalter finden sich hauptsächlich Infektionen durch Pneumokokken und Meningokokken, zunehmend auch durch Listerien und Staphylokokken (*Dunbar et al., 1998; Thomson und Bertram, 2001*). *Pintado et al.* vergleichen in einer retrospektiven Studie 140 Fälle einer Meningitiserkrankung, die durch Enterokokken verursacht, bei Erwachsenen oder Kindern postoperativ oder spontan auftraten (*Pintado et al., 2003*). Bis zu 10% der Gesunden haben Meningokokken im Nasen-Rachen-Raum (Keimträger). Sowohl Pneumokokken als auch Meningokokken sind normalerweise in der Umwelt präsent und residieren möglicherweise im Nasen-Rachen-Raum und in den oberen Atemwegen ohne zu einer Erkrankung zu führen. Das Risiko, eine Meningitis durch *Neisseria meningitidis* oder *Streptococcus pneumoniae* zu bekommen, ist insbesondere bei Menschen mit Alkoholabusus, bei Z.n. Milzentfernung, bei Infektionen des Mittelohres, bei Sichelzellanämie oder Pneumokokkenpneumonie erhöht. *Listeria monocytogenes* verursachen ca. 10% der bakteriellen Meningitis-Fälle. Besonders Menschen mit Nierenversagen und Immunsuppression sind gefährdet.

Bei nosokomialen Infektionen, insbesondere nach neurochirurgischen Eingriffen und Ventrikelkatheteranlagen, finden sich überwiegend Staphylokokken und *Pseudomonas aeruginosa* als auslösende Erreger. *Poon* beschreibt in seiner randomisierten Studie hauptsächlich durch Staphylokokken, *E.coli* und Klebsiellen ausgelöste Infektionen (*Poon et al.*, 1998). Nach offenem Schädeltrauma mit Durafistel erstreckt sich das häufigste Erregerspektrum auf die Pneumokokken und Staphylokokken (*Poock und Hacke*, 2006).

Neben der bakteriellen stellt auch die virale Meningitis einen Schwerpunkt dar. Sie wird auch als **akute lymphozytäre Meningitis** bezeichnet und ist wesentlich häufiger als die eitrige Meningitis. Sie ist bei Menschen mit einem intakten Immunsystem eine ernste, aber selten fatale Form der Meningitis. Die Erreger dieser Meningitis werden in zwei Gruppen eingeteilt: a) nicht primär neurotrope Viren, die im Generalisationsstadium die Meningen fakultativ befallen können. Hierzu zählen hauptsächlich Echoviren, Coxsackie- und Mumpsviren. Seltener treten Infektionen mit Varizellen-, Masernviren und Human immunodeficiency virus (HIV) auf; b) primär neurotrope Viren, zu denen u.a. Herpes-Simplex-Virus Typ I, Varizella-Zoster-Virus, Epstein-Barr-Virus, Zytomegalie-Virus und Arboviren als Auslöser der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) zählen.

Eine **chronisch lymphozytäre Meningitis** wird meist durch nicht-virale Erreger ausgelöst. Dazu zählen beispielsweise Pilze, Protozoen, die Tuberkulose, Leptospiren, Morbus Whipple, Morbus Boeck und Morbus Behçet. Insbesondere die in den letzten Jahren gestiegene Zahl einer durch Pilze verursachten Meningitis ist dabei nicht außer Acht zu lassen. Bei neurochirurgischen Patienten wurden Infektionsraten von 6–17% beschrieben, die hauptsächlich durch *Candida*-Spezies (insbesondere *Candida albicans*) hervorgerufen wurden. Die Pathogenese dieser Infektion ist immer noch unklar, jedoch gibt es viele Risikofaktoren, die eine *Candida*-Meningitis begünstigen. Zu diesen gehören u.a. der Gebrauch von Breitspektrumantibiotika und Steroiden (*Montero et al.*, 2000). Auch die ansteigenden Überlebenszeiten immunsupprimierter Krebspatienten haben einen Anstieg der Erkrankungshäufigkeit zur Folge. *Chen et al.* führen desweiteren bakterielle Meningitiden, neurochirurgische Eingriffe, intraabdominelle Eingriffe, eine parenterale kontinuierliche Analgetikagabe, eine totale parenterale Ernährung und intravenöse Katheter als Riskofaktoren auf (*Chen et al.*, 2002).

1.2.2 Diagnostik, Therapie und Prognose der Meningitis

Das klinische Bild einer Meningitis kann sehr unterschiedlich verlaufen, sie beginnt jedoch in vielen Fällen mit einem Prodromalstadium von wenigen Stunden oder Tagen, während dessen sich die Patienten matt und abgeschlagen fühlen, frösteln, über Kopf- und Gliederschmerzen klagen und eine leichte Temperaturerhöhung haben. Mit dem Ausbruch der vollen meningitischen Symptomatik setzen heftigste Kopf- und Nackenschmerzen (oft mit Opisthotonus), Reizüberempfindlichkeit insbesondere gegenüber Licht, Konjunktivitis und Fieber mit Temperaturen über 39°C (weniger ausgeprägt bei viraler Meningitis) ein. Erbrechen, eine vermehrte Krampfneigung, Verwirrtheit bis zur Psychose sowie Bewusstseinsstörungen bis hin zum Koma können hinzutreten. Bei ca. 83% der Patienten besteht ein Meningismus (*Classen et al., 1998*). Die Meningismuszeichen (nach Brudzinski, Kernig und Lasègue) sind positiv.

Als Komplikationen einer Meningitis können neurologische Probleme wie Hirnödem, Hydrozephalus, Enzephalitis, Hirnabszess, septische Sinusvenenthrombose oder Hörschäden auftreten. Aber auch systemische Folgen mit zum Teil letalem Verlauf wie ARDS (adult respiratory distress syndrome), Venenthrombose, Lungenembolie oder Sepsis sind möglich.

Speziell bei der Meningokokkenmeningitis findet man petechiale Hautblutungen sowie die Entwicklung des Waterhouse-Friderichsen-Syndroms in Folge einer Meningokokkensepsis. Dieses Syndrom ist durch eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC), Sepsis und ausgeprägten Hautveränderungen gekennzeichnet (*Poeck und Hacke, 2006*).

Besteht aufgrund von vorhandenen Leitsymptomen und passenden Begleitsymptomen der Verdacht auf eine Meningitis, müssen laborchemische Untersuchungen folgen. Als allgemeine laborchemische Parameter gelten die Bestimmung der Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG), der Leukozytenzahl und des CRP, ein "Akute-Phase-Protein", welches aufgrund verschiedener Stimuli, u.a. durch den Einfluss von Zytokinen, in der Leber synthetisiert wird. Es besteht aus 5 identischen Untereinheiten, die auf einem einzigen Gen auf dem Chromosom 1 codiert werden. Damit wird dann eine stabile scheibenartige Struktur formiert. Die Benennung des CRP erfolgte aufgrund seiner Fähigkeit, das C-Polysaccharid der Zellwand vom *Streptococcus pneumoniae* in Anwesenheit von Calcium zu binden und diese Reaktion in Form der Aktivierung des klassischen Komplementweges zu beschleunigen. Das CRP wird als akute Entzündungsreaktion innerhalb von sechs Stunden vermehrt ausgeschieden. Ein schneller

Abfall erfolgt nach effektiver Behandlung oder Entfernung des entzündlichen Stimulus. Eine normale CRP-Reaktion wird jedoch bei einer schweren Lebererkrankung beeinflusst, ebenso wird es im Rahmen einer Immunsuppression abgeschwächt (*Nathan und Scheld, 2002*). Alle genannten Parameter sind unspezifisch und können je nach Ursache der Meningitis unterschiedlich stark erhöht bzw. beschleunigt sein. Bei hinreichendem Verdacht muss dieser durch Bestimmung des Erregers aus Blut- und Liquorkulturen bestätigt werden.

Im Blut können jedoch nur bei ca. 30-50% der Patienten Erreger nachgewiesen werden. Die Identifizierung eines Virus erfolgt durch PCR-Diagnostik oder ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)-Technik (*Bonadies und Vogt, 2005*). Die Liquordiagnostik umfasst sowohl den Erregernachweis, als auch die makro- und mikroskopische Beurteilung des Liquors. Auch die Beurteilung der Druckverhältnisse bei der Liquorpunktion dient der Einschätzung der Erkrankung. Im Falle einer bakteriellen Meningitis führt die bakteriologische Untersuchung des Liquors nur in ca. 50% zu einem direkten Erregernachweis, in ca. 60-70% der Fälle zu einem kulturellen Nachweis des Erregers (*Thomson und Bertram, 2001*). Auch die WHO empfiehlt einen diagnostischen Fahrplan. Ein mikroskopischer Nachweis eines Erregers kann eine sofortige gezielte Antibiotika-Therapie nach sich ziehen. Im Anschluss ist jedoch noch der kulturelle Nachweis notwendig, wie in der Studie von *Dunbar et al.* ausgiebig untersucht und nachgewiesen wurde (*Dunbar et al., 1998*). In Tab .1 sind die typischen Befunde bei einer bakteriellen und viralen Meningitis zusammengefasst.

Liquorkriterien	Physiologischer Liquor	Bakterielle Meningitis	Virale Meningitis
Aussehen	Klar	Trübe	Klar
Zellzahl/ μ l	<12/3	Mehrere Tausend	Mehrere Hundert
Zelltyp	Lymphozyten und Monozyten	Zunächst gemischtzellig, dann Granulozyten	Lymphozyten
Glucose	45-75mg/dl	↓ (<30mg/dl)	Normal
Eiweiß	15-45mg/dl	↑ (>120mg/dl)	Normal
Laktat	1.5-2.0mmol/l	>3.5mmol/l	>3.5mmol/l

Tab. 1 Typische Liquorbefunde bei einer Meningitis

Nach einem ausreichend bestätigten klinischen Verdacht muss unmittelbar nach der Liquorentnahme und Abnahme einer Blutkultur eine intravenöse antibiotische Therapie erfolgen, die später entsprechend der Empfindlichkeit der Erreger variiert wird. Bei vigilanzgeminderten Patienten mit einem rapiden Verlauf erfolgt die Antibiotika-Therapie ohne zuvor gewonnene Kulturen. In der retrospektiven Studie von *Chadwick* und *Lever* werden dieses Vorgehen und die Notwendigkeit einer vorstationären Therapie beurteilt und ausgewertet. Es zeigte sich, dass bereits bei dem Verdacht einer Meningitis eine sofortige und gegebenenfalls auch vorstationäre Antibiotika-Therapie zu einer Reduktion der Mortalität führte (*Chadwick* und *Lever*, 2002).

Eine chirurgische Therapie erfolgt bei einer fortgeleiteten Meningitis. Ein Infektionsherd muss sofort ausgeräumt werden. Die plastische Deckung eines frontobasalen Defekts mit Liquorrhoe ist zur Vermeidung einer aszendierenden Spätinfektion notwendig. Gelegentlich muss bei traumatisch und posttraumatisch bedingten Meningitisformen jedoch mit der plastischen Deckung eines Duradefektes gewartet werden bis die Entzündung gut ausgeheilt ist (*Norris* et al., 2006).

Die Therapie der Meningokokkensepsis und des lebensbedrohlichen Waterhouse-Friderichsen-Syndroms muss rasch und aggressiv erfolgen und schließt die Behandlung der Verbrauchskoagulopathie mit ein (*Bonadies* und *Vogt*, 2005).

Die Hirnödembildung stellt ein großes Problem bei der Meningitis dar. Im Rahmen der konservativen Hirnödemtherapie wird neben einer Osmotherapie, Normothermie, Hyperventilation und Analgosedierung auch Kortison eingesetzt (*Poeck* und *Hacke*, 2006). Enzephalitiden, die durch einen Herpes- oder Varizella-Zostervirus ausgelöst werden, können mit Aciclovir behandelt werden.

Prognostisch sind neben dem klinischen Verlauf mehrere andere Faktoren zu berücksichtigen. Nach Abklingen der akuten Erscheinungen bleiben allgemeine Beschwerden wie Konzentrationsschwäche, Reizbarkeit und Schwindel für einige Wochen und Monate bestehen. Ein Rezidiv der Meningitis oder ein Ausgang mit schweren Defekten sind oft die Folge einer unzureichenden Dosierung oder einer zu kurzen Dauer der antibiotischen Therapie. Zwischen 10-20% der Überlebenden entwickeln Folgeschäden in Form einer Epilepsie, einer geistigen Retardierung oder einer sensoneurinalen Taubheit. Bis zu 50% der Kinder behalten residuale Schäden, die sich z.B. als Lernstörung äußern können. Die durchschnittliche Mortalität der Meningitis beträgt 10-30% und ist jeweils abhängig vom Lebensalter, einem vorbestehenden Immundefekt und weiteren Faktoren.

Etwa 30% der Neugeborenen, die an einer Meningitis erkranken, sterben. Bei Kleinkindern und Kindern variiert die Mortalität zwischen 3 und 5% im Rahmen einer Haemophilus influenzae-Infektion, zwischen 5 und 10% bei einer Neisseria meningitidis-Infektion und zwischen 10 und 15% in Folge einer Streptococcus pneumoniae-Infektion. Fast 25% der an einem Hirnabszess erkrankten Kinder sterben. Beim Waterhouse-Friderichsen-Syndrom beträgt die Letalität 40-70% (Varon et al., 1998; Gamper et al., 2001).

1.2.3 Meningitis als Folge einer Drainageanlage

Ein Hydrozephalus stellt eine Indikation zur Anlage einer externen Ventrikel- oder Lumbaldrainage dar. Die Anlage erfolgt z. B. nach einer intrazerebralen Blutung, einer Subarachnoidalblutung und bei Raumforderungen, die die inneren Liquorräume verlegen. Ein **Hydrozephalus** ist eine pathologische Erweiterung der Liquorräume und kann in mehrere Formen eingeteilt werden. Beim **Hydrozephalus communicans**, auch **Hydrozephalus malresortivus** genannt, besteht eine Liquorresorptionsstörung, die u.a. nach stattgehabter Subarachnoidalblutung oder einer Meningitis auftreten kann. Beim **Hydrozephalus occlusus** findet sich eine mechanische Störung der Liquorpassage, z.B. infolge einer Aquäduktstenose. Eine besondere Form ist der **Hydrozephalus e vacuo**, bei dem eine primäre Hirnatrophie zur kompensatorischen Erweiterung der Liquorräume führt. Eine Steigerung des Hirndrucks liegt nur beim Hydrozephalus malresortivus und occlusus vor und bedarf dann zur Vermeidung einer Hirnschädigung einer Ableitung der überschüssigen Liquormenge durch eine Drainage.

Die verschiedenen Möglichkeiten zur invasiven operativen Behandlung des Hydrozephalus, die Indikationen zu den verschiedenen internen und externen Drainagen und der Zeitpunkt der Anlage variieren nach dem bestehenden Krankheitsbild. Im Folgenden wird ein Überblick gegeben.

1. wiederholte Einmalpunktionen des Liquors ventrikulär oder lumbal (letzteres nur bei kommunizierendem Liquorsystem);
2. Anlage einer externen Drainage:
 - a. einer externen Ventrikeldrainage (EVD), als Silikonschlauch oder Nadel bevorzugt in das Vorderhorn des Seitenventrikels der nicht-dominanten Hemisphäre, in der Regel rechts;
 - b. einer Lumbaldrainage (LD), als Silikonschlauch bevorzugt in der Höhe des 4. und 5. Lendenwirbels, nur möglich bei kommunizierendem Hydrozephalus;

3. Anlage eines Shuntsystems zur Drainage des Liquors in Körperhöhlen:
 - Implantation eines ventrikulo-peritonealen Shunts
 - Implantation eines ventrikulo-atrialen Shunts;
4. Ventrikulozisternostomie (endoskopische Fensterung des Bodens des 3.Ventrikels zu den basalen präpontinen Liquorräumen).

An dieser Stelle soll zunächst auf die Meningitis als Folge einer solchen Anlage eingegangen werden. Zur Häufigkeit des Auftretens gibt es unterschiedliche Angaben, die sich in einem Bereich von 0-27% bewegen. *Federico* et al. beschreiben in ihrer retrospektiven Studie eine Meningitishäufigkeit von 0.8% im Anschluss an eine Shunt- oder eine externe Ventrikeldrainagenanlage (*Federico* et al., 2001). *Zingale* et al. dagegen fanden in ihrer retrospektiven Studie eine Infektionsrate von 10.5% (*Zingale* et al., 1999). In der Metaanalyse von *Prabhu* et al. wurden sogar Infektionsraten von bis zu 27% beschrieben (*Prabhu* et al., 1999).

Zusammenfassend lässt sich anhand von Studien zeigen, dass externe Ventrikeldrainagen häufiger als Lumbaldrainagen zu einer Infektion führen. *Schade* et al. beschreiben eine Infektionsrate von 7% bei Lumbaldrainagen und von 15% bei Ventrikeldrainagen (*Schade* et al., 2005). Auch die Infektionsraten nach Anlage eines ventrikulo-peritonealen Shunts müssen gesondert betrachtet werden. So konnten *Thomson* und *Bertram* in ihrer Studie zeigen, dass nicht das übliche Erregerspektrum der Haut vorrangig für eine Meningitis ursächlich ist, sondern dass pathogene Darmkeime, beispielsweise *Echerichia coli* oder Klebsiellen, eine Meningitis auslösen können (*Thomson* und *Bertram*, 2001). Auch *Vinchon* et al. konnten in ihrer Studie nachweisen, dass in ca. 27% der Fälle eine Peritonitis infolge einer Appendizitis und in ca. 17.5% der Fälle eine nicht mit der Shuntimplantation in Zusammenhang stehende Darmperforation zu einer Meningitis führten (*Vinchon* et al., 2002).

Bei den externen Drainagen steht jedoch ein anderes Keimspektrum als Ursache einer Meningitis im Vordergrund. Hierzu gehören insbesondere die Erreger der physiologischen Hautflora. Sie stammen trotz aller hygienischen Maßnahmen entweder von der Haut des Patienten selbst oder auch von der des Operationsteams (*Prabhu* et al., 1999). Am häufigsten lassen sich dabei koagulase-negative Staphylokokken und Corynebakterien nachweisen (*Vanaclocha* et al., 1996).

1.3 Zerebrale Proteine

1.3.1 Übersicht über zerebrale Proteine

Man unterscheidet bei den im zentralen und peripheren Nervensystem nachgewiesenen Proteinen zwischen den ubiquitär im ganzen Körper und den exklusiv im ZNS vorkommenden Proteinen, den sogenannten ZNS-spezifischen Proteinen. Aus dem Blut stammt ein großer Teil der im Liquor physiologisch nachweisbaren, ubiquitär vorkommenden Proteine, die überwiegend mittels Diffusion in den Liquorraum gelangen. Es besteht eine Abhängigkeit der dortigen Konzentration von der Molekülgröße und der Serumkonzentration. Die Konzentration dieser Proteine im Liquor ist geringer oder maximal so hoch wie ihre Blutkonzentration. Allerdings gibt es auch Proteine, deren Konzentration im Liquor wesentlich höher ist als im Blut. Hierzu zählt z.B. das Präalbumin mit einer im Vergleich zum Serum zehnfach höheren Konzentration im Liquor. Als Ursache dieser Konzentrationserhöhung stehen weitere Transportmechanismen wie beispielsweise die Pinozytose zur Diskussion. Eine Differenz der Proteinkonzentration innerhalb des Liquorraumes lässt sich durch einen trägen Membranaustausch der Proteine im Bereich des spinalen Subarachnoidalraumes erklären. Dieses führt zu höchsten Konzentration lumbal und zur niedrigsten in den Seitenventrikeln.

Das definierte Verhältnis der Proteinkonzentrationen zwischen Blut und Liquor unterliegt nur geringen Schwankungen. Eine Erhöhung der Liquorproteine erfolgt im Rahmen mehrerer Erkrankungen und wird durch eine pathologisch erhöhte Vasopermeabilität verursacht.

In einer Übersicht über eigene Studien und der vorhandenen Literatur wird dieser Konzentrationsunterschied von *Lamers et al.* durch die Passage der Proteine durch die zerstörte Blut-Hirn-Schranke als mögliche Ursache erklärt (*Lamers et al., 2003*). Zur Diskussion steht jedoch auch ein verminderter Abtransport, der z. B. bei einem spinalen Liquorpassagestop auftreten kann.

Nach intensiver Forschung seit den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts ist uns heute das Verteilungsmuster der neuron- und gliaspezifischen Proteine innerhalb des ZNS weitestgehend bekannt. Dieses ist den verbesserten Nachweismethoden, insbesondere den immunhistochemischen Methoden, zu verdanken. Infolge einer Schädigung des ZNS-Gewebes lassen sich diese Proteine im Liquor und teilweise im Blut nachweisen, so dass sie als ZNS-Marker bezeichnet werden. Als Produktionsort der Proteine gelten die

Ribosomen des Endoplasmatischen Retikulums (Nissl-Schollen) der Neuronen und Gliazellen. Die Proteine diffundieren hauptsächlich aus dem Hirngewebe in den Liquorraum, können jedoch auch zum Teil sezerniert oder bei einem Zelltod freigesetzt werden. Anschließend gelangen sie zusammen mit dem Liquor druckpassiv durch die Pacchionischen Granulationen ins venöse Blut. Wie bereits oben beschrieben, können die spezifischen Proteine bei einer gestörten Blut-Hirn-Schranke vermehrt ins Blut übertreten. Die vielfältigen Funktionen der spezifischen Proteine im Rahmen der Entwicklung, Differenzierung, des Metabolismus und der Aktivität des ZNS sind bis jetzt nur zum Teil verstanden (*Chusid, 1985; Hagenström, 1997; Cutler, 2006*).

Bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen konnte anhand von Tiermodellen und auch am Menschen eine quantitative Korrelation zwischen dem Ausmaß des Zelltodes und dem Liquorspiegel bestimmter Proteine nachgewiesen werden. Die wichtigsten Vertreter werden im Folgenden erklärt.

1.3.2 S-100

1965 isolierte *Moore* erstmalig eine subzelluläre Fraktion vom Rindergehirn (*Moore, 1965*). Innerhalb dieser Fraktion wurden spezifische Proteine des Nervensystems vermutet und so wurde die Fraktion aufgrund der Löslichkeit (soluble) ihrer Bestandteile in 100%igem gesättigtem Ammoniumsulfat bei neutralem pH-Wert S-100 genannt. Nachfolgende Studien zeigten, dass das S-100 überwiegend aus zwei Polypeptiden, S-100A1 und S-100B besteht und zwei EF-Hand (zwei α -Helices, „E“ und „F“, werden durch eine kalziumbindende Schleife verbunden) kalziumbindende Domänen mit einer hohen Affinität beinhaltet. Seit der Isolation und Charakterisierung des S-100A1 und S-100B sind 17 weitere Proteine, basierend auf der homologen Aminosäuresequenz und der ähnlichen Molekularstruktur, in die S-100-Familie aufgenommen worden (*Zimmer et al., 1995*). Die unterschiedlichen identifizierten Proteintypen definieren sich über die Kombination aus zwei verschiedenen Untereinheiten (Monomeren) α and β . Somit spricht man hier von dimeren Proteinen. Die β -Untereinheit liegt im Vergleich zu der α -Untereinheit im Nervensystem in höherer Konzentration vor (*Infante et al., 2000*). Eine Untereinheit ist ungefähr 10.5 kD groß und kann entsprechend dieser Einteilung zu den Kombinationen (Isoformen) S-100A ($\alpha\beta$), S-100B ($\beta\beta$) und S-100A0 ($\alpha\alpha$) führen. Fünf Prozent des zerebralen S-100 umfassen das S-100A0, welches überwiegend extrazerebral in der glatten Muskulatur, dem Herz und der Niere nachgewiesen wurde. In den Gliazellen und Melanozyten ist S-100A vorhanden. Das S-100B hingegen findet sich in hohen

Konzentrationen in den Glia- und Schwann-Zellen des zentralen und peripheren Nervensystems sowie in den Langerhanszellen und Zellen des Hypophysenvorderlappens (*Missler und Wiesmann, 1995*). Eine andere Einteilung unter Berücksichtigung der gesamten S-100 Protein Familie erfolgte durch *Heizmann und Cox* (*Heizmann und Cox, 1998*). Hierbei kennzeichnen Großbuchstaben die 19 S-100 Proteine mit ihren unterschiedlichen Kalzium-, Zink- und Kupferbindungen, mit ihrer unterschiedlichen zell- und gewebespezifischen Expression, unterschiedlicher intrazellulärer Lokalisation sowie posttranslatonaler Modifikation, beispielsweise in Form von S-100A2, S-100A6 usw. (*Zimmer et al., 1995*). Intrazellulär wird durch das S-100 die Phosphorylierung verschiedener Effektor-Proteine reguliert. Das Neuritenwachstum wird im Rahmen der extrazellulären Wirkung des S-100 beeinflusst. Die β -Untereinheit ist ein nützlicher Marker für eine Reihe von Glia- und Stützzellen, da es zum einen die Gliazellproliferation fördert und zum anderen die GFAP Polymerisation hemmt. *Heizmann und Cox* berichten von etwa 40 verschiedenen Zielproteinen, die mit S-100 interagieren (*Heizmann und Cox, 1998*). Unter anderem von *Potts et al.* wird über die Aufschlüsselung der dreidimensionalen Struktur verschiedener S-100 Proteine und ihrer Veränderung, z.B. während der Kalziumbindung, berichtet (*Potts et al., 1995*). Außerdem wird hier die Erkenntnis über die Bildung eines Gencluster auf dem kurzen Arm des Chromosoms 21 dargestellt. Aufgrund dieser zuletzt genannten grundlegenden Entdeckung erfolgte die Einteilung der S-100 Proteine nach *Heizmann und Cox*. In der Veröffentlichung von 1998 berichten *Heizmann und Cox* auch über die Funktion des S-100. Physiologische Funktionen sind jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt (*Heizmann und Cox, 1998*). *Zimmer et al.* listen in ihrer Publikation wichtige Konzepte zur Funktion des S-100 auf. Dabei bringen einige S-100 Zielproteine eine spezifische Modulation einer S-100 Isoform hervor, andere jedoch nicht. Zum anderen können S100 Modulationen mit verschiedenen Zielproteinen-Isoenzymen variieren. Des weiteren können S-100 Modulationen inhibierend und stimulierend sein, wobei S-100 und Calmodulin dieselben zellulären Prozesse regulieren, synergistisch oder auch asynergistisch, entweder mit denselben Zielproteinen oder auch unterschiedlichen. Ausserdem modulieren S-100 Proteine eine Vielzahl von intrazellulären Prozessen, u.a. die Zell-Zell-Kommunikation, Zellstruktur, Zellwachstum, Energiestoffwechsel, Zellkontraktion und intrazelluläre Signaltransduktion (*Zimmer et al., 1995*). Laut *Heizmann und Cox* werden mit der veränderten Expression des S-100 Krankheiten wie Krebs, neurodegenerative Erkrankungen, Kardiomyopathie, Entzündungen, Diabetes mellitus und Allergien assoziiert (*Heizmann und Cox, 1998*). Von diesen Annahmen

ausgehend wurde S-100 in vielen Studien untersucht, die zum Teil bei unterschiedlichen Konzentrationsanstiegen einen positiven Befund zeigten. Der Messbereich der S-100 Spiegelkonzentration liegt bei 0.02 – 12.5 µg/l. S-100 ist im Liquor für 2 Tage bei einer Temperatur von 4°C stabil und kann bei Patienten, die an unterschiedlichen neurologischen Erkrankungen leiden, nachgewiesen werden (*Missler und Wiesmann, 1995; Hagenström, 1997*).

1.3.3 Saures Gliafaserprotein (GFAP)

Das saure **Gliafaserprotein (GFAP, Glial fibrillary acidic protein)** ist ein etabliertes monomeres Molekül mit einem Molekulargewicht von ca. 40-53 kD und besteht aus einer Polypeptidkette. Sein isoelektrischer Punkt liegt bei einem pH-Wert von 4.5. Es ist das Haupt-Intermediärfilament in den reifen Astrozyten mit einer Länge von 8-9 nm und formt somit das Zytoskelett. GFAP ist ZNS-spezifisch. 1971 wurde es erstmalig von *Eng et al.* isoliert (*Eng et al., 1971*). Es existiert in einer wasserlöslichen und in einer unlöslichen Form und bildet unter physiologischen Bedingungen spontan homopolymere Fibrillen mit einer Größe von 0.8-1.06 µm. Seine Kinetik im Liquor ist nicht im Detail bekannt, jedoch erwies sich die Messung des GFAP im Liquor als brauchbarer spezifischer Indikator bei ZNS-Pathologien. GFAP wird bei akuten ZNS-Läsionen wie Schädel-Hirn-Traumata, Insulten, Tumoren und Metastasen nachgewiesen (*Massaro et al., 1990*). Die im Blut vorhandenen Mengen an GFAP im Rahmen einer Hirnschädigung sind nicht sicher genug erfassbar. *Eng et al.* konstatierten im Jahr 2000, dass die Identifizierung und die Aufschlüsselung der biochemischen Molekularstruktur des GFAP durch seine Unlöslichkeit in wässrigen Lösungen, wegen der Tendenz zur Aggregation oder Polymerisation, der Empfänglichkeit für neutrale Proteasen, der hohen Spezifität, der antigenen Determinante und der komplexen Gliederung erschwert ist (*Eng et al., 2000*). GFAP wird als wichtiges Protein bei der Modulation der Astrozytenmotilität und -form durch Sicherung der strukturellen Stabilität der astrozytären Prozesse gesehen. Im Rahmen einer Astroglieose, zum Beispiel bei einer Rückenmarksverletzung, einer -erkrankung oder eines Gendefektes, erfolgt charakteristischerweise die sofortige GFAP-Synthese. Dieses wird in Form eines ansteigenden Proteingehaltes oder durch einen immunhistochemischen Nachweis von GFAP-Antikörpern, die innerhalb der Neuropathologie bei Gewebeschnitten inzwischen routinemäßig eingesetzt werden, demonstriert. Weitere Untersuchungen hierzu werden ebenfalls von *Eng et al.* aufgeführt (*Eng et al., 2000*). Der Messbereich des GFAP liegt zwischen 0.01-12.5 µg/l (*Missler et al., 1999*). Es stellte sich jetzt die Frage, ob es

auch im Rahmen einer Meningitis zu einem Konzentrationsanstieg des GFAP kommt. Bisher wurde das GFAP noch nicht im Rahmen einer entzündlichen Erkrankung nachgewiesen, so dass diese Studie eine erste Einschätzung einer möglichen für den Klinikalltag nützlichen Messgröße erbringen soll (Eng et al., 2000; Miguel-Hidalgo et al., 2000).

1.3.4 Sonstige Proteine

Die **Neuronenspezifische Enolase (NSE)** gehört zur Gruppe der Enolasen (2-phospho-D-glycerate-hydrolyse). Diese sind dimere glykolytische Enzyme mit einem Molekulargewicht von etwa 70-90 kD. Sie sind aus jeweils zwei von drei vorhandenen Untereinheiten, α -, β - und γ -Ketten, zusammengesetzt. Die „Neuronenspezifische Enolase“ ist eine der 5 bekannten Isoformen (Dimer $\gamma\gamma$). Es katalysiert als Enzym der Glykolyse und Gluconeogenese die Wasserabspaltung am 2-Phosphoglyzerat. Scarna et al. und Moore wiesen dieses Dimer zuerst nach und nannten es 14-3-2 Protein (Scarna et al., 1982; Moore, 1965). NSE ist u.a. in Thrombozyten, Lymphozyten und Erythrozyten lokalisiert, so dass eine Hämolyse oder ein Zelluntergang in vitro zu einer Verfälschung von Messergebnissen führen kann. Somit besteht für NSE keine ZNS-Spezifität. Der Messbereich liegt bei 1-200 $\mu\text{g/l}$ bei 10 μl Probenmenge/well. Bei Erkrankungen mit neuronalem Zelluntergang wie zum Beispiel beim einem Schädel-Hirn-Trauma, einer zerebralen Hypoxie, einem ischämischen Insult, bei Morbus Parkinson und bei der amyotrophen Lateralsklerose sowie bei verschiedenen Komaformen liegt ein erhöhter Liquorspiegel vor (Scarna et al., 1982; Moore, 1965; Mokuno et al., 1983; Royds et al., 1983; Hagenström, 1997)

Das **Basische Myelinprotein (MBP, Myelin basic protein)** ist ein exklusiv im Myelin des zentralen und peripheren Nervensystems lokalisiertes myelinbindendes Lipoprotein. Das MBP besitzt aufgrund seiner Tertiärstruktur eine relative Unempfindlichkeit gegenüber denaturierenden Einflüssen und hat einen Anteil an den Proteinen der Myelinscheide von etwa 30%. Es hat ein Molekulargewicht von 18.5 kD und ist ein monomeres Molekül. Im Plasma wird das MBP schnell zu unterschiedlichen Peptiden degradiert und ist schließlich im Liquor in Fragmenten unterschiedlicher Größe und Antigenität nachweisbar. Diese macht eine Bestimmung mittels mono- und polyklonaler Antikörper schwer und führt zu nicht immer vergleichbaren Ergebnissen. Das MBP hat einen isoelektrischen Punkt bei einem pH-Wert von über 10 und ist ein unspezifischer

Indikator für die Demyelinisierung. Des weiteren wird seine Rolle als Verlaufsparemeter bei sekundär demyelinisierenden Prozessen diskutiert (*Massaro et al., 1990; Hagenström, 1997*)

Kreatininkinase BB (CK-BB) ist in Isoenzym der Kreatininkinase. Es kommt hauptsächlich im ZNS vor, weshalb sich der Name vom englischen Wort „Brain“ ableitet. Die CK ist ein besonders in Neuronen und Astrozyten verbreitetes intrazelluläres Enzym, das die Reaktion „Kreatin + ATP \leftrightarrow Kreatinphosphat + ADP“ reversibel katalysiert. Der CK-BB-Spiegel ist beispielsweise nach einer zerebralen Ischämie im Rahmen eines Herzstillstandes im Liquor und Serum erhöht nachweisbar (*Kjekshus et al., 1980*). Der diagnostische Nutzen im Rahmen von Hirnschäden ist zweifelhaft (*Hagenström, 1997*)

1.4 Procalcitonin als Entzündungsmarker

Procalcitonin (PCT) ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 13kD. Es besteht aus 116 Aminosäuren und stellt ein Prohormon (Precursor-Molekül) des Calcitonins dar (32 Aminosäuren). Für die Calcitoninbiosynthese und vermutlich auch für die Biosynthese von Procalcitonin bei Infektionen ist das „CALC-1“-Gen verantwortlich. Calcitonin-mRNA ist das Hauptprodukt der CALC-1-Transkription in den C-Zellen der Schilddrüse, während CGRP-1-mRNA (CGRP = calcitonin gene related peptide) das Hauptprodukt in Nervenzellen des zentralen und peripheren Nervensystems ist. PCT setzt sich aus den Fragmenten Katalcalcin, Calcitonin und einer N-terminalen Region zusammen. Unter normalen Stoffwechselbedingungen wird hormonell aktives Calcitonin in den C-Zellen der Schilddrüse aus PCT durch spezifische Proteolyse gebildet und sezerniert. 1980 konnte gezeigt werden, dass PCT zur selben Zeit wie Calcitonin bei einem Schilddrüsenkarzinom und bestimmten Bronchialkarzinomen anstieg (*Ham et al., 1980; Becker et al., 1983*). In den weiteren Studien zeigte sich u.a. eine PCT-Erhöhung bei septischen Patienten, bei denen der Calcitonin-Wert im Normbereich blieb (*Gendrel und Bohuon, 2000*). Bei schweren bakteriellen Infektionen und bei Sepsis findet sich intaktes Procalcitonin im Plasma, dessen Herkunft nach gegenwärtigem Stand der Forschung im Wesentlichen extrathyroidalen Ursprungs ist. Ein möglicher Syntheseort des Plasma-PCT könnten Makrophagen und monozytäre Zellen verschiedener Organe, beispielsweise der Leber, sein. So ist eine Synthese von mRNA von Calcitonin-Precursor-Molekülen in der Leber bereits seit längerem bekannt (*Bracq et al., 1993*). Die Bildung von PCT wird durch bakterielle Endotoxine, Exotoxine und einige Zytokine induziert. Der PCT-Plasmaspiegel

erhöht sich 2-3 Stunden nach Endotoxinexposition, der maximale Anstieg erfolgt 6 bis 8 Stunden nach Stimulation (*Meisner, 1999*). Die Bestimmung kann sowohl im Serum als auch im Plasma erfolgen. Eine Stimulation von PCT fehlt dagegen oder erfolgt nur in einem geringen Umfang bei viralen Infektionen, neoplastischen Erkrankungen und Autoimmunerkrankungen. Auch chronisch degenerative Entzündungen und Allergien führen nicht zu einer Induktion von PCT. Ebenso induzieren alle lokal begrenzten und systemisch nicht wirksamen Infektionen im Allgemeinen keine nennenswerten PCT-Plasmaspiegel. PCT wirkt offenbar auf lokaler Ebene als Chemokin und beeinflusst die NO-Synthese in physiologischen Konzentrationen. Ein spezieller Eliminationsweg von PCT ist nicht bekannt. Am wahrscheinlichsten ist von einer Proteolyse als Abbauweg auszugehen. Die Halbwertszeit von PCT beträgt 18-24 Stunden, im Gegensatz zu Calcitonin, das eine Halbwertszeit in der Größenordnung von Minuten aufweist (*Meisner, 1999*). PCT ist im Gegensatz zu den meisten Zytokinen in den entnommenen Blutproben sehr stabil und wird nicht zu hormonell aktivem Calcitonin abgebaut. Die PCT-Plasmakonzentration nimmt in 24 Stunden nach der Entnahme nur um etwa 12% bei Raumtemperatur und um 6% bei 4°C ab.

Beim gesunden Probanden liegen die Plasmaspiegel von PCT deutlich unter 0.05 ng/ml und damit an der unteren Nachweisgrenze. Dagegen lassen sich bei schweren bakteriellen Infektionen hohe Konzentrationen von PCT im Plasma nachweisen, ohne dass die Calcitoninwerte selbst erhöht wären. Bei schwerer Sepsis werden Konzentrationen von PCT im Bereich von unter 10 ng/ml bis über 1000 ng/ml im Plasma nachgewiesen. Die Höhe der induzierten PCT-Werte steht in einem engen Zusammenhang mit der Art, der Größe und der Ausdehnung der Infektion und insbesondere mit der Aktivität der hieraus folgenden systemischen Inflammation des Organismus. Jedoch kann es auch im postoperativen Verlauf eines aseptischen Eingriffs zu erhöhten PCT-Werten kommen (*Meisner, 2000*).

1.5 Fragestellung

Aus klinischer Sicht ist es wichtig, frühzeitig einen Marker zur Erkennung einer Meningitis/Ventrikulitis zur Verfügung zu haben, um zeitgerechte therapeutische Entscheidungen treffen zu können. In dieser Studie sollen die zuvor genannten Marker hinsichtlich ihres Potentials zur Früherkennung einer Meningitis untersucht werden. Die folgenden Fragestellungen sollen dabei beantwortet werden.

- 1) Kann die Bestimmung von GFAP und S-100 zur Erweiterung der diagnostischen Informationen bezüglich Erkennung und Behandlung einer Meningitis im Vergleich zu der Routinediagnostik (Zellzahl, Eiweiß) beitragen?
- 2) Unterscheiden sich beide Marker hinsichtlich ihres Potentials zur Früherkennung einer Meningitis?
- 3) Wie unterscheiden sich bei einer Meningitis die Verlaufsformen beider Marker im Liquor bzw. Plasma? Welches von beiden ist die sensitivere Bestimmungsmethode?
- 4) Ist die Bestimmung des Procalcitonins im Plasma ein sensibles diagnostisches Verfahren zum Nachweis einer Meningitis?
- 5) Ist im Verlauf dieser Erkrankung ein Nachweis des Procalcitonins im Liquor möglich?

2 Material und Methoden

2.1 Übersicht über die Patientengruppe

2.1.1 Allgemeiner Überblick

Das Patientenkollektiv setzte sich aus Patienten der neurochirurgischen Intensivstation der Medizinischen Universität zu Lübeck (heute Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck) zusammen, die in der Zeit von Juli 1999 bis Oktober 2000 aus therapeutischen Gründen eine Liquordrainage erhielten.

Bei den insgesamt 76 Patienten erfolgte eine tägliche Blut- und Liquorentnahme, einerseits zur stationsüblichen Routinediagnostik, andererseits zur Asservierung von Proben für die Studie.

Zunächst wurden die Kriterien für die Diagnose einer Meningitis festgelegt. Diese umfassten zum einen die klinischen Leitsymptome Nackensteifigkeit (Meningismus) und Fieber, zum anderen die laborchemischen Parameter in Form der erhöhten Entzündungswerte im Blut. Entscheidendes Kriterium für die Diagnose einer Meningitis waren jedoch neben einem mikrobiologischen Nachweis eines Erregers die Liquorbefunde ab diesem Zeitpunkt mit erhöhter Zellzahl (einschließlich Zellzusammensetzung) und Erhöhung des Eiweißwertes.

Auf weitere, insbesondere klinische Zeichen, wurde aus Gründen der Vergleichbarkeit verzichtet, da ein Großteil der Patienten sediert, intubiert und beatmet und somit eine Beurteilbarkeit von klinischen Zeichen nicht möglich war.

Wenn die Routinelaborwerte der entsprechenden Patienten die Kriterien einer Meningitis (in diesem Fall vorwiegend ein positiver Liquorbefund) erfüllten, so wurden die Patienten ab diesem Zeitpunkt in die Positivgruppe der Studie aufgenommen. Bei ihnen erfolgte eine regelmäßige S-100-, GFAP- und PCT-Bestimmung jeweils im Blut und Liquor.

Der Beobachtungszeitraum des jeweils einzelnen Patienten der Positivgruppe erstreckte sich von der Anlage des Liquorkatheters bis zur Normalisierung der Werte nach erfolgreicher Therapie der Meningitis. Als Einschlusskriterium in die Studie wurde ein mindestens 7tägiger Beobachtungszeitraum der Patienten gewählt. Bei den Patienten, die bereits initial eine Meningitis hatten, wurde der Zeitraum bis zur Entfernung des Katheters als Beobachtungszeitraum gewertet.

Die Studie wurde nach der Zustimmung ohne Bedenken durch die Ethikkommission der Medizinischen Universität zu Lübeck durchgeführt. Das Genehmigungsschreiben wurde am 17.10.2000 unter dem Aktenzeichen: 99-135 erstellt.

2.1.2 Diagnosen

Bei den Patienten, die bei entsprechenden Befunden in die Studie eingeschleust wurden, handelte es sich um Patienten, die zu diesem Zeitpunkt auf der neurochirurgischen Intensivstation behandelt wurden. Das Krankheitsspektrum dieser Patienten umfasste Subarachnoidalblutungen, weitere intrakranielle Blutungen, Hydrozephalie, Tumoren, Infarkte/Basilaristhrombosen, Traumata, Angiome, primäre Meningitiden, eine Baclofen-Testung im Rahmen eines apallischen Syndroms und eine unklare Diagnose. Das Mindestalter bei Studienbeginn betrug 18 Jahre.

2.1.3 Art der Liquordrainage

Eine Liquordrainage wird vorübergehend oder permanent zur Ableitung eines Hydrozephalus angelegt. Hierzu bieten sich unterschiedliche Möglichkeiten der Ableitung an (siehe 1.2.3). Diese Studie legt ihren Schwerpunkt auf die Entstehung einer Meningitis infolge der Anlage einer vorübergehenden Drainage, d.h. einer EVD oder LD. Aufgrund dessen soll hier noch kurz auf die Techniken der Anlage und das verwendete Material eingegangen werden.

Eine Liquordrainage wird grundsätzlich in steriler Umgebung angelegt. Dabei ist eine Anlage in Vollnarkose oder Lokalanästhesie sowohl im Operationssaal als auch auf der Intensivstation möglich.

Die Anlage der EVD erfolgt nach Rasur, Hautdesinfektion und sterilem Abdecken. Nach Haut- und Periostdurchtrennung mit einem Skalpell erfolgt eine Bohrlochtrepanation mit einem elektrischen Bohrer oder einem Handbohrer frontal direkt auf die Kranznaht oder unmittelbar davor ca. 3 cm paramedian. Nach Durchtrennung der harten Hirnhaut und vorsichtiger Koagulation der Hirnoberfläche wird der Silikonkatheter (Becker[®] EDMS; Medtronic Neurosurgery, Golenta (CA), USA) unter Abschätzung der Lokalisation in das Vorderhorn des Seitenventrikels platziert. Der Zielpunkt (Vorderhorn des Seitenventrikels) ergibt sich aus dem imaginären Kreuzungspunkt des nasalen Augenwinkels und des äußeren Gehörganges. Der Katheter wird mit einem Mandrin ca. 5-5.5 cm in den Ventrikel vorgeschoben, das distale Ende nach Entfernung des Mandrins getunnelt und ausgeleitet

und mit einem sterilen Ablaufsystem verbunden (Urofix® 500/500 plus; B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Je nach Bedarf und Indikation wird das Ablaufsystem 0-20 cm oberhalb vom Foramen Monro (d.h. in der Regel auf Höhe des äußeren Gehörganges) platziert (Stangl et al., 1998).

Bei der Anwendung der perkutanen Technik mittels Nadeltrepanation wird eine handelsübliche Lumbalpunktionskanüle unter gleicher Zielrichtung in den Seitenventrikel eingeführt und nach korrekt platzierter Lage mittels Gips an der Kopfhaut befestigt und ebenfalls mit einem sterilen Ablaufsystem verbunden (Yale™ Spinal; Becton Dickinson S.A., Madrid, Spanien).

Die Anlage einer LD erfolgt in Seitenlage des Patienten nach Rasur, Hautdesinfektion und sterilem Abdecken des Punktionsgebietes über eine atraumatische Touhy®-Nadel (Touhy®; Medtronic Neurosurgery, Golenta (CA), USA). Dabei wird im Bereich der unteren Lendenwirbelsäule in der dorsalen spinalen Medianlinie in kaudo-kranieller Richtung punktiert. Kommt es dabei zu Liquorfluß, wird ein Silikonkatheter ca. 20-40 cm intraspinal nach kranial vorgeschoben. Anschließend wird dieser Katheter mittels Plaster fixiert und an ein Liquorabflußsystem angeschlossen (Vieweg et al., 1996). Der Verbandswechsel erfolgte alle 48 Stunden unter sterilen Kautelen.

2.2 Probengewinnung und Verarbeitung

Im Rahmen der Routinediagnostik erfolgte täglich die Abnahme von 10 ml Vollblut aus liegenden arteriellen oder zentralvenösen Zugängen. Dieses Blut wurde in EDTA- und Heparinplasmarröhrchen zur Bestimmung u.a. von CRP und Leukozyten gesammelt. Ebenso wurden täglich 6 ml Liquor aus den liegenden Drainagen entnommen. Dieses Material wurde u.a. in das Liquorlabor der Neurologischen Klinik zur Bestimmung der Zellzahl und des Eiweißgehaltes sowie in das Institut für Mikrobiologie zur Kultivierung geschickt. Nach Versendung in die entsprechenden Labore wurde das verbliebene Material im Kühlschrank gesammelt und innerhalb von 12 Stunden nach Abnahme für 10 min bei 4°C und 4000 Umdrehungen pro min zentrifugiert (Zentrifuge Typ Eppendorf 143 und Eppendorf Centrifuge 5810 R; Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland). Anschließend wurde der Überstand auf 500 µl-Portionen aufgeteilt, diese beschriftet und bei einer Temperatur von -70°C eingefroren. Zu einem späteren Zeitpunkt erfolgte dann die Bestimmung von PCT, CRP, NSE, GFAP und S-100.

2.3 Assaybeschreibung

2.3.1 Allgemeiner Überblick

Die Messung der zerebralen Proteine GFAP, S-100 und NSE erfolgte durch bereits mehrfach erfolgreich eingesetzte Festphasen-Sandwich-Immunoassays (Festphase sind hierbei die Flachboden-Mikrotiterplatten), die als Detektionssystem die zeitverzögerte Immunfluoreszenz (**D**issociation-**E**nhanced-**L**anthanide-**F**luorecent-**I**mmuno-**A**ssay; **DEL**FIA) nutzen (Missler, 2000).

Die zeitverzögerte Immunfluoreszenz (**TRF** = **T**ime-**R**esolved **F**luorescence) nutzt die Eigenschaft seltener Erden nach Anregung durch eine externe Lichtquelle erst mit einer zeitlichen Verzögerung einiger Milisekunden die eingestrahlte Energie als Licht zu emittieren, wodurch ein rauscharmes Signal erzeugt werden kann. Die seltene-Erden-Metalle Lanthanoide (früher: Lanthanide) sind silbrig glänzende, relativ weiche und reaktionsfreudige Metalle, die an der Luft schnell oxidieren und matt werden. Im Wasser zersetzen sie sich mehr oder weniger schnell unter Freisetzung von Wasserstoffgas.

Im DELFIA-System wird zudem die Technik der Dissoziationsverstärkung des Lichtsignals der Lanthanoide durch Herauslösen des Moleküls aus der Chelatbindung vor der Fluoreszenzmessung genutzt (**D**issociation-**E**nhanced-**L**anthanide-**F**luorecent-**I**mmuno-**A**ssay). Im Folgenden wird das Verfahren ausführlich für GFAP beschrieben, die Messverfahren der anderen zerebralen Proteine werden nur in ihren Abweichungen erläutert.

Alle zweiten Antikörper wurden zur Kosteneinsparung biotinyliert und als Signalträger mit Europium markiertes Streptavidin (Biomol GmbH; Hamburg, Deutschland) verwendet. Folglich wurde ausschließlich spezifisch immunreagibles Protein mit Europium markiert.

2.3.2 In allen Assays angewendete Verfahren

2.3.2.1 Biotinylierung der zweiten Antikörper

Nach Fällung mit 20-prozentigem Polyethylenglycol (PEG) 6000 (Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland) in Karbonatpuffer (0.05 mol/l, pH 9.6) (Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland) wurden jeweils ca.10 mg Antikörper resolubilisiert. Anschließend folgte die Lösung mit 1.5 mg Biotinamidocaproylester (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH;

Seelze, Deutschland) und die Inkubation über Nacht bei 4°C in 50 µl wasserfreiem Dimethylformamid. Dann wurde mittels Gelfiltration über eine Sephadex G100[®]-Säule (Pharmacia Corp.; Uppsala, Schweden) das nicht gebundene Biotin, eluiert mit dem Waschpuffer (Merck KgaA; Darmstadt, Deutschland), getrennt. Jene Fraktionen, die den Antikörper enthalten, bestimmt mittels photometrischer Absorption bei 280 nm, wurden gepoolt und bei -80°C gelagert.

2.3.2.2 Markierung des Streptavidin mit Europium

Die Markierung von 20 mg Streptavidins (Biomol GmbH; Hamburg, Deutschland) mit dem Europium Labelling-Reagent[®] (Pharmacia Corp.; Uppsala, Schweden) erfolgte gemäß der Herstellervorschrift. Entsprechend dem Vorgehen bei Trennung der biotinylierten Antikörper über Sephadex G100[®] mit dem Waschpuffer wurde der nicht gebundene Europiumkomplex getrennt, die Protein-enthaltenden Fraktionen gepoolt und zu je 200 µl eingefroren. Eine Kontrolle des Markierungserfolges fand durch eine Messung von 10 µl einer 1:10000-Verdünnung im Fluorometer statt.

2.3.2.3 Herstellung der Enhancementlösung

Es wurden 38 mg Tris-n-octylphosphinoxid (Merck KgaA; Darmstadt, Deutschland), 6.25 ml konzentrierte Essigsäure (Merck KgaA; Darmstadt, Deutschland), zusammen mit 222 mg Thenoyltrifluoroacetone (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland) in 2 ml Ethanol 100 Prozent (Merck KgaA; Darmstadt, Deutschland) gelöst. Diese Lösung wurde dann mit 1.3 g Kaliumphthalat (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland), und 2 ml Triton X-100 (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland) auf einen Liter Aqua bidest gegeben.

Diese Lösung war unter Lichtabschluss bei Raumtemperatur über mehr als ein Jahr stabil.

2.3.2.4 Herstellung des Waschpuffers

Anfänglich wurde ein Waschpufferkonzentrat hergestellt, aus dem durch 1:50 Verdünnung die fertige Waschlösung produziert wurde. Auf einen Liter aqua bidest wurden 15g TRIS (Merck KgaA; Darmstadt, Deutschland), 225g NaCl (Merck KgaA; Darmstadt,

Deutschland) und 50ml Tween 20 (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland) gegeben und anschließend mit HCl auf einen pH von 7.5 eingestellt.

2.3.2.5 Herstellung des TRIS/HCl/NaCl-Puffers

In einem Liter Aqua bidest wurden 6 g/l TRIS, 9 g/l NaCl, 1 g/l NaN_3 , 0.1ml Tween 20, 80mg/l DTPA (diethylen-triamin-pentaacetat) (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland), 10 g/l bovines Serumalbumin und 0.5 g/l bovines γ -Globulin (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland) gelöst; der Puffer für den S-100B Assay enthielt kein DTPA.

2.3.3 Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung von GFAP

Zunächst wurden Mikrotiterplatten (MaxiSorp™Surface, Nunc™; Roskilde, Dänemark) mit jeweils 96 Messnäpfchen (wells) mit insgesamt 40 μl Ziegen-Anti-Maus-Immunglobulin-Antikörpern (Medac GmbH; Hamburg, Deutschland) pro Platte, d.h. ca. 400 ng/well, gelöst. In Karbonatpuffer (0.05 mol/l, pH 9.6) (Merck; Darmstadt, Deutschland) mit einer Menge von ca. 200 μl /well beschichtet. Die so beschichteten Platten wurden mit einer Mikrotiterplattenfolie (ICN; Eschwege, Deutschland) bedeckt und über Nacht bei 4°C inkubiert. Vor der weiteren Beschichtung der Messplatten wurden diese zweimalig mit jeweils 5 ml/well des Washpuffers (Merck; Darmstadt, Deutschland) (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland) mit Hilfe eines Mikrotiterplattenwaschgerätes (Biorad; München, Deutschland) gewaschen. Anschließend wurden die Platten mit ca. 600 ng/well eines monoklonalen Maus-anti-GFAP-Antikörpers (Anti-GFAP Sigma 3893) (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland) in ca. 200 μl LKC/DTPA (TRIS/HCl/NaCl-Puffer) (Chemikalien von Merck; Darmstadt, Deutschland) und Proteine von Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland) beschichtet. Erneut wurden die Platten bei 4°C über Nacht inkubiert. Diese Platten blieben auf diese Weise bis zu ca. 6 Monaten haltbar und verwendbar.

Unter Verwendung des Standards (500 $\mu\text{g/l}$ GFAP = Proteinkalibrator), der nach Schema mit entsprechenden FFP-Mengen auf 12.5 $\mu\text{g/l}$, 6.25 $\mu\text{g/l}$, 1.25 $\mu\text{g/l}$, 0.25 $\mu\text{g/l}$, 0.05 $\mu\text{g/l}$ und 0.01 $\mu\text{g/l}$ verdünnt wurde, erfolgte die erneute zweifache Waschung der Platten und das Wiederbefüllen der wells mit jeweils 100 μl LKC/DTPA, so dass schließlich 200

μl /well der einzelnen Proben in die Messplatten pipettiert werden konnten. Liquor wurde zum einen unverdünnt sowie eins zu hundert in FFP verdünnt eingesetzt. Die Heparinplasmaproben konnten unverdünnt gemessen werden. Nach Pipettierung der Proben folgte die Inkubation auf Mikrotiterplattenschüttlern (Heidolph Instruments GmbH & Co.KG; Kehlheim, Deutschland) bei 200 U/min für 90 Minuten. Danach wurden die Mikrotiterplatten dreimal nach dem oben beschriebenen Verfahren mit dem Waschpuffer gewaschen und der zweite Antikörper (Tracer in eine 1:1500-Verdünnung des Säuleneluates) in die Platten mit jeweils 200 μl eines mit Biotin markierten Anti-GFAP-Antikörpers (Endkonzentration durch Verdünnung 2 $\mu\text{g/l}$) (Dako; Roskilde, Dänemark) pipettiert. Dem Anti-GFAP-Antikörper wurden zuvor 10 ml LKC/DTPA, 10 ml fetales Kalbserum, 50 μl Maus-Serum und 200 μl Kaninchen-Serum zugefügt (Life Technologies; Karlsruhe, Deutschland). Die Inkubation des zweiten Antikörpers erfolgte für weitere 90 min auf den Mikrotiterplattenschüttlern bei 200 U/min. Nach dieser Inkubation wurden die Platten erneut dreimal mit Waschpufferlösung gewaschen. Nachfolgend wurden dann jeweils 200 μl Streptavidin-Europium-Lösung (Pharmacia Corp.; Uppsala, Schweden) hinzupipettiert. Die endgültige Konzentration der Lösung betrug 0.025 mg/l. Nach einer dreißigminütigen Inkubation auf dem Schüttler wurde dann erneut dreimal gewaschen. Es folgte dann die Inkubation mit der Enhancement-Lösung (Merck; Darmstadt, Deutschland) über 20 min auf dem Schüttler.

Das Fluoreszenzsignal wurde mit einem DELFIA[®]1234 Fluorometer (Wallac; Turku, Finnland) gemessen und eine Kalibrierungskurve mit dem MultiCalc[®]Datenprogramm des DELFIA[®]1234-Systems erstellt. Alle Messungen wurden als Doppelbestimmung und bei Raumtemperatur vorgenommen. Gemessen wurden neben der Kalibrierungskurve von 0.01 $\mu\text{g/l}$ – 12.5 $\mu\text{g/l}$ mehrfache interne Kontrollen einschließlich FFP, NaCl und LKC als Nullwerte.

Die Intraassayvarianz lag bei 4.7% bei mittleren GFAP-Konzentrationen von 0.2 $\mu\text{g/l}$, mit 4.2% bei 1.96 $\mu\text{g/l}$ und mit 3.5% bei 9.6 $\mu\text{g/l}$. Die Interassayvarianz betrug 8.8% bei 0.74 $\mu\text{g/l}$ und 10.4 % bei 7.71 $\mu\text{g/l}$. Interaktionen im Rahmen einer Hämolyse oder einer Hyperlipidämie wurden nicht beobachtet. Ebenso konnte die Stabilität des GFAP im Heparinplasma über ca. 48 Stunden bei 4°C gezeigt werden (*Missler et al., 1999*).

Die untere Nachweisgrenze des Assays für GFAP beträgt 0.01 $\mu\text{g/l}$. Der gesamte Messbereich liegt zwischen 0.01 $\mu\text{g/l}$ und 12.5 $\mu\text{g/l}$.

2.3.4 Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung von S-100

Die Unterschiede des S-100 Assays im Vergleich zum GFAP Assay werden im Folgenden beschrieben.

Festplattenbeschichtung: Verwendung von 400 ng/well Anti-S-100 beta, Sigma 2657 (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland) in 200 µl Phosphatpuffer (0.05 mol/l, pH 8.6) (Merck; Darmstadt, Deutschland) zur Beschichtung. Inkubation über Nacht bei 4°C, zunächst ohne weitere Agenzien.

Postcoating: Entfällt bei GFAP. Beinhaltet nach dem Waschen der Platten eine Beschichtung mit 300 µl einer 10 g/l Rinderalbumin enthaltenden Karbonatpufferlösung (0.05 mol/l, pH 9.6) (Chemikalien von Merck; Darmstadt, Deutschland und Proteine von Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland). Inkubation mit Mikrotiterplattenschüttlern für 10 min (Heidolph Instruments GmbH & Co.KG; Kehlheim, Deutschland). Die Platten konnten auf diese Weise bis zu 12 Wochen ohne Verlust ihrer Immunreaktivität gelagert werden.

Standard ansetzen: Verwendung eines Standards (100 µg/l auf 500 µg/l S-100-Proteinkalibrator), der nach Schema mit entsprechenden Mengen von Pferdeserum (Gibco® Cell Culture Systems, Invitrogen GmbH; Karlsruhe, Deutschland) auf 25 µg/l, 12.5 µg/l, 2.5 µg/l, 0.5 µg/l, 0.1 µg/l und 0.02 µg/l verdünnt wurde (Chemikalien von Merck; Darmstadt, Deutschland und Proteine von Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH; Seelze, Deutschland).

Probenpipettierung: Nach der zweifachen Waschung wurden zu jeweils 200 µl der Proben jeweils 50 µl Pferdeserum (Gibco® Cell Culture Systems, Invitrogen GmbH; Karlsruhe, Deutschland), versetzt mit 25 mmol/l CaCl₂, pro well hinzugefügt und 90 min auf den Schüttlern inkubiert. Zusätzlich wurden jeweils 10 µl Liquor mit 990 µl Pferdeserum (Gibco® Cell Culture Systems, Invitrogen GmbH; Karlsruhe, Deutschland) verdünnt. Die Heparinplasma-proben konnten unverdünnt gemessen werden.

Zweiter Antikörper: Im Anschluß an die Dreifachwaschung wurden 200 µl pro well biomarkiertes Anti-S-100-Protein in einer Verdünnung von 1:1000 in LKC (ohne DTPA) mit 10 mmol/l CaCl₂ und Pferdeserum (Gibco® Cell Culture Systems, Invitrogen GmbH; Karlsruhe, Deutschland) versetzt, auf eine Endkonzentration von ca. 2 mg/l verdünnt, hinzugefügt und für 90 min auf den Schüttlern inkubiert.

Die weiteren Schritte des Assays sind mit denen wie unter 2.3.1 für GFAP beschrieben identisch.

Gemessen wurden neben der Kalibrierungskurve von 0.02 µg/l – 25 µg/l mehrfache interne Kontrollen inklusive Pferdeserum, NaCl und LKC.

Die Intra- und Interassayvarianzen lag in einem Bereich von 5.5% - 12.4%. Der Messbereich lag innerhalb von 0.02 – 12.5 µg/l, die untere Nachweisgrenze liegt bei 0.015 µg/l. Die Eigenschaften des Assays wurden von *Missler* und *Wiesmann* beschrieben (*Missler* und *Wiesmann*, 1995).

Allgemein gilt für die Auswahl der Liquormeßwerte:

- Es wurde jeweils eine verdünnte (L_v) und eine unverdünnter (L) Liquorprobe gemessen.
- Der jeweils im Messbereich liegende Messwert wurde verwendet.
- Liegen L_v und L im Messbereich, wurde der Wert der unverdünnten Liquorprobe verwendet.

Praktisch fand dieses hauptsächlich bei den Messwerten des S-100 Anwendung.

2.3.5 Immunfluoreszenzassay zur Bestimmung von NSE

Unterschiede im Vergleich zum GFAP Assay:

Festplattenbeschichtung: Verwendung von 10 µl/well (**erste Platte**) und von 20 µl/well (**zweite Platte**) Anti-NSE (Dako; Roskilde, Dänemark) in 200 µl Karbonatpuffer (0.05 mol/l, pH 9.6) (Merck; Darmstadt, Deutschland) zur Beschichtung. Inkubation über Nacht bei 4°C, zunächst ohne weitere Agenzien.

- Standard ansetzen: Als Standard wurde die dem kommerziell erhältlichen Assay NSE Kryptor (BRAHMS; Henningsdorf bei Berlin, Deutschland) beigelegte Präparation verwendet mit folgenden Konzentrationen: 200 µl/l, 100 µl/l, 50 µl/l, 25 µl/l, 5 µl/l und 1µl/l.
- Probenpipettierung: Nach der zweifachen Waschung wurden jeweils 20 µl der Standards und Proben mit jeweils 200 µl LKC pro well aufgefüllt und zwei Stunden auf den Schüttlern inkubiert. Serumproben werden unverdünnt, Liquor jeweils unverdünnt sowie 1:100 verdünnt eingesetzt.
- Zweiter Antikörper: Im Anschluß an die Dreifachwaschung wurden 200 µl pro Napf mit Biotin markiertem Kaninchen-Anti-NSE-Antikörper (Dako; Roskilde, Dänemark), der mit LKC/DTPA und Kaninchenserum (Hoffmann-LaRoche; Grenzach-Wyhlen, Deutschland) verdünnt worden war, hinzugefügt und für 2 Stunden auf den Schüttlern inkubiert.

Die weiteren Schritte des Assays sind mit denen wie unter 2.3.1 für GFAP beschrieben identisch.

Neben der Kalibrierungskurve von 1 µg/l – 200 µg/l bei 20 µl Probenmenge pro Napf wurden mehrfache interne Kontrollen inklusive NaCl und LKC gemessen.

Intra- und Interassayvarianzen lagen in einem Bereich von 2.1% - 7.6%. Der Messbereich bewegt sich zwischen 1 – 200 µg/l, die untere Nachweisgrenze war abhängig von der eingesetzten Probenmenge (*Missler, 2000*).

Blutige Liquorproben mussten ausgeschlossen werden, da Blutzellen große Mengen NSE enthalten und somit die Messergebnisse verfälscht hätten (*Ko et al., 1990*).

2.3.6 Immunoluminometrischer Assay (ILMA) zur Bestimmung von PCT

Die Messung des PCT im Liquor wurde aufgrund der dortigen Bereitstellung eines entsprechenden Messgerätes freundlicherweise durch das Institut für Mikrobiologie durchgeführt.

Verwendet wurde ein vorgefertigter Kit (LUMItest[®]PCT, BRAHMS; Henningsdorf bei Berlin, Deutschland).

Bei diesem Assay werden zwei antigenspezifische monoklonale Antikörper, die das Procalcitonin (Antigen) an zwei verschiedenen Stellen – dem Calcitonin- und dem Katalcalcin-Anteil – binden, im Überschuß eingesetzt. Einer der beiden Antikörper war lumineszenzmarkiert (Tracer), der andere auf der Innenseite der Röhren fixiert (Coated tube System).

Im Verlauf der Inkubation reagierten beide Antikörper mit den Procalcitonin-Molekülen der Probe zu sogenannten “Sandwich-Komplexen“, wodurch der lumineszenzmarkierte Antikörper an die Röhrenoberfläche gebunden wurde. Nach dem Reaktionsende wurde der verbleibende Tracerüberschuß durch sorgfältiges Waschen vollständig aus dem Röhren entfernt und verworfen.

Die Größe des Lumineszenzsignals ist der PCT-Konzentration der jeweiligen Probe direkt proportional. Über die Lumineszenzsignal-Werte der mitgeführten Standards (bekannte Antigenkonzentrationen; kalibriert an synthetischem, intaktem humanen Procalcitonin) ließ sich eine Standardkurve erstellen, an der die unbekanntes PCT-Konzentrationen der Patientenserien beziehungsweise –plasmen abgelesen werden konnte.

Zunächst musste eine Standardkurve nach folgenden Schritten erstellt werden.

1. Nummerieren der Teströhren.
2. Pipettieren von je 20 µl des Standards, der Kontrollen und der Patientenproben.
3. Pipettieren von 250 µl des Tracers pro Standard, Kontrolle und Patientenprobe.
4. Inkubation bei Raumtemperatur auf dem Schüttler für 1 bis 1.5 Stunden.
5. Dekantieren: das Teströhren wurde mit 1 ml Waschlösung befüllt und dekantiert.
6. Waschen: jedes Teströhren wurde viermal mit je 1 ml Waschlösung befüllt und jeweils dekantiert. Das Röhren wird anschließend 5-10 min auf Zellstoff über Kopf zum Abtropfen gebracht.
7. Einsortieren der Teströhren im Luminometer (Berthold Technologies GmbH & Co. KG; Bad Wildbach, Deutschland).
8. Messung im Luminometer durch automatische Zugabe der Basiskit-Reagenzien 1 und 2.

Im Folgenden wird der Test beschrieben.

1. Vorbereitungen:
 - alle Kitkomponenten und Patientenproben werden auf Raumtemperatur gebracht
 - der Tracer wird rekonstituiert
 - alle flüssigen Komponenten – auch die Patientenproben – sind vor Gebrauch zu durchmischen (um eine Schaumbildung zu vermeiden)

- Coated tubes beschriften (a,b für die empfohlenen Doppelbestimmungen)
 - Waschlösung herstellen: 11 ml Konzentrat mit destilliertem Wasser auf 550 ml auffüllen
 - Luminometer in betriebsbereiten Zustand bringen (Einspülen der Basiskit-Reagenzien).
2. In die Teströhrchen wurden je 20 µl PCT-Standard mit steigender Konzentration pipettiert, in die Kontrollröhrchen werden je 20 µl Kontrollen und in die Patientenprobenröhrchen werden je 20 µl Patientenserum oder -plasma pipettiert, jeweils unter Verwendung neuer Pipettenspitzen.
 3. In alle Teströhrchen wurden 250 µl Tracer pipettiert (die Schritte 2. und 3. sollten innerhalb von 15 Minuten zur Vermeidung von Werteverstärkungen durchgeführt werden).
 4. Die Teströhrchen wurden auf einem Vibrationsschüttler kurz geschüttelt, mit Klebefolien abgedeckt und für 1-1.5 Stunden bei Raumtemperatur unter Schütteln lichtgeschützt inkubiert.
 5. Nach Ablauf der Inkubationsphase wurde zu allen Teströhrchen je 1ml Waschlösung gegeben und anschließend dekantiert.
 6. Danach wurden alle Teströhrchen noch viermal mit je 1 ml Waschlösung befüllt und die Waschlösung jeweils dekantiert.
Nach dem letzten Dekantierschritt wurden die Röhrchen 5-10 Minuten auf frischem Zellstoff über Kopf stehengelassen, um so anhaftende Flüssigkeitsreste ablaufen zu lassen. Abschließend wurden die Röhrchen nochmals kräftig auf dem Zellstoff aufgestoßen, damit die letzten Flüssigkeitsreste entfernt werden.
 7. Die Teströhrchen wurden in der vom Messprotokoll vorgegebenen Reihenfolge in das Luminometer einsortiert.
 8. Nach der automatischen Zugabe von jeweils 300 µl der LUMItest[®] Basiskit-Reagenzien 1 und 2 wurden die Lumineszenzsignale gemessen. Die empfohlene Messzeit betrug 1 Sekunde pro Röhrchen.
Die analytische Assaysensitivität lag bei ca. 0.1 ng/ml. Die funktionelle Assaysensitivität – kleinster Messwert, der mit einer Präzision von maximal 20% Interassay gefunden wurde – betrug ca. 0.3 ng/ml.

2.4 Statistik

Alle Ergebnisse sind aufgrund der niedrigen Zahl an einer Meningitis erkrankten Patientenzahl als Mittelwert und Standardabweichung angegeben, da eine Normalverteilung nur eingeschränkt vorhanden sein kann. Festgelegt wurde, dass zum einen von einer Meningitis ab einem Messwertanstieg von mindestens 50% ausgegangen wird und zum anderen, dass der Tag, an dem der erste positive mikrobiologische Liquorbefund diagnostiziert wurde, als Tag 0 bezeichnet wird.

Nach Vorstellung der Ergebnisse dieser Studie in dem Institut für Medizinische Biometrie und Statistik des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, wurde nach eingehender Prüfung aufgrund der zu geringen Fallzahlen von einer intraindividuellen sowie einer interindividuellen statistischen Auswertung abgeraten. Deshalb sind die Verläufe der einzelnen Messwerte für die positiven Patienten beschreibend in graphischer und tabellarischer Form dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Klinischer Verlauf

Im Untersuchungszeitraum wurden 76 Patienten in die Studie eingeschlossen. Von den 76 Patienten erhielten 74 Patienten (97.4%) während des Untersuchungszeitraumes einen Liquorkatheter, bei zwei Patienten waren bei jeweils zwei zeitlich voneinander unabhängigen stationären Aufnahmen erneute Liquordrainagen notwendig.

Die Geschlechterverteilung belief sich auf 43 (56.6%) weibliche Patientinnen zu 33 (43.4%) männlichen Patienten. Die Altersspanne reichte von 24 bis 84 Jahre. Der Altersdurchschnitt betrug 56.7 ± 12.4 Jahre.

Die klinischen Diagnosen zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie sind in Tab. 2 zusammengefaßt und verteilen sich folgendermaßen: nichttraumatische Subarachnoidalblutung (n = 32), Tumor (n = 13), weitere intrakranielle Blutung (n = 8), Infarkt/ Basilaristhrombose (n = 7), Hydrozephalus (n = 5), Trauma (n = 5), Angiom (n = 2), primäre Meningitis (n = 2), Baclofen-Testung im Rahmen eines apallischen Syndroms (n = 1) und unklare Diagnose (n = 1).

Diagnosen bei Studienbeginn	
Subarachnoidalblutung	32
Tumor	13
Weitere Intrakranielle Blutung	8
Infarkt/ Basilaristhrombose	7
Hydrozephalus	5
Trauma	5
Angiom	2
Primäre Meningitis	2
Baclofen-Testung	1
Unklare Diagnose	1

Tab. 2 Diagnosen zum Einschlußzeitpunkt in die Studie

Aus dem Gesamtkollektiv erfüllten $n = 17$ (entspricht einer Sensitivität von 22.4%) Patienten die Kriterien einer bakteriellen Meningitis, d.h. bei diesen Patienten konnte mikrobiologisch und/oder zellmorphologisch im Verlauf der Nachweis einer Meningitis erbracht werden. Das Alter der 17 ausgewählten Patienten lag zwischen 24 und 77 Jahren, im Mittel bei 54.2 ± 13.1 Jahre. Die Gruppe umfasste 6 Männer (35.3%) und 11 Frauen (64.7%).

Der Patient mit der Fallnummer 11 war nur bedingt auswertbar, da gleichzeitig zum Meningitisnachweis eine zerebrale Herniation vorlag.

Die Patienten wurden zum Teil bereits vor dem Nachweis einer Meningitis mit Antibiotika behandelt, nach Erregernachweis wurde die Breitbandantibiose entsprechend des Antibiogramms angepasst.

Insgesamt wurden bei allen Patienten zusammengefasst 95 Drainagen gelegt. Dabei erhielten die 17 Patienten mit Meningitis 31 Drainagen, darunter 18 Lumbaldrainagen und 13 externe Ventrikeldrainagen, d.h. bei einigen Patienten waren z.T. mehrere bzw. verschiedene Drainagen notwendig. In einem Fall wurde eine Externalisierung eines liegenden ventrikulo-peritonealen Shunts (Umwandlung in eine externe Ventrikeldrainage) vorgenommen. Bei den Patienten ohne eine Meningitis wurden 64 Drainagen gelegt, davon 32 Ventrikel- und 32 Lumbaldrainagen; zwei VP-Shunts wurden externalisiert. Tab. 3 gibt eine Übersicht über die verschiedenen Drainagearten der in die Studie einbezogenen Patienten.

		Drainageart				
		EVD	LD	EVD und LD	VP-Shunt externalisiert	unbekannt
Anzahl	Patienten mit Meningitis	5	10	16	1	0
	Patienten ohne Meningitis	26	27	11	2	1
	Gesamtkollektiv	31	37	27	3	1

Tab. 3 Drainagearten der in die Studie einbezogenen Patienten

Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich vom Tag der Drainagenanlage bis zu dem Tag der Entfernung und wird in Studientagen angegeben. Er betrug im Mittel 9.6 ± 7.3 Tage. Die Liquordrainagen verweilten unterschiedlich lang in den Patienten, die längste Liegedauer betrug 88 Tage und die kürzeste einen Tag. Weitere Daten sind Tab. 4 und Abb. 1 zu entnehmen.

		Liegedauer der Drainagen in Tagen					
		EVD	LD	EVD und LD	VP-Shunt externalisiert	unbekannt	Drainagen gesamt
		Mittelwert \pm Standardabweichung					
Anzahl	Patienten mit Meningitis	16.0 ± 4.0	12.0 ± 4.66	14.1 ± 8.27	8.0	/	13.1 ± 7.13
	Patienten ohne Meningitis	7.31 ± 6.95	9.23 ± 0.23	6.75 ± 4.53	6.0 ± 0.71	1.0	7.98 ± 7.05

Tab. 4 Liegedauer der Drainagen (Mittelwert \pm Standardabweichung), bei den einzeln aufgeführten Drainagen sind die aus der Gruppe „EVD und LD“ nicht mehr berücksichtigt.

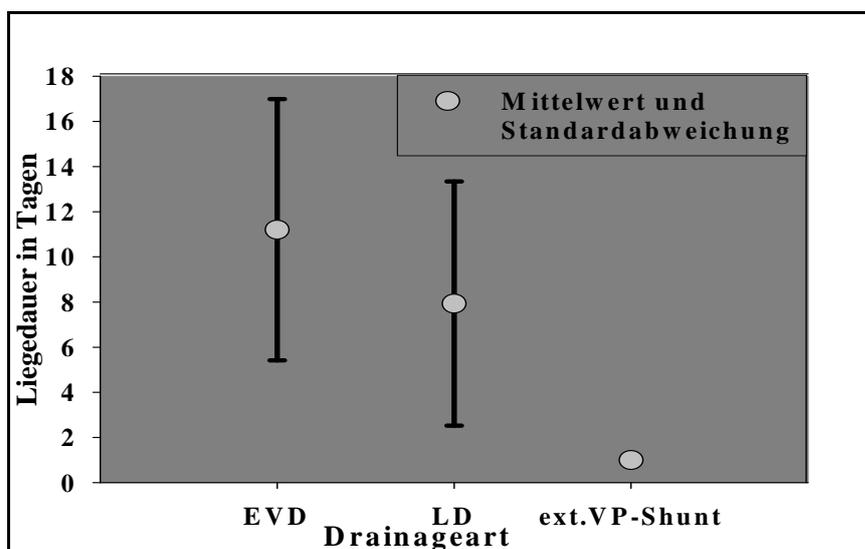


Abb. 1 Liegedauer der Drainagen bis zum Nachweis der Meningitis als Mittelwert und

Standardabweichung. Eine erhöhte Infektionsrate ist mit einer im Vergleich geringeren Liegedauer verbunden.

In der Tab. 5 wird eine Gesamtübersicht über die Daten der 17 an einer Meningitis erkrankten Patienten gegeben. Es sind die Fallnummer, das Alter, die Geschlechterverteilung, die Grunderkrankung und die im Beobachtungszeitraum dokumentierten Drainagearten mit jeweiliger Liegedauer angegeben. Desweiteren werden die in diesem Zeitraum erfolgten antibiotischen Therapien vor der Meningitis vermerkt. Außerdem werden die maximal gemessene Körpertemperatur und der höchste CRP- Wert im Heparinplasma dargestellt.

Fall - Nr.	Alter in Jahren	Geschlecht	Diagnose	Drainageart	Drainagen- liegedauer in Tagen	Antibiose vor Meningitis	max. Temperatur in °C	max. CRP in mg/l;
1	43	w	Trauma	LD	16	ja	39.0 8. Tag	155 3. Tag
2	53	m	Intrakranielle Blutung	EVD (2x)	8	nein	39.6 5. Tag	118 8. Tag
9	24	w	Hydrozephalus	Ext. Shunt	7	ja	38.8 3. Tag	138 1.Tag
11	52	w	Subarachnoidalblutung	LD	6	ja	40.3 6. Tag	1551 7. Tag
17	55	w	Hydrozephalus	1. EVD 2. EVD	5 8	nein nein	39.9 10. Tag	87 7. Tag
20	43	w	Hydrozephalus (s. Fall-Nr.1)	LD	8	?	38.4 1. Tag	119 1. Tag
21	38	w	Hydrozephalus	1. EVD 2. LD 3. LD 4. LD 5. EVD 6. EVD (2.)	9 17 21 13 40 7	ja nein ja ja ja ja	40.3 12., 34. und 37. Tag	354 2. Tag 192 36. Tag 338 64. Tag

Fall - Nr.	Alter in Jahren	Geschlecht	Diagnose	Drainageart	Drainagen- liegedauer in Tagen	Antibiose vor Meningitis	max. Temperatur in °C	max. CRP in mg/l;
23	63	m	Infarkte/Thrombose	LD	21	ja	38.7 1. und 14. Tag	152 1.Tag
24	75	w	Subarachnoidalblutung	LD	11	nein	39.0 10. Tag	117 2. Tag
27	69	m	Intrakranielle Blutung	1. EVD	15	?	39.4	183
				2. LD	14	ja	8. Tag	11. Tag
35	77	m	Primäre Meningitis	LD	9	?	38.9 1.-3. Tag	9 1. Tag
38	63	m	Primäre Meningitis (s. Fall-Nr.23)	1. LD	3	?	37.9	29
				2. EVD	8	ja	1. Tag	1. Tag
44	44	w	Subarachnoidalblutung	1. EVD	11	nein	38.0	67
				2. LD	5	nein	4. Tag	14. Tag
52	52	m	Intrakranielle Blutung	1. EVD	16	ja	39.9	382
				2. LD	20	nein	22. Tag	21. Tag
53	59	w	Subarachnoidalblutung	1. EVD	18	ja	38.6	148
				2. LD	7	nein	14. Tag	3. Tag
62	59	w	Subarachnoidalblutung	1. LD	9	nein	40.7	123
				2. LD	9	ja	9. Tag	13. Tag
69	52	w	Tumor	1. LD	4	unbekannt	39.6	226
				2. LD	7		4. Tag	4. Tag

Tab. 5 Gesamtübersicht über die Meningitis-Patienten. Es werden die Fallnummer, das Patientenalter, das Geschlecht (w = weiblich; m = männlich), die Diagnose, die Drainagenarten (EVD = externe Ventrikeldrainage, z.T. beidseitig gelegt (2x), LD = Lumbaldrainage, ext. Shunt = externalisierter ventrikulo-peritonealer Shunt), die Liegedauer der Drainagen, die Antibiotika-Therapie vor dem mikrobiologischen Meningitisnachweis sowie die maximale Körpertemperatur und der maximale CRP-Wert angezeigt. Die

Übereinstimmung der Entzündungsreaktionen mit dem Meningitis-Nachweis an den entsprechenden Studientagen ist in **roter Schrift** markiert.

3.2 Verlauf der Laborparameter bei liegender Liquordrainage

Alle Laborparameter wurden soweit möglich täglich bestimmt. Tab. 6 gibt einen Überblick über die Untersuchungsergebnisse des Liquors bei den Meningitispatienten. Im ersten Drittel der Tabelle sind die maximale Liquorzellzahl und der entsprechende Studientag genannt. Unter der Rubrik Liquorzellbild werden die Stadien der Meningitis beschrieben, die an den jeweiligen Studientagen nachgewiesen werden konnten. Im letzten Drittel der Tabelle werden die jeweiligen Erreger genannt, soweit ein mikrobiologischer Keimnachweis gelang. Wenn zum Zeitpunkt eines Keimnachweises und/oder entsprechender Veränderungen des Liquorzellbildes auch die Zellzahl im Liquor am höchsten war, sind die Zahlen rot markiert.

Fall-Nr.	maximale Liquorzellzahl		Liquorzellbild		Mikrobiologischer Nachweis	
	Studien-tag; „D“	Zahl in n/3	Studien-tag	Stadien einer Meningitis	Studien-tag	Erreger
1	7.	11520	4. - 9.	akute exsudative Phase	2. - 9.	Staphylococcus epidermidis
2	6.	12760	6.	akute exsudative Phase	2. - 5.	Staphylococcus epidermidis
9	3.	1792	1. - 2. 3.	akute exsudative Phase kein Liquorlabor	1. - 2. 3.	Vergrünende Streptokokken Pantoea species
11	6.	3700	6.	beginnende exsudative Phase	nur partiell bestimmt	Keine nachweisbar
17	6. (2.)	27136	5. - 11.	akute exsudative Phase	5. - 8.	Staphylococcus aureus
20	1.	2912	1. - 8. 7. - 8.	akute exsudative Phase gemischtzellige Pleozytose		Keine nachweisbar

Fall-Nr.	maximale Liquorzellzahl		Liquorzellbild		Mikrobiologischer Nachweis	
	Studien- tag; „D“	Zahl in n/3	Studien- tag	Stadien einer Meningitis	Studien- tag	Erreger
21	12. (10.)	14080	8. - 15.	akute exsudative Phase	3., 12., 26., 60.	Koagulase negative Staphylokokken
	27. (12.)	9472	26. - 28.	akute exsudative Phase u.		
	36. (9.)	89600	35. - 51.	Pleozytose	10., 11., 13., 25., 26., 56., 57.	Staphylococcus epidermidis
	46. (8.)	10000	57. - 74.	akute exsudative Phase		
	60. (22.)	2500		gemischtzellige Pleozytose	35., 39., 43.	Escherichia coli
23	18.	1172	17. - 20.	gemischtzellige Pleozytose und akute exsudative Phase	14., 15., 17., 19., 20.	Koagulase-negative Staphylokokken
24	3.	7160	3.	akute exsudative Phase	2.	Koagulasenegative Staphylokokken
	10.	9440	8. - 10.	gemischtzellige Pleozytose	10.	Staphylococcus epidermidis
27	1. (9)	5900	1.	gemischtzellige Pleozytose	1., 6., 7.	Koagulase negative Staphylokokken
	5. (14.)	4352	5. - 7.	akute exsudative Phase	5., 6., 23.	Staphylococcus epidermidis Corynebact.
35	3.	1664	1. - 6.	Lymphomonozytäre Pleozytose		Keine nachweisbar
38	1. (3.)	276	1. - 6.	Lymphomonozytäre Pleozytose	2.	Staphylokokken
44			11.	Lymphomonozytäre Pleozytose	12. - 14.	Staphylococcus epidermidis
	14. (5.)	28160	13. - 14.	akute exsudative Phase	13.	grampositive Kokken

Fall-Nr.	maximale Liquorzellzahl		Liquorzellbild		Mikrobiologischer Nachweis	
	Studien-tag; „D“	Zahl in n/3	Studien-tag	Stadien einer Meningitis	Studien-tag	Erreger
52	2.	1800	20. - 21.	Lymphomonozytäre Pleozytose	15.	Staphylococcus epidermidis
53	18.	10752	17. - 18.	akute exsudative Phase		Keine nachweisbar
62	7.	8500	6. - 8.	akute exsudative Phase	5. - 7.	Staphylococcus epidermidis
	12. (4.)	10560 (partiell bestimmt)	14. - 16.	Lymphomonozytäre Phase		
69	2.	52480	1. - 8.	akute exsudative Phase		Keine nachweisbar
	7. (5.)	19200				

Tab. 6 Liquor-Untersuchungsdaten der Meningitis-Patienten. Bei Übereinstimmung der maximalen Liquorzellzahlen, des Liquorzellbildes und des mikrobiologischen Befundes im Liquor an den Studientagen sind die **Zahlen rot** markiert. „D“ in Form von (t.) gibt die tatsächliche Liegedauer der jeweiligen Drainage in Tagen an und muss von den eigentlichen Gesamtstudientagen unterschieden werden.

3.3 GFAP-, S-100- und PCT-Level im Blut und Liquor bei Meningitis-Patienten

Bei allen 17 Patienten wurde der GFAP- Level sowohl im Liquor als auch im Blut gemessen. In Tab. 7 werden die Daten der an einer Meningitis erkrankten Personen, die an 3 bzw. 4 bestimmten Tagen gemessen wurden, exemplarisch aufgelistet. Der Messwertanstieg liegt bei >50% mit Ausnahme der Werte bei den initialen Meningitiden, bei denen dieser Anstieg nicht bestimmt werden konnte. Der Überwachungszeitraum der initialen Meningitiden erstreckte sich in der Auswertung bis zum 20. Studientag.

Die Plasmakonzentration des GFAP ist größtenteils nicht messbar oder steigt in den unteren Messbereichen nicht wesentlich (<50%) an, so dass sich kein Zusammenhang zwischen GFAP- Werten im Blut und dem Auftreten einer Meningitis erkennen lässt.

Fall-Nr.	GFAP im Liquor				bei Meningitismachweis			Drainage
	in µg/l				in µg/l	in %	in Tagen	
	Studienbeginn	5. Studientag	10. Studientag	15. Studientag	Tag des mikrobiologischen Meningitismachweises	Absoluter Anstieg	Prozentualer Anstieg	Liegedauer bei Anstieg des GFAP im Liquor
	1	0.045	0.034	0.027	0.086	0.026	0.023	88
2	1471.4	38.8	0.479	∅	81.5	42.70	110	6
9	13.4	0.747	∅	∅	13.4	initial	initial	initial
11	41.1	164.6	∅	∅	neg.	neg.	neg.	neg.
17	6.396	2.107	1.043	0.383	2.107	0.991	89	1
20	0.312	0.036	∅	∅	0.312	initial	initial	initial
21	14	0.268	0.078	10.46	10.46	0.120	77	13
23	0.031	0.031	0.125	0.358	1.136	0.794	232	18
24	0.402	0.238	∅	∅	0.45	0.114	54	3
27	29.9	138.7	0.164	0.112	86.4	80.004	1251	11
35	0.123	0.082	∅	∅	0.123	initial	initial	initial
38	0.402	0.546	∅	∅	0.402	initial	initial	2
44	2.392	0.082	0.048	0.023	0.064	0.044	220	4
52	2270	21.8	6.062	1.712	0.666	0.386	138	22
53	18.6	0.675	9.183	0.031	neg.	neg.	neg.	neg.
62	200.9	0.128	0.066	0.068	neg.	neg.	neg.	neg.
69	0.48	0.898	0.626	∅	0.48	initial	initial	initial

Tab. 7 GFAP-Plasmaspiegel an 4 exemplarischen Tagen und an dem Tag des im Rahmen der Meningitis erfolgten Anstieges. (neg.): es besteht kein Zusammenhang zwischen der nachgewiesenen Meningitis und einem GFAP-Anstieg. (initial): bei einer initialen Meningitis sind der Tag des Studienbeginns und Tag des Nachweises identisch (orange). Der Anstieg wird

als absoluter und als prozentualer Wert dargestellt und bezieht sich nicht immer auf den Tag vor dem Meningitis-Nachweis (s. unten). Die Liegedauer der Drainage wird bis zu dem Tag des GFAP- Anstieges gezählt und beträgt 8.9 ± 6.73 Tage.

Der Tag des GFAP-Anstieges als Reaktion auf eine Destruktion im Rahmen einer Meningitis ist nicht immer identisch mit dem Tag, an dem der Meningitis-Nachweis mikrobiologisch und im Liquorzellbild erbracht werden konnte. Aufgrund dessen ist die Differenz zwischen dem Wert des Tages vor dem mikrobiologischen Nachweis und dem Tag des Nachweises nicht immer gleich dem Anstiegswert. Dieses wird ab dem Kapitel 3.3.1 näher beschrieben.

Es werden nicht nur der Verlauf der GFAP-Level im Liquor und im Blut vom ersten bis zum letzten Studientag dargestellt, sondern auch die Level der ebenfalls bestimmten Marker. In den Abb. 2-18 wird dieses dargestellt. Es wird so ein Gesamtüberblick über die bestimmten Marker während des Verlaufes einer Meningitis gegeben. Zu berücksichtigen ist hierbei, dass der Meningitis-Nachweis sowohl mikrobiologisch als auch im Liquorzellbild nur an Tagen möglich war, an denen Liquor und Blut ausreichend gewonnen und in die Labore eingesandt werden konnten.

Durch die Blockpfeile werden die Tage gekennzeichnet, an denen Messwertanstiege über 50% zu verzeichnen sind. Die Messungen von GFAP im Blut liegen überwiegend unterhalb der Nachweisgrenzen.

3.3.1 Patient 1

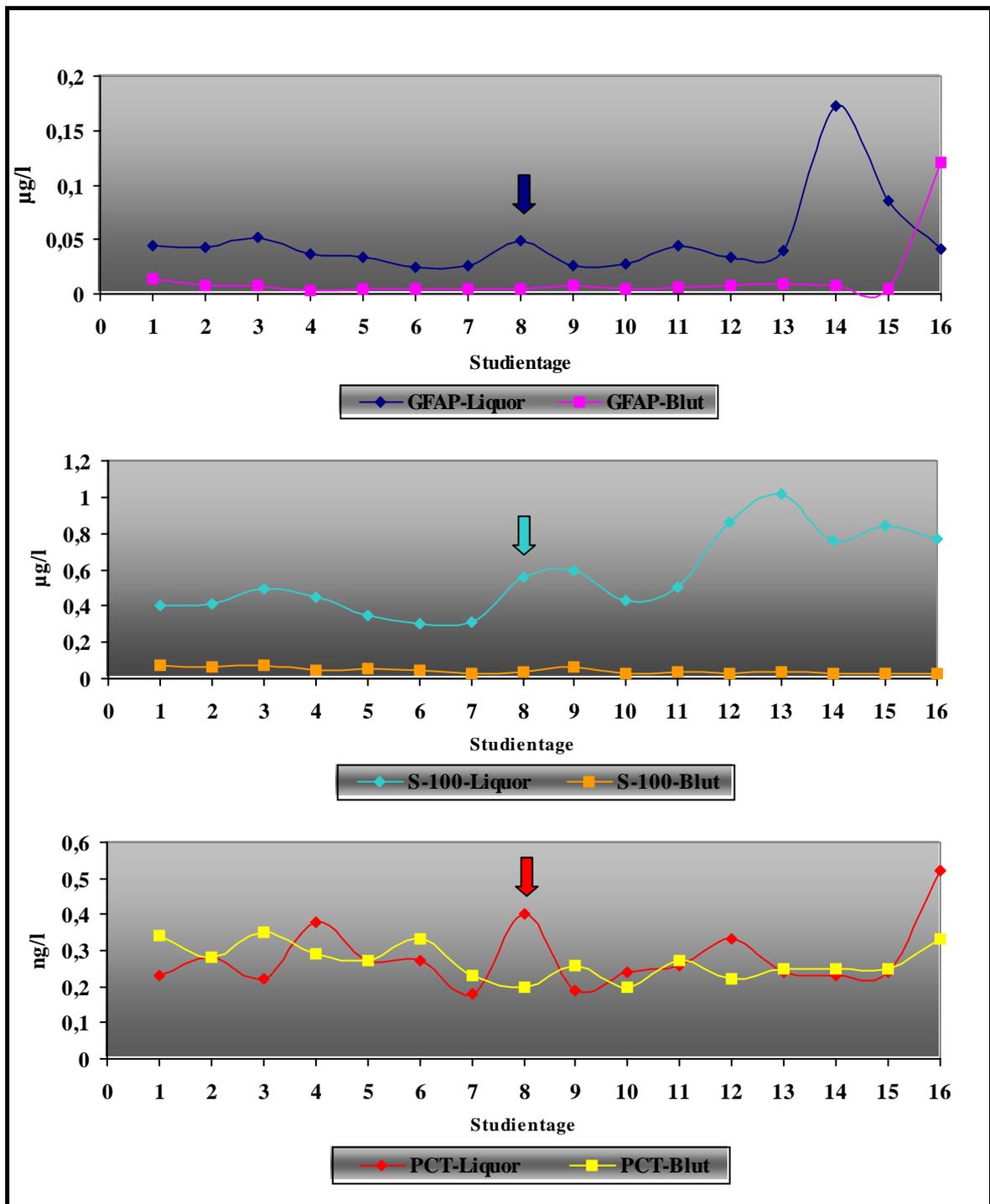


Abb. 2 Fall Nr. 1: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Ein Meningitis-Nachweis erfolgte hier übereinstimmend vom **4.-9. Studientag**. Im Vergleich steigen die Marker gegen Ende dieser Zeit >50% an, ohne einen deutlichen Unterschied zwischen Destruktions- und Entzündungsmarker erkennen zu lassen (Abb. 2).

3.3.2 Patient 2

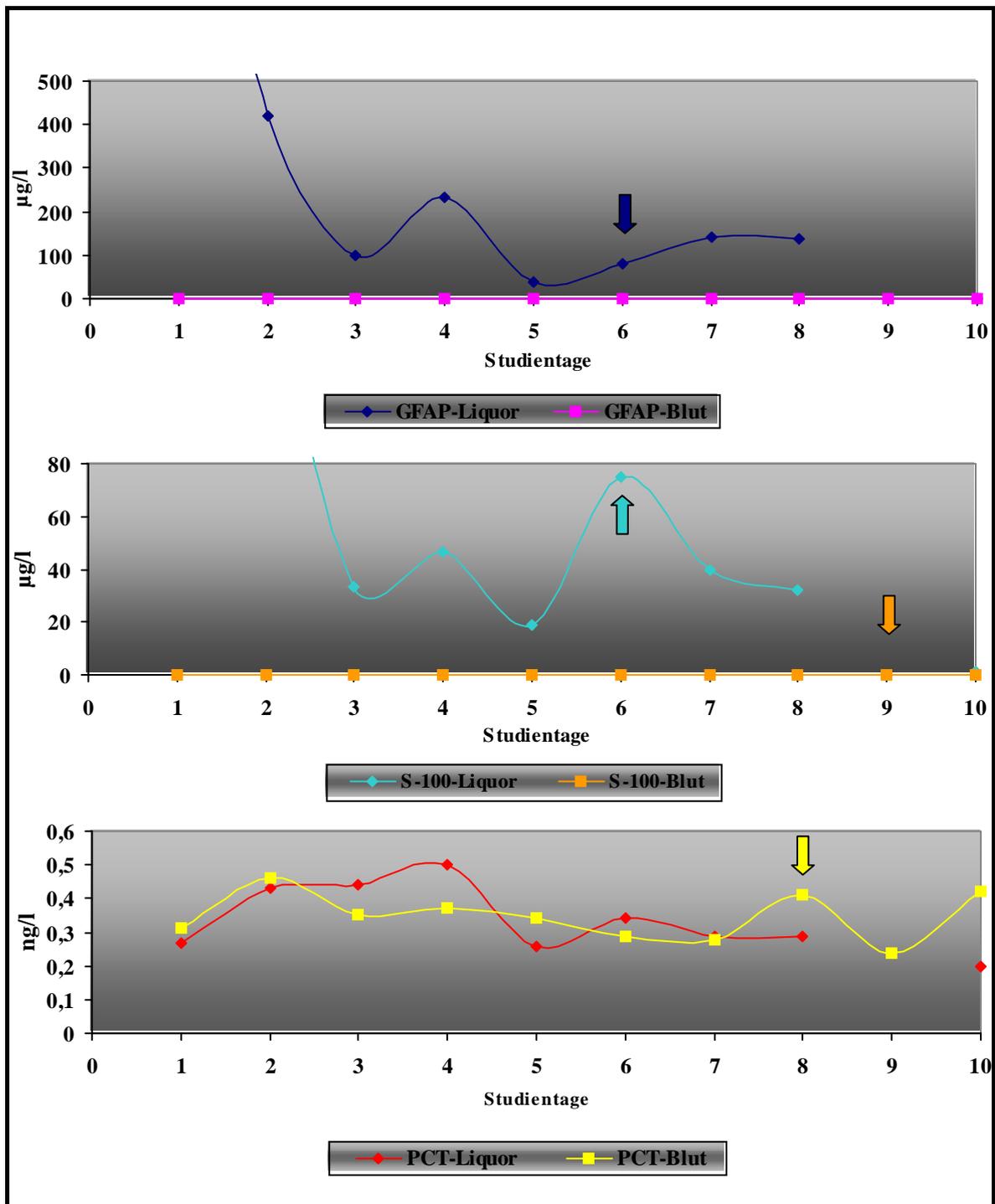


Abb. 3 Fall 2: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Vom **2.-6. Studientag** lässt sich eine Meningitis nachweisen, die akute exsudative Phase konnte am **6. Studientag** gezeigt werden (Abb. 3). Der Entzündungsmarker steigt hier gemäß der Definition verzögert an.

3.3.3 Patient 3

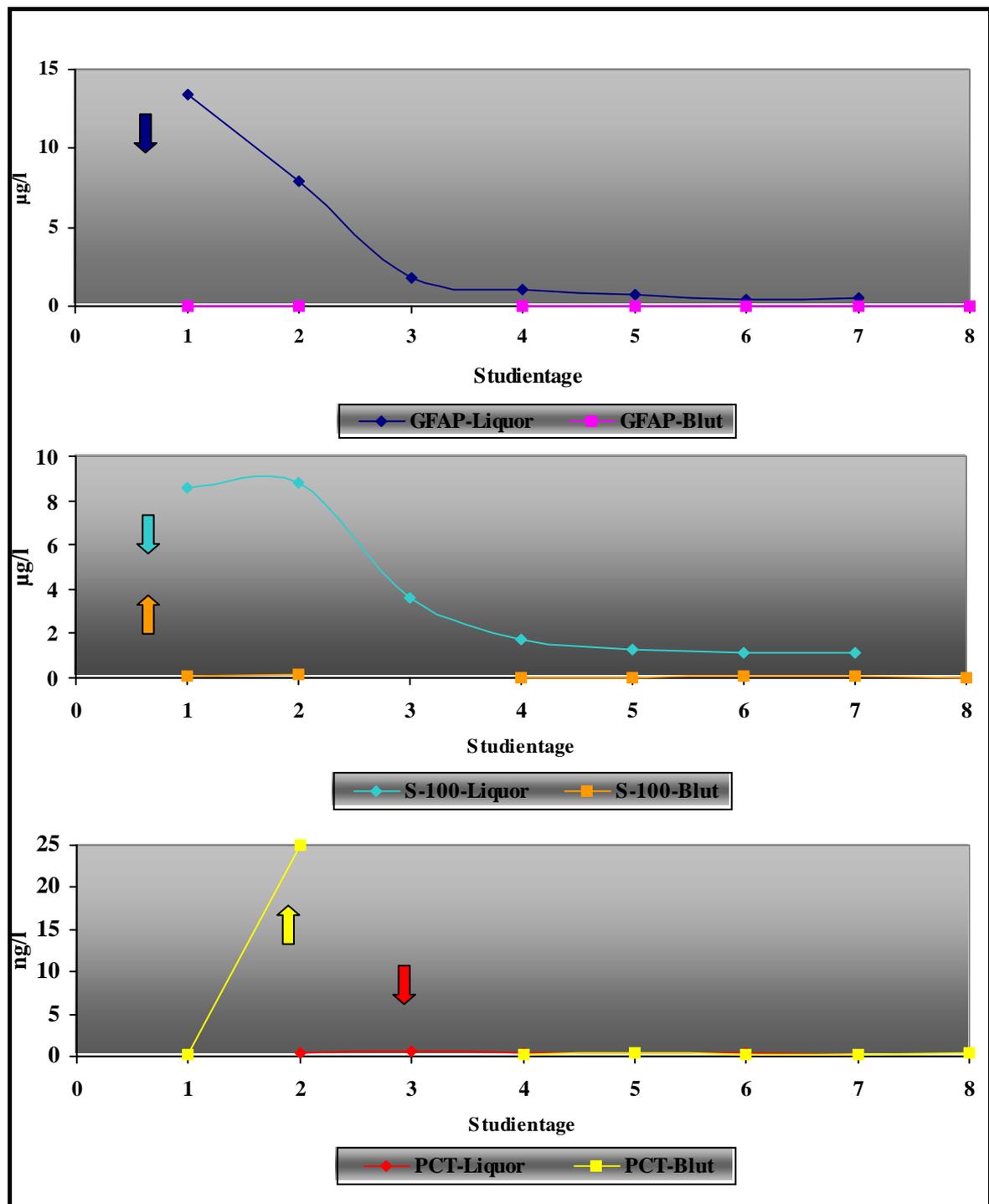


Abb. 4 Fall 9: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Der Labornachweis der Meningitis erfolgt vom **1.-3. Studientag** im Rahmen einer initialen Meningitis (Abb. 4). Auch hier lässt sich eine verzögerte Reaktion des Entzündungsmarkers erkennen.

3.3.4 Patient 4

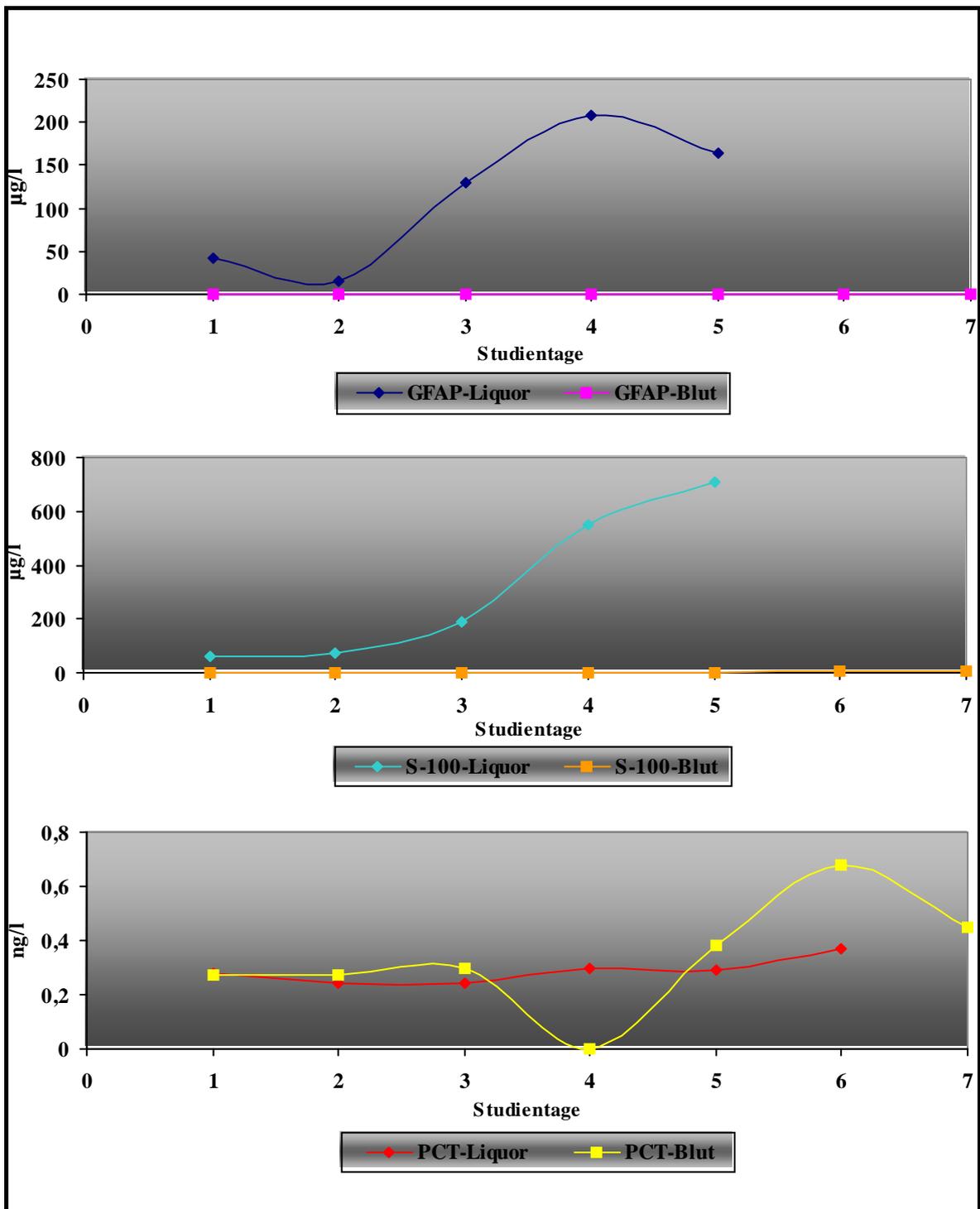


Abb. 5 Fall 11: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Am **6. Studientag** gibt es den Hinweis auf eine beginnende exsudative Phase im Liquor, jedoch gelang kein mikrobiologischer Nachweis einer Meningitis (Abb. 5). Dieses erklärt jedoch nicht den Anstieg der Destruktionsmarker und des PCT-Blut ab dem 2.Tag und auch nicht den gleichzeitigen Abfall des PCT-Liquor.

3.3.5 Patient 5

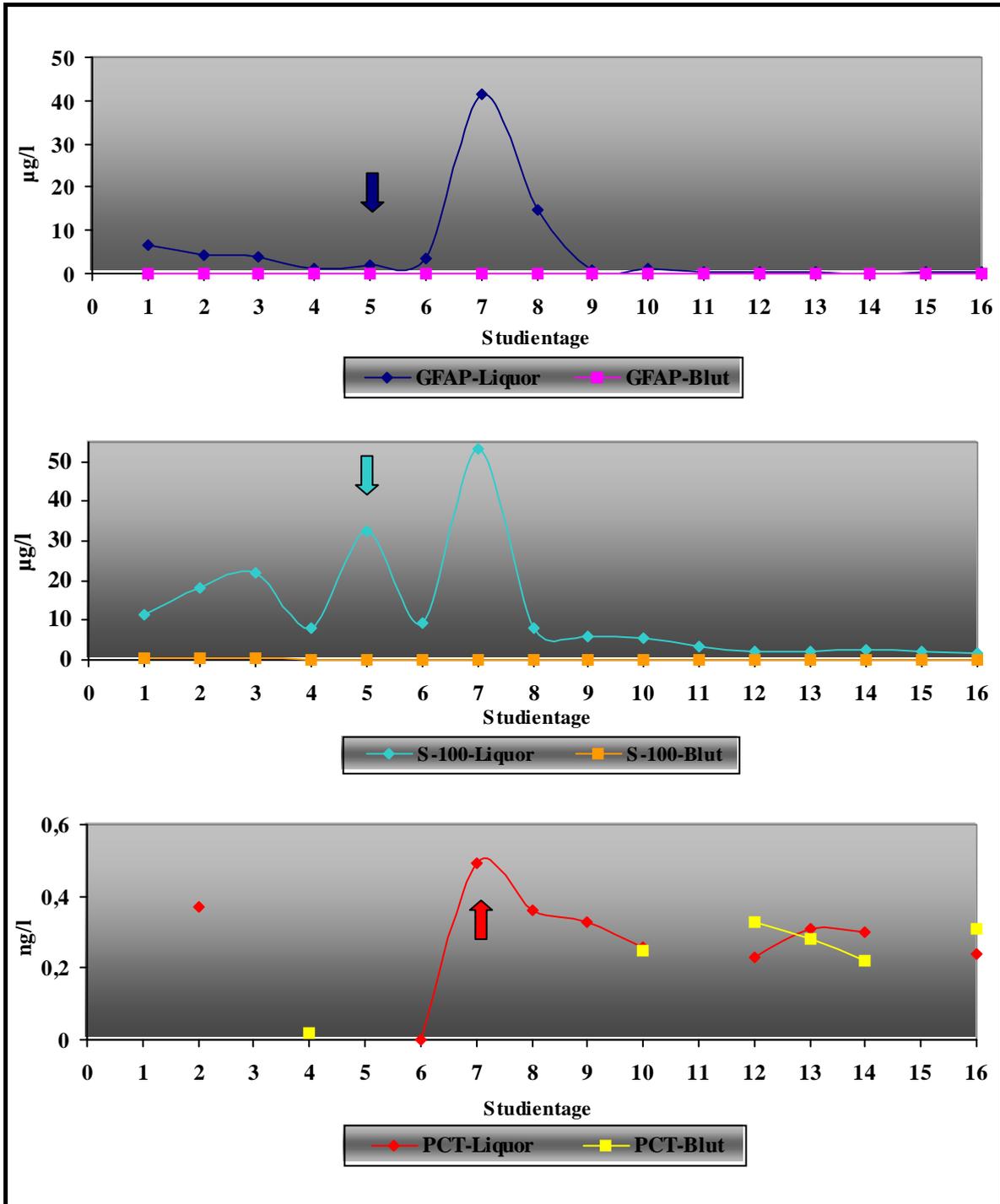


Abb. 6 Fall 17: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Der Meningitis-Nachweis kann hier übereinstimmend vom **5.-8. Studientag** erbracht werden (Abb. 6). Dieses lässt sich wieder anhand der Destruktionsmarker und verzögert anhand des PCT-Liquor erkennen. Allerdings ist die PCT-Messung durch überwiegend unterhalb der Nachweisgrenze liegende Meßwerte nur sehr eingeschränkt beurteilbar.

3.3.6 Patient 6

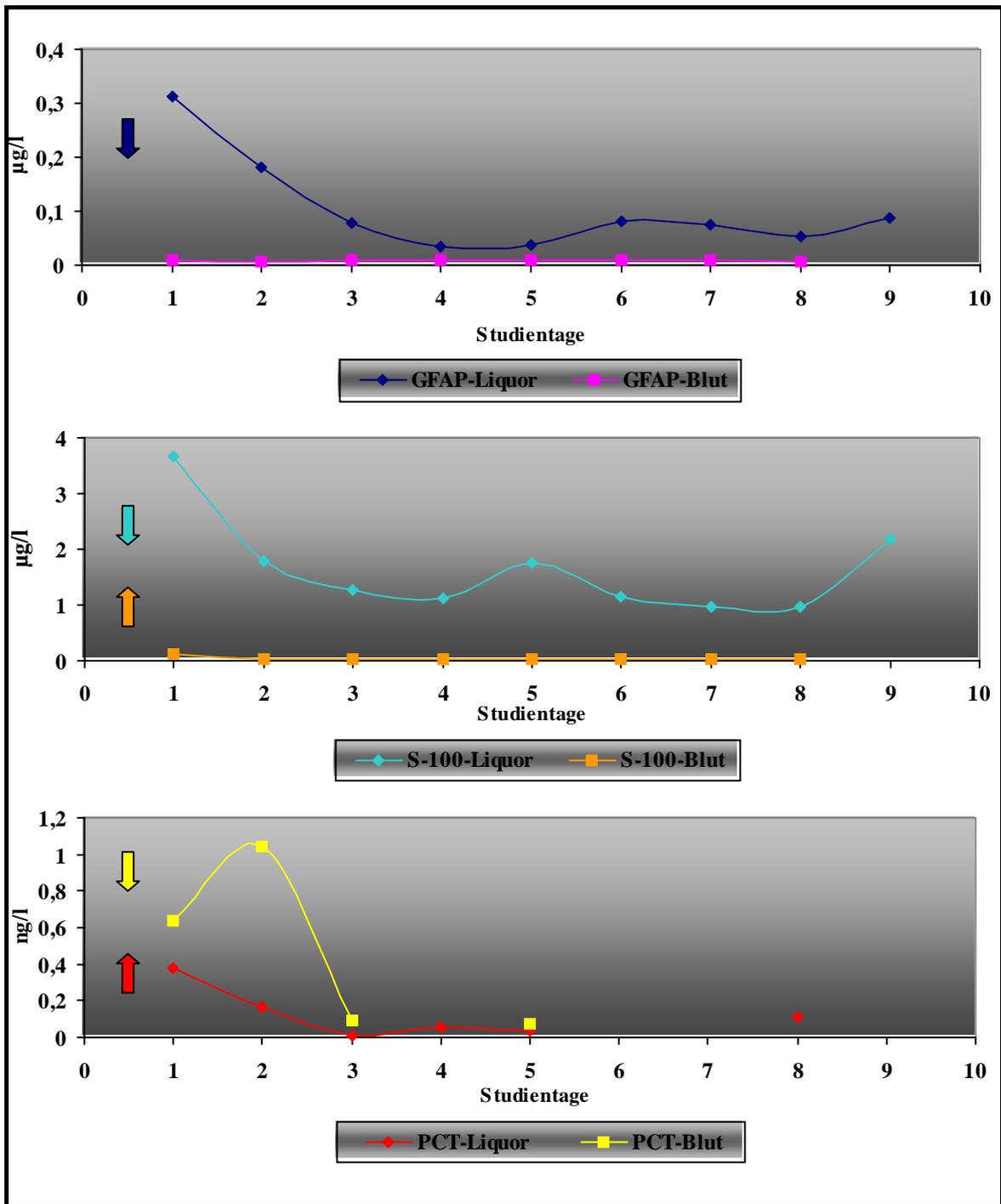


Abb. 7 Fall 20: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Vom **1.-8. Studientag** ist im Liquorzellbild ohne mikrobiologischen Nachweis eine akute exsudative Phase nachweisbar (Abb. 7). Dieses wird durch die initialen hohen Messwerte der Destruktionsmarker und des PCT-Liquor betätigt. Das PCT-Blut hingegen erreicht seinen Peak erst am 2. Studientag. Auch hier liegt das PCT überwiegend unterhalb der Nachweisgrenze.

3.3.7 Patient 7

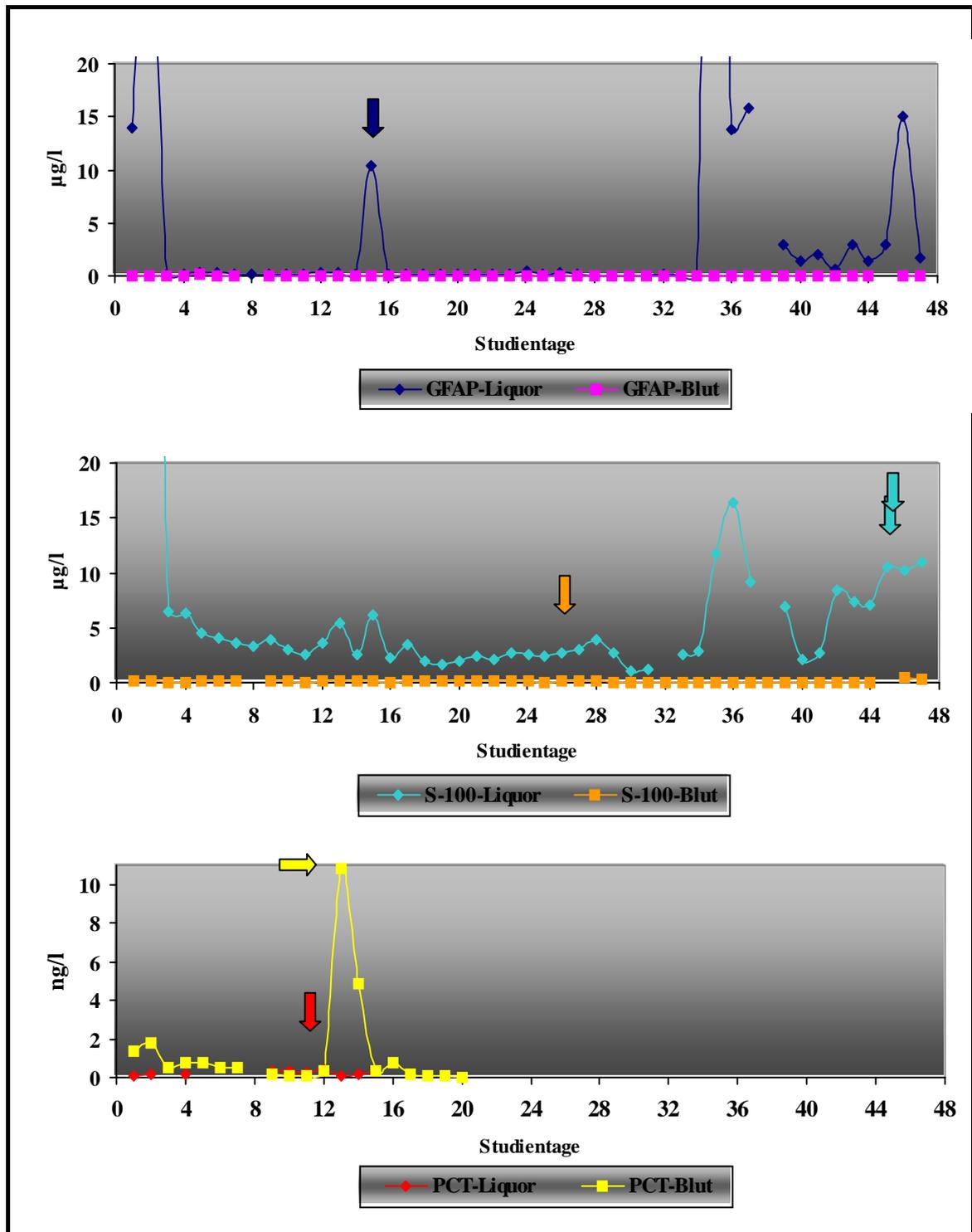


Abb. 8 Fall 21: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Die Verweildauer in der Studie betrug 74 Tage. Während dieser Zeit waren mehrere Meningitiden nachweisbar. Zum einen bestand eine Meningitis vom **8.-15. Studientag** mit einem Erregernachweis am **12. Studientag**. Dieses zeigte eine Übereinstimmung mit dem Entzündungsmarker und im verzögerten Verlauf mit dem GFAP-Liquor. Zum

anderen konnte eine Meningitis vom **25.-28. Studientag** nachgewiesen werden, was mit dem S-100-Wert im Blut korrelierte. Ein Zusammenhang mit dem S-100 im Liquor kann mit dem Meningitis-Nachweis vom **35.-51. Studientag** gesehen werden. Insgesamt war die Gruppe sehr heterogen (Abb. 8).

3.3.8 Patient 8

Ein Meningitis-Nachweis besteht hier vom **17.-20. Studientag**. Dieses lässt sich noch mit den Messwerten der Destruktionsmarker im Liquor in Relation bringen, bei den übrigen Markern besteht definitionsgemäß kein Hinweis auf eine Meningitis (Abb. 9).

3.3.9 Patient 9

Am **2. und 3. Studientag** lässt sich eine Meningitis nachweisen, wie im GFAP-Liquor und PCT-Blut erkennbar ist. Alle übrigen Marker verändern sich definitionsgemäß nicht (Abb. 10).

3.3.10 Patient 10

An dem **1. Studientag** und vom **5.-7. Studientag** wurde jeweils eine Meningitis nachgewiesen (Abb. 11). Der Anstieg der Destruktionsmarker beginnt frühzeitig und gleichzeitig. Auch der Entzündungsmarker steigt in dieser Zeit an, jedoch im Vergleich eher verzögert.

3.3.11 Patient 11

Eine Meningitis lässt sich hier nur im Liquorlabor ohne Erregernachweis vom **1.-6. Studientag** feststellen (Abb. 12). Bis auf das PCT-Blut, wo kein Anstieg >50% zu verzeichnen ist, zeigen die übrigen Marker ihren maximalen Messwert-Anstieg zu Beginn. Aufgrund dessen wird hier von einer initialen Meningitis ausgegangen.

3.3.12 Patient 12

Auch hier lässt sich eine Meningitis vom **1.-6. Studientag** nachweisen, wobei am **2. Studientag** auch ein Erregernachweis gelingt (Abb. 13). Bis auf das PCT-Blut, wo kein Anstieg >50% zu verzeichnen ist, zeigen die übrigen Marker ihren maximalen Messwert-Anstieg zu Beginn. Aufgrund dessen wird hier von einer initialen Meningitis ausgegangen.

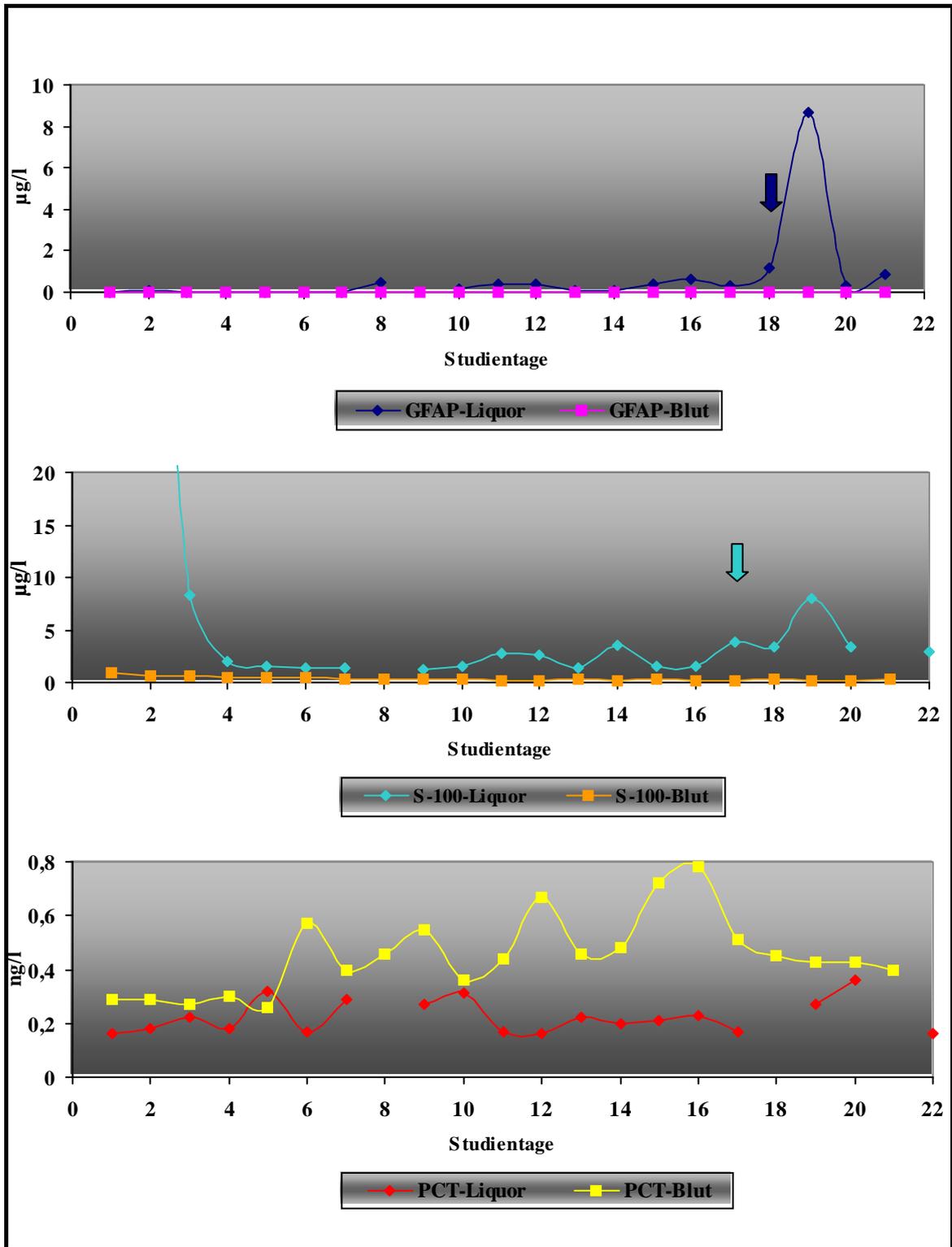


Abb. 9 Fall 23: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

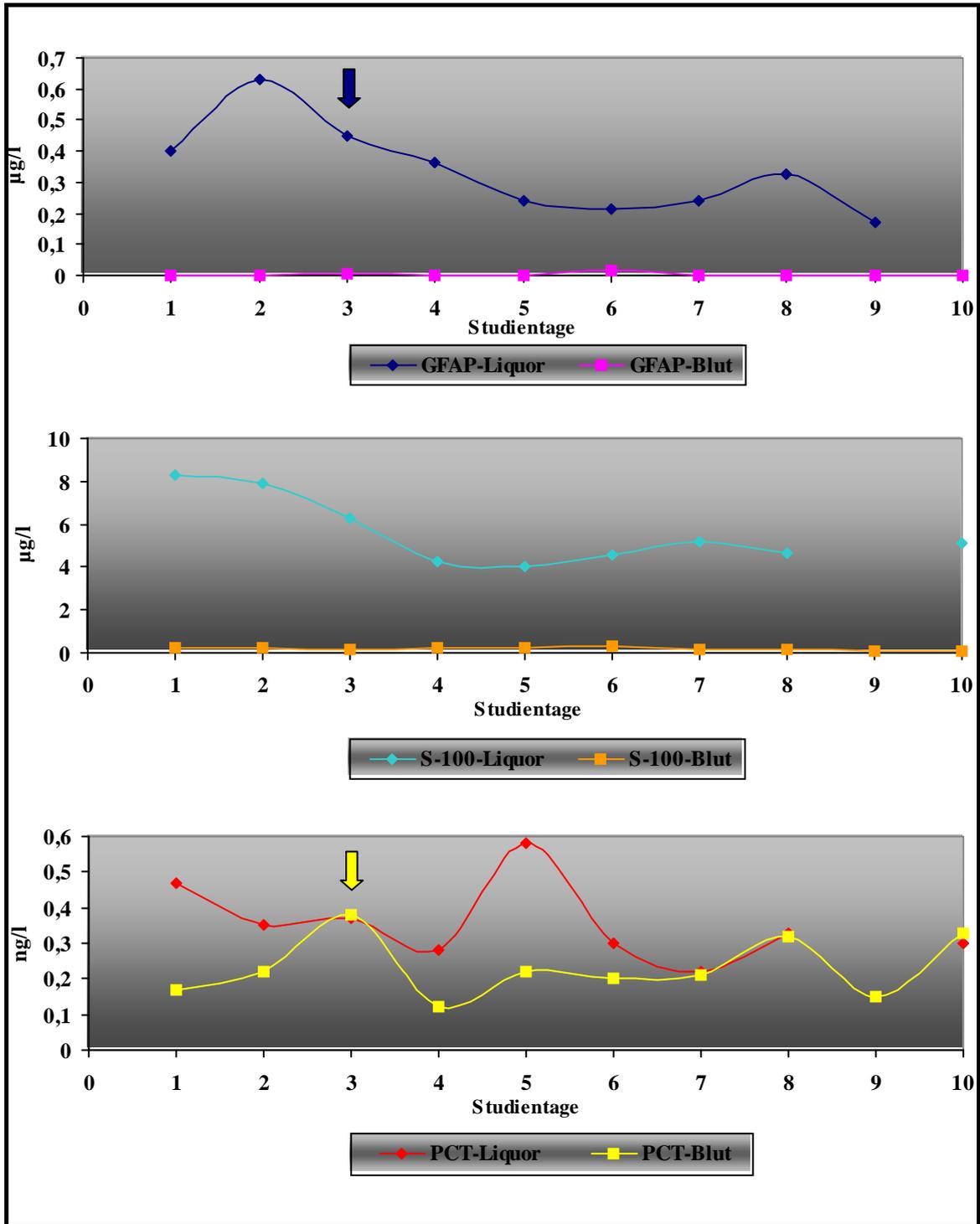


Abb. 10 Fall 24: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

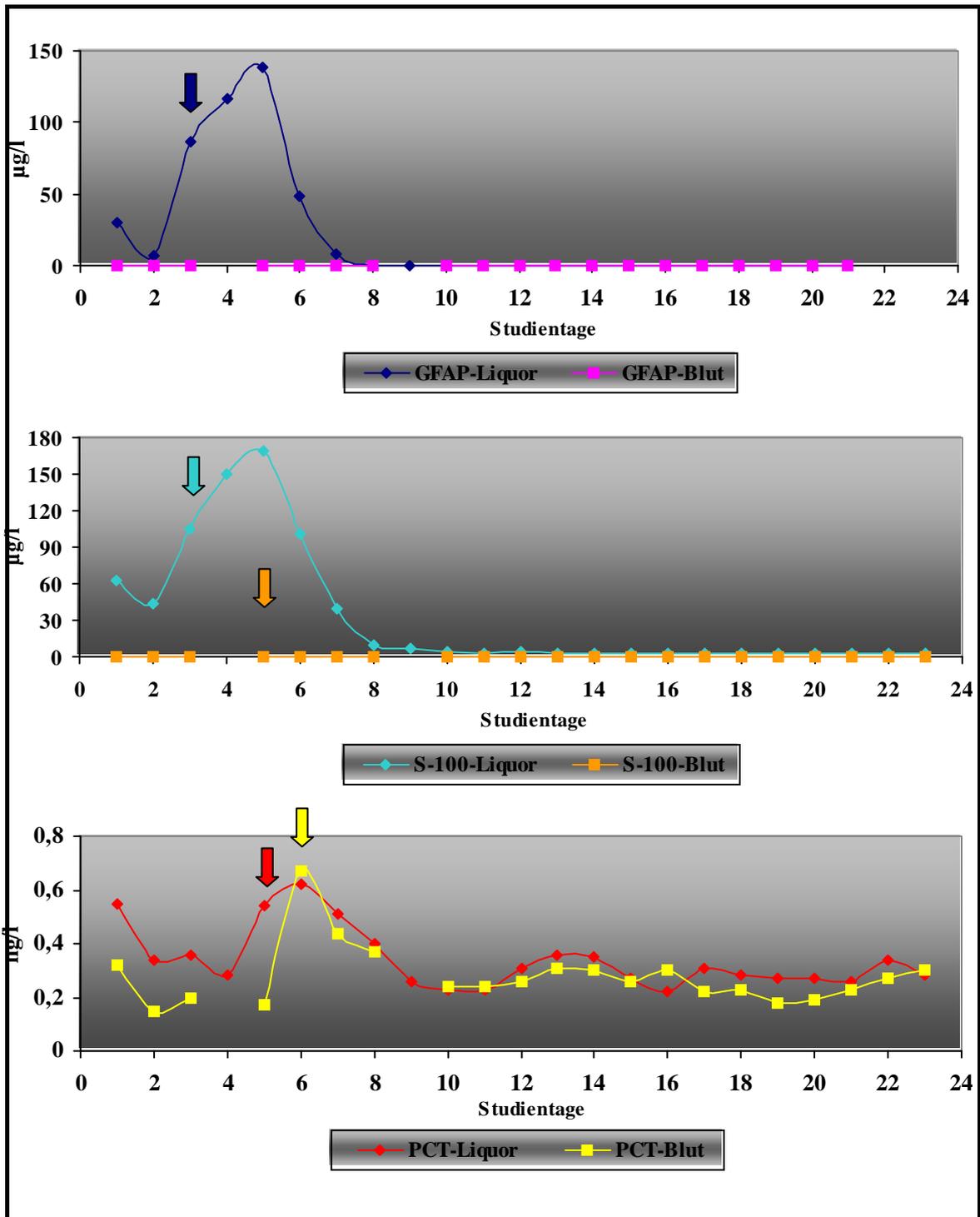


Abb. 11 Fall 27: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

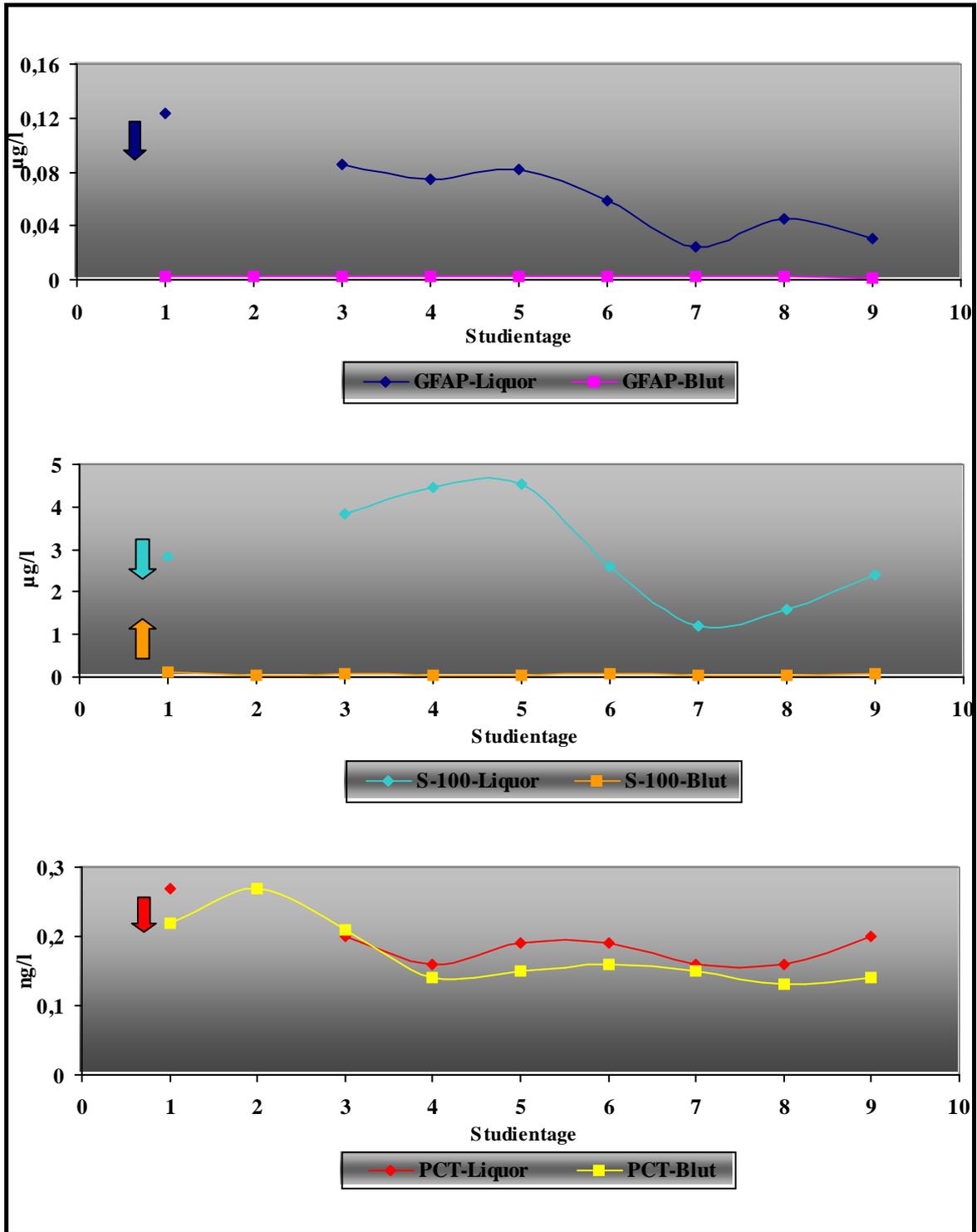


Abb. 12 Fall 35: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

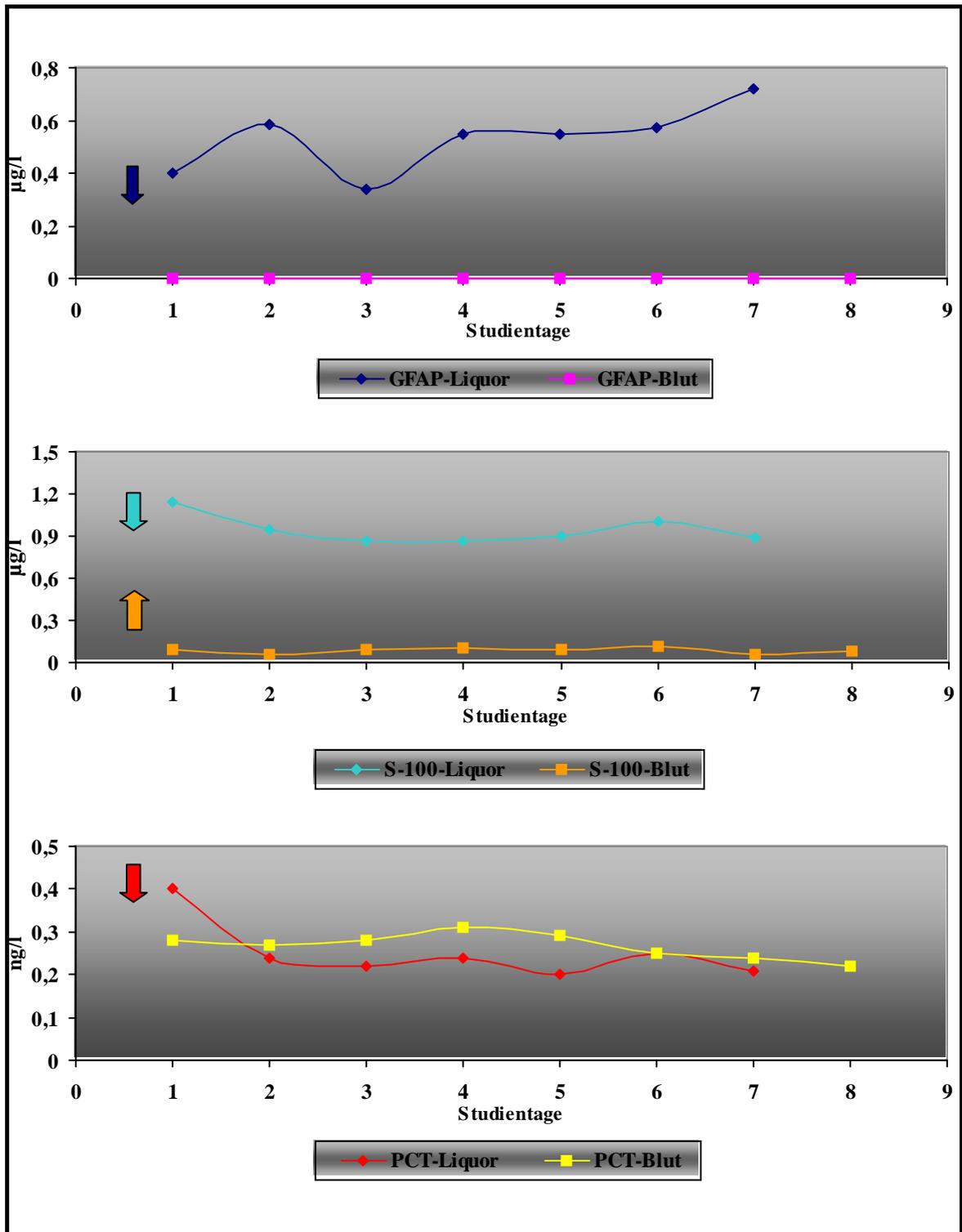


Abb. 13 Fall 38: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

3.3.13 Patient 13

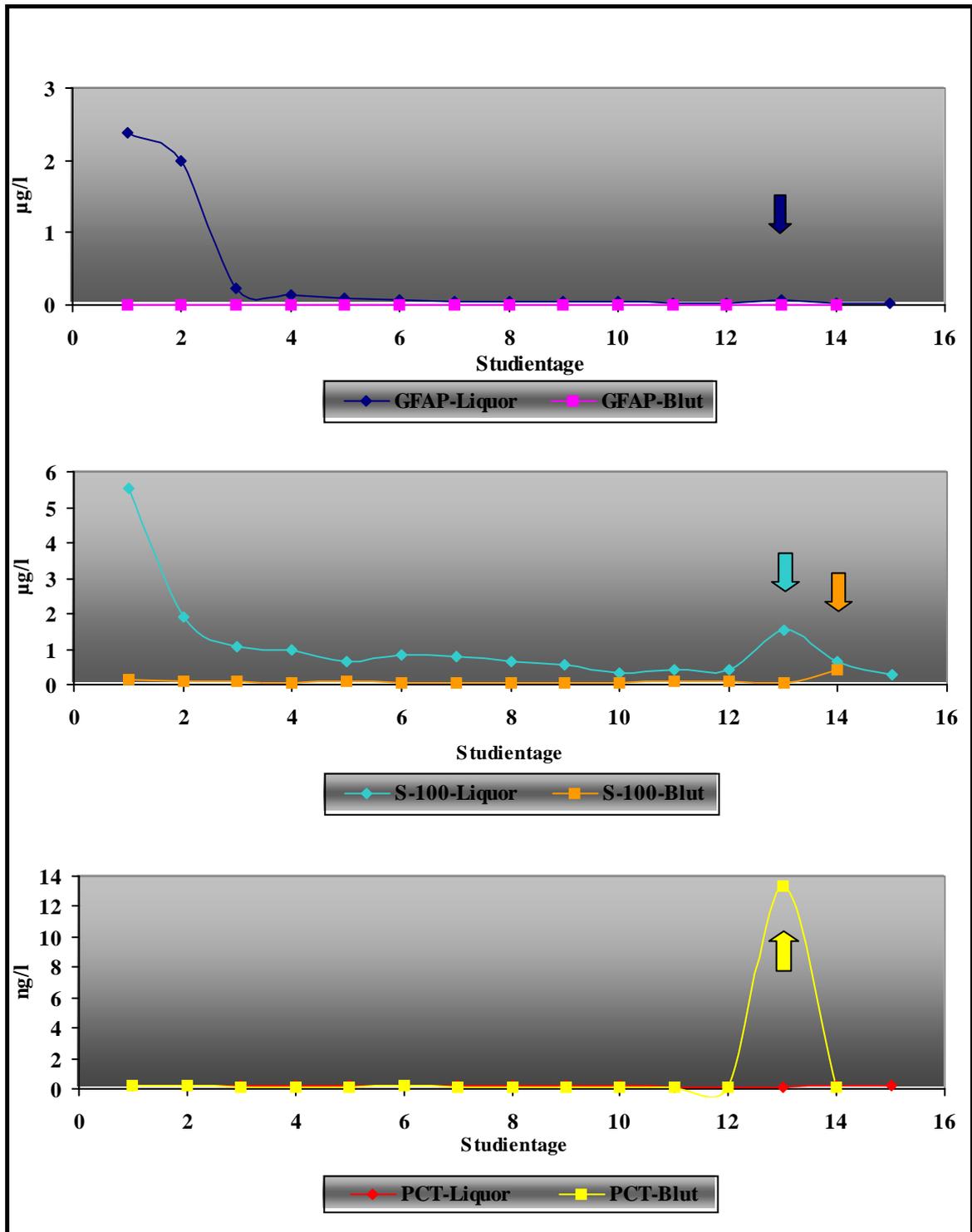


Abb. 14 Fall 44: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Am **12.-14. Studientag** wird ein Meningitis-Nachweis erbracht (Abb. 14). Bis auf die maximalen Werte initial steht der Nachweis in Relation mit den Anstiegen von >50% bei den Destruktionsmarkern. Auch das PCT-Blut stimmt hier mit überein. Beim PCT-Liquor können diese Anstiege nicht nachgewiesen werden.

3.3.14 Patient 14

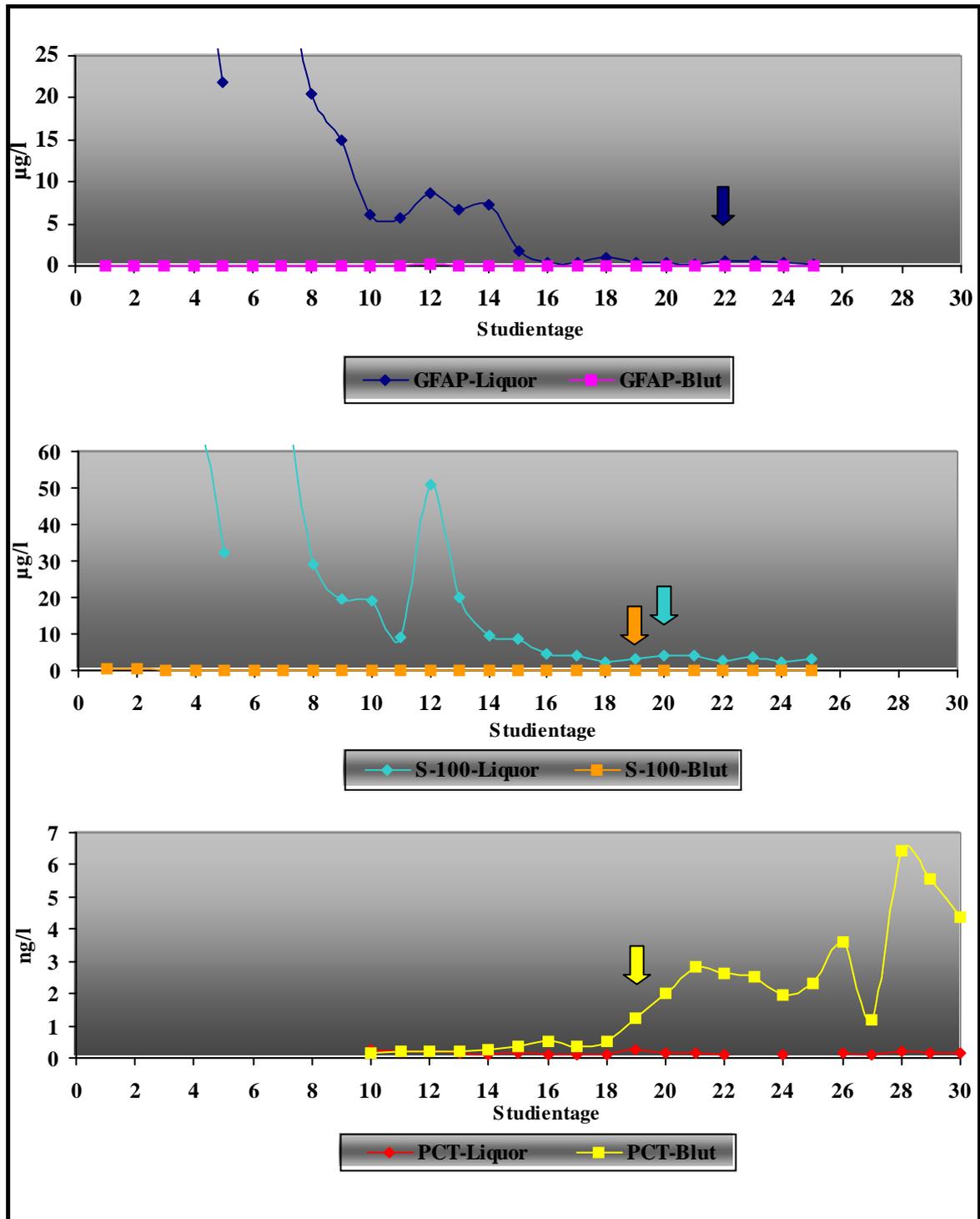


Abb. 15 Fall 52: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Am **20. und 21. Studientag** zeigt sich eine Meningitis im Liquorzellbild, jedoch ist nur am **15. Studientag** ein Erregernachweis möglich. Trotz mehrfacher Anstiege kommen nur die Destruktionsmarker und das PCT-Blut diesem Bereich sehr nahe. Das PCT-Liquor ermöglicht keine zusammenhängende Aussagen (Abb. 15).

3.3.15 Patient 15

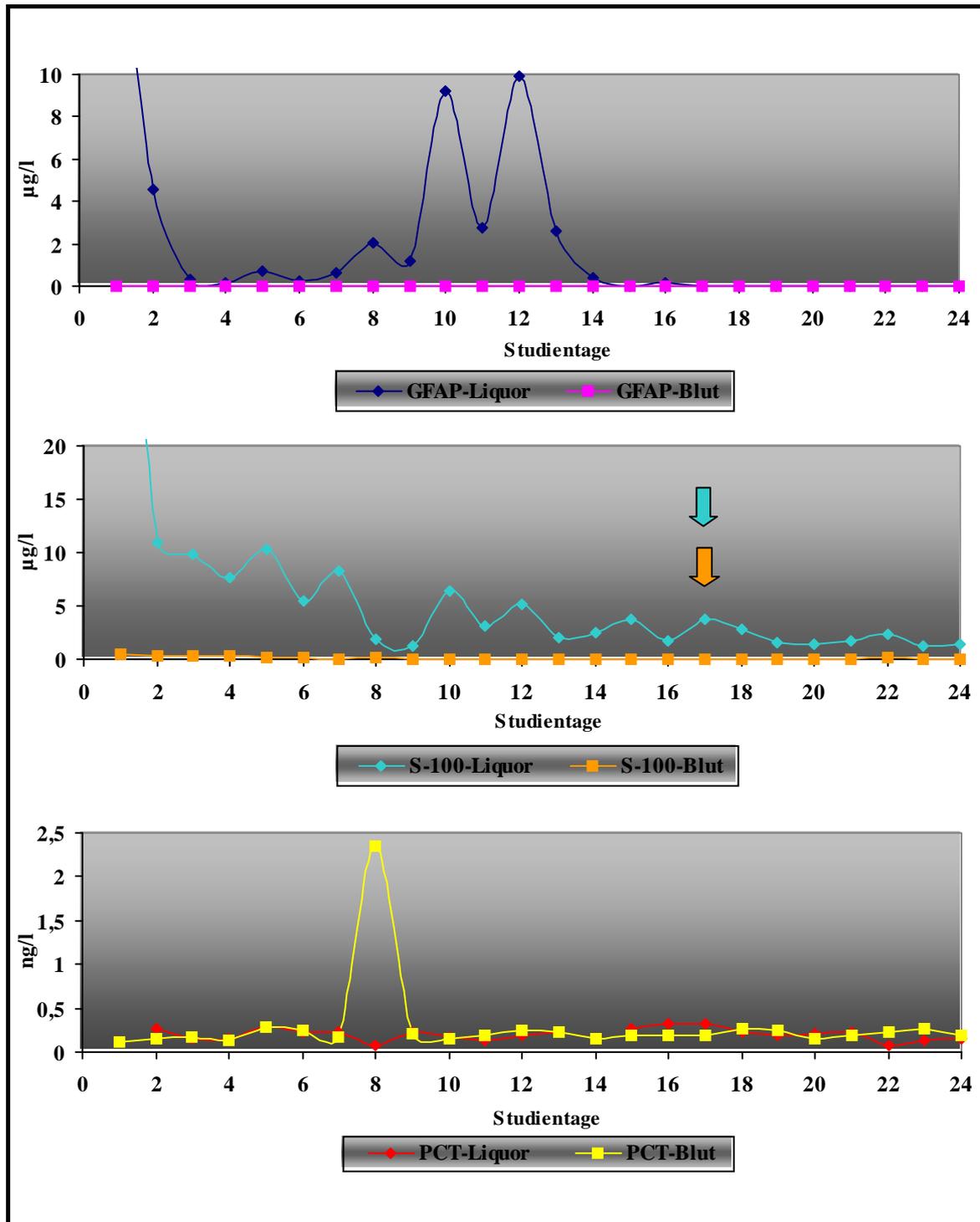


Abb. 16 Fall 53: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf in Liquor und Blut

Am **17. und 18. Studientag** findet sich im Liquor eine akute exsudative Phase, jedoch ohne Erregernachweis. Weder der Entzündungsmarker noch das GFAP können im Rahmen des Meningitis-Nachweises relevante Anstiege verzeichnen (Abb. 16). Der S-100-Anstieg hingegen fällt in diese Phase.

3.3.16 Patient 16

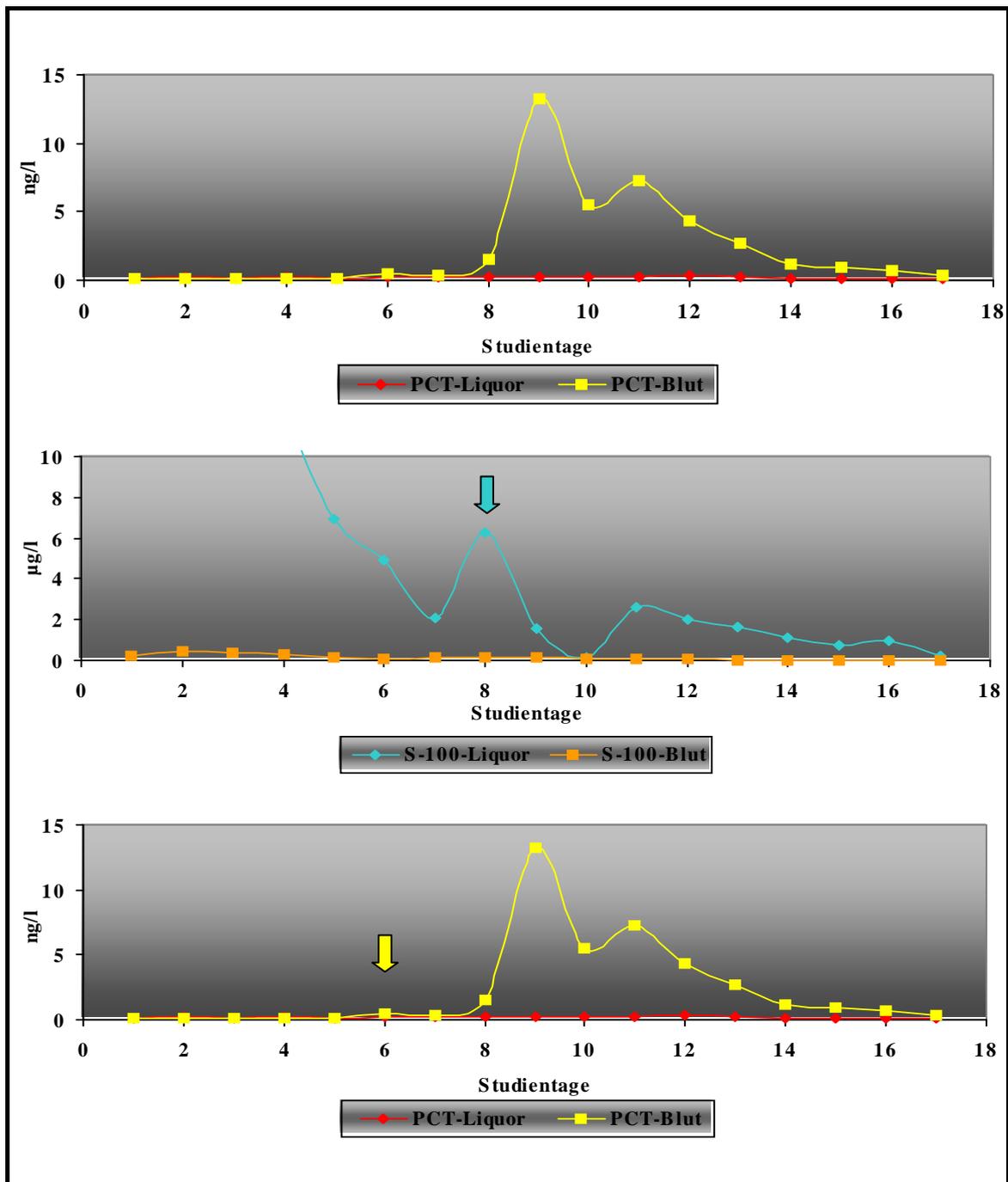


Abb. 17 Fall 62: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Vom **5.-8. Studientag** an bestätigt sich eine Meningitis. Dieses führt beim S-100-Blut und beim PCT-Blut zu Anstiegen der Messwerte über 50%. Bei den anderen Markern ergibt sich kein sicherer Zusammenhang (Abb. 17).

3.3.17 Patient 17

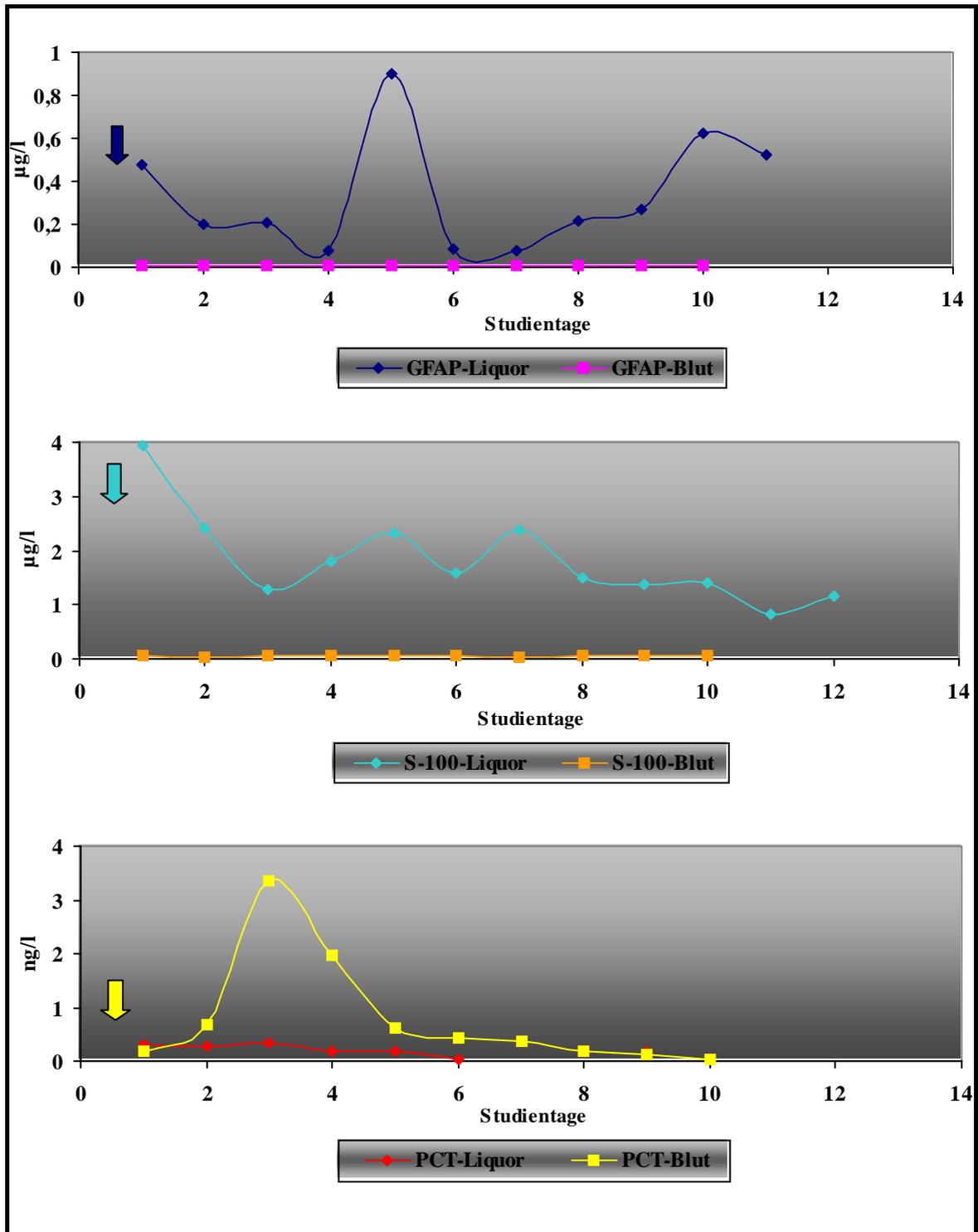


Abb. 18 Fall 69: GFAP-, S-100- und PCT-Verlauf im Liquor und Blut

Ein Meningitisnachweis ohne Bestätigung eines Erregers konnte vom **1.-8. Studientag** erfolgen. Dem entsprechend zeigen die Messwerte jeweils im Liquor eine initiale Meningitis an. Im Blut hingegen kommt es nur beim PCT am 2. Tag zum Anstieg von >50% (Abb. 18).

3.4 Vergleich der GFAP-Level im Blut und Liquor mit den jeweiligen S-100- und PCT-Level

Durch die Gegenüberstellung der GFAP-, S-100- und PCT-Werte an den Tagen des Meningitisnachweises sowie in ihrem Verlauf im Rahmen der Meßwertanstiege war es möglich, einen Vergleich zu ziehen und die Bedeutung der einzelnen Parameter zu spezifizieren.

Fall-Nr.	GFAP in µg/l (Referenzwert 0.01 – 12.5 µg/l)				S-100 in µg/l (Referenzwert 0.02 – 12.5 µg/l) Normalwerte: 1.43+/-0.49µg/l 0.052 µg/l						PCT in ng/ml (Referenzwert <0.1 ng/ml)					
	X	Liquor		Blut	X	Liquor		X	Blut		X	Liquor		X	Blut	
		m	y			m	y		m	y		m	y		m	y
	1	5	0.03	0.02	∅	3	0.56	0.25	∅	∅	∅	0	0.38	0.1	∅	∅
2	0	81.5	42.7	∅	0	75	56.4	3	0.1	0.05	∅	∅	∅	2	0.4	0.13
9	Init	13.4	∅	∅	Init	8.6	∅	Init	0.1	∅	1	0.66	0.3	0	25?	24.7
11	?	>125	80?	∅	?	>12	362?	?	7.54	5.93	?	0.37	0.0	?	0.6	0.38
17	0	2.11	0.99	∅	0	33	24.5	∅	∅	∅	2	0.49	0.4	∅	∅	∅
20	Init	0.31	∅	∅	Init	3.66	∅	Init	0.12	∅	Init	0.38	∅	Init	0.6	∅
21	0	10.5	0.12	∅	2	10	2.9		0.11	0.05	0	0.44	0.1	0	0.3	0.19
					-1	10	0						7		1	
	0	92.6	92.2		0	12	7.2	0	0.1	0.02						
	3	15.1	12.1		0	6.1	3.6		0.1	9						
23	1	1.14	0.79	∅	0	3.87	2.4	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
24	0	0.45	0.11	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	0	0.3	0.16
															8	
27	-2	86.4	80	∅	-2	104	60	0	0.24	∅	0	0.54	0.2	1	0.6	0.5
													6		7	
35	Init	0.12	∅	∅	Init	2.83	∅	Init	0.1	∅	Init	0.27	∅	∅	∅	∅
38	Init	0.4	∅	∅	Init	1.14	∅	Init	0.09	∅	Init	0.4	∅	∅	∅	∅

44	0	0.06	0.04	∅	0	1.52	1.08	1	0.41	0.37	∅	∅	∅	0	13.4	13.26
52	2	0.67	0.39	∅	0	3.97	1.6	-1	0.06	0.03	∅	∅	∅	-1	1.21	0.69
53	∅	∅	∅	∅	0	3.72	2.04	0	0.08	0.05	∅	∅	∅	∅	∅	∅
62	∅	∅	∅	∅	2	6.25	4.17	∅	∅	∅	∅	∅	∅	0	0.48	0.38
69	Init	0.48	∅	∅	Init	3.95	∅	∅	∅	∅	Init	0.3	∅	1	0.69	0.49

Tab. 8 Messwerte der Patienten für GFAP, S-100 und PCT im Liquor und Blut. Angezeigt werden unter anderem die Messwerte beim Meningitisnachweis durch das Liquorlabor (m), der absolute Anstieg des Messwertes im Rahmen dieses Nachweises (y) sowie die nicht erhältlichen Werte durch fehlende oder aussageleere Messungen (∅). Grün- und lila-markierte Felder zeigen Übereinstimmungen der Messwertveränderungen bezüglich der nachgewiesenen Meningitis. Der X-Wert steht für folgendes:

- „INIT“ : eine Meningitis liegt von Anfang an vor (Primärinfektion)
- „-X“ : die Meningitis beginnt x-Tage vor dem Nachweis durch das Liquorlabor und dem mikrobiologischen Nachweis
- „+X“ : die Meningitis beginnt x-Tage nach dem Nachweis durch das Liquorlabor und dem mikrobiologischen Nachweis
- „0“ : die Meningitis beginnt ab dem Nachweis durch das Liquorlabor und dem mikrobiologischen Nachweis

Tab.8 gibt einen Überblick über die Messwerte für GFAP, S-100 sowie PCT im Liquor und Blut bei den Meningitispatienten. Näheres ist der Legende zur Tabelle zu entnehmen. Fasst man die Ergebnisse zusammen, können hinsichtlich der 17 Patienten folgende Schlussfolgerungen unter Berücksichtigung der Zeitverzögerung des Nachweises, angegeben als Mittelwert und Standardabweichung, gezogen werden.

- **GFAP im Liquor:** bei 14 von 17 Patienten wird eine Meningitis angezeigt. Davon gehen 5 Patienten (Fall-Nr. 9, 20, 35, 38 und 69) mit einer initialen Meningitis, ein Patient (Fall-Nr. 27) mit einem Meningitisnachweis zwei Tage zuvor, 5 Patienten (Fall-Nr. 2, 17, 21, 24 und 44) mit einem Nachweis am Tag 0, ein Patient (Fall-Nr. 23) mit einem Nachweis am Tag 1 danach, ein Patient (Fall-Nr. 52) am Tag 2 danach und

ein Patient (Fall-Nr. 1) am Tag 5 danach in die Studie ein. Folglich liegt eine Zeitverzögerung von 0.7 ± 1.819 Tagen vor.

- **GFAP im Blut:** es ist kein Zusammenhang zwischen GFAP-Werten im Blut und einem Auftreten einer Meningitis zu erkennen.
- **S-100 im Liquor:** bei 15 von 17 Patienten wird eine Meningitis angezeigt. Von diesen erleiden 5 (Fall-Nr. 9, 20, 35, 38, 69) eine initiale Meningitis. Der Nachweis einer Meningitis erfolgt bei einem Patienten (Fall-Nr. 27) zwei Tage zuvor, bei 6 Patienten (Fall-Nr. 2, 17, 23, 44, 52 und 53) am Tag 0, bei zwei Patienten (Fall-Nr. 21 und 62) zwei Tage danach und bei einem Patient (Fall-Nr.1) drei Tage danach. Die Zeitverzögerung liegt hierbei bei 4 ± 3.902 Tagen.
- **S-100 im Blut:** bei 10 von 17 Patienten wird eine Meningitis angezeigt. Dieses verteilt sich auf 4 Patienten (Fall-Nr. 9, 20, 35, 38) mit einer initialen Meningitis sowie einen Patienten (Fall-Nr. 52) mit einem Meningitisnachweis einen Tag zuvor, drei Patienten (Fall-Nr. 21, 27, 53) am Tag 0, einen Patient (Fall-Nr. 44) ein Tag danach und einen Patient (Fall-Nr. 2) drei Tage danach. Ein Patient (Fall-Nr. 69) mit einer initialen Meningitis ist im Rahmen dieser Messung als initial negativ anzusehen. Somit zeigt sich eine Zeitverzögerung von 4 ± 3.674 Tagen.
- **PCT im Liquor:** bei 9 von 17 Patienten wird eine Meningitis angezeigt. Davon wurden 4 Patienten (Fall-Nr. 20, 35, 38, 69) mit einer initialen Meningitis in die Studie aufgenommen, ebenso drei Patienten (Fall-Nr. 1, 21, 27) am Tag 0, ein Patient (Fall-Nr. 9) am ersten Tag danach und ein Patient (Fall-Nr. 17) am zweiten Tag danach. Ein Patient (Fall-Nr. 9) mit einer initialen Meningitis ist im Rahmen dieser Messung als initial negativ anzusehen. Die Zeitverzögerung des Nachweises liegt hier bei insgesamt 0.6 ± 0.8 Tagen.
- **PCT im Blut:** bei 10 von 17 Patienten wird eine Meningitis angezeigt. Diese zeigt sich bei einem Patienten (Fall-Nr. 20) mit einer initialen Meningitis, bei einem Patienten (Fall-Nr. 52) mit einem Meningitisnachweis ein Tag zuvor, bei 5 Patienten (Fall-Nr. 9, 21, 24, 44, 62) am Tag 0, bei zwei Patienten (Fall-Nr. 27, 69) ein Tag danach und bei einem Patienten (Fall-Nr. 2) zwei Tage danach. Zwei Patienten (Fall-Nr. 35, 38) mit einer initialen Meningitis sind im Rahmen dieser Messung als initial negativ anzusehen. Die Zeitverzögerung des Nachweises umfasst hier 3 ± 2.788 Tage.

Innerhalb der Patientengruppe konnten für die S-100-Messung im Blut bei drei Patienten während der Beobachtungszeit mehrfache Messwertanstiege über 50% beobachtet werden.

Bei diesen Patienten lag ein schwerer letaler Verlauf vor. Auch bei der S-100-Messung im Liquor ließ sich diese Beobachtung feststellen, insbesondere bei der Patientin, bei der mehrere Meningitiden auftraten. Bei den anderen Markern wurden ähnliche Beobachtungen gemacht.

In Abb. 19 sind die Messwerte für die einzelnen Patienten mit Meningitis übersichtshalber graphisch dargestellt. Die Abbildung korreliert mit Tab. 8. Die dargestellten Messwerte beziehen sich jeweils auf den Tag des Meningitismachweises. Es sind sowohl die Liquor- als auch die Blutwerte für GFAP, S-100 und PCT beschrieben.

In Abb. 20 wird der Anstieg der Messwerte für die genannten Parameter unter Berücksichtigung von Mittelwert und Standardabweichung als Absolutwert (Abb. 20a) bzw. prozentuale Steigerung (Abb. 20b) dargestellt.

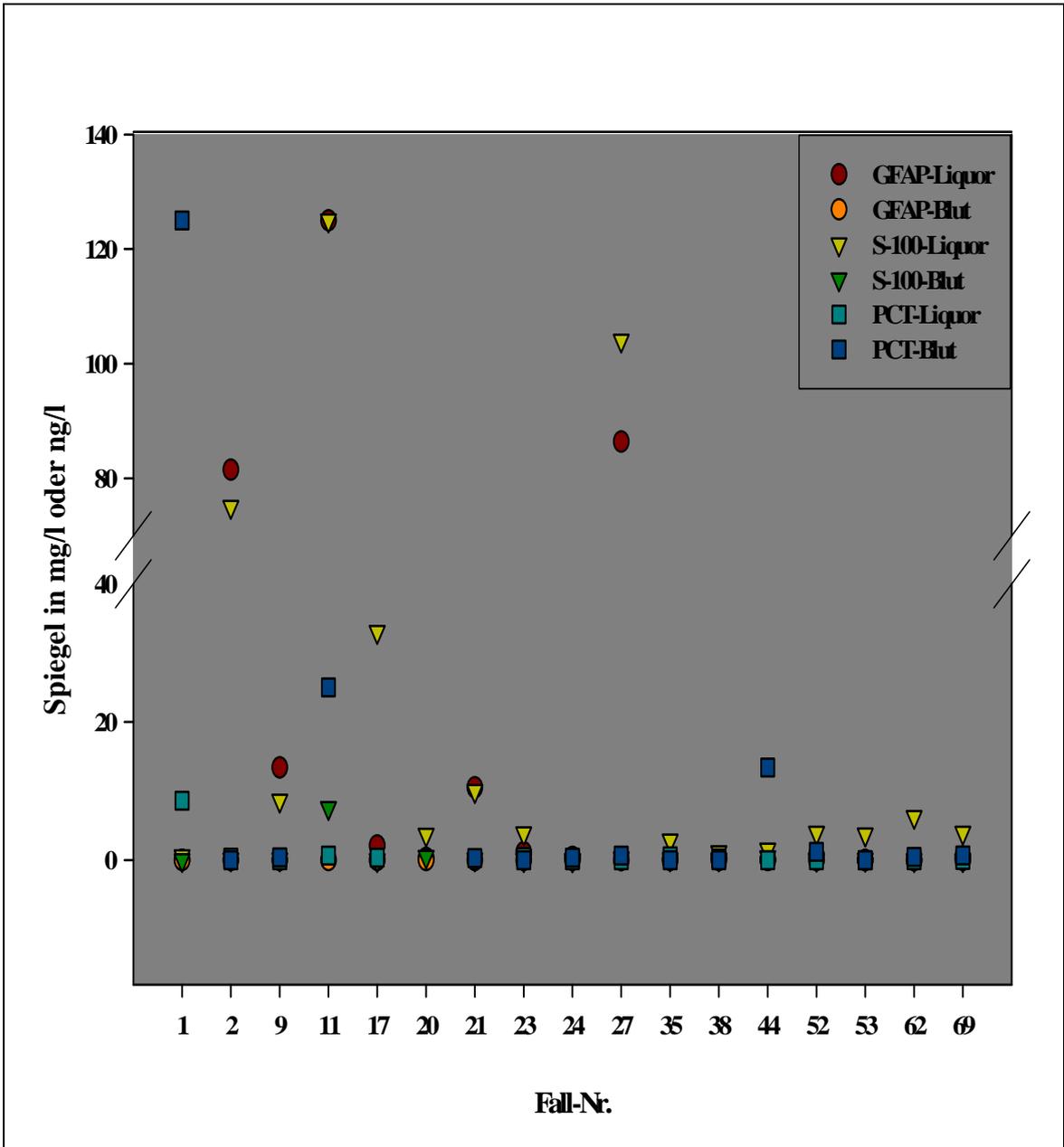


Abb. 19 Messwerte für GFAP, S-100 und PCT im Blut und Liquor zum Zeitpunkt der Meningitis (in $\mu\text{g/l}$ bis auf die PCT- Messwerte, die in ng/l angegeben werden).

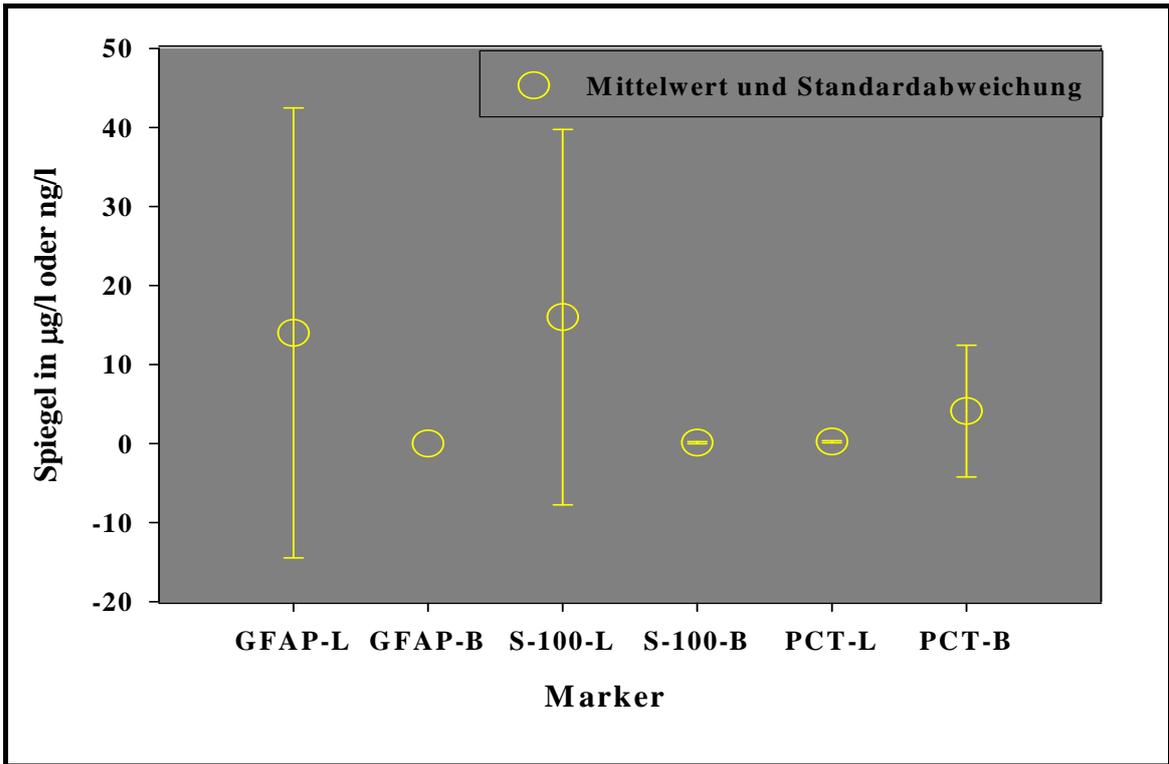


Abb. 20a Anstieg der Messwerte bei Nachweis einer Meningitis in absoluten Werten (GFAP und S-100 - Werte werden in $\mu\text{g/l}$, die PCT- Werte in ng/l angegeben). Die Spiegel im Liquor (L) und Blut (B) werden in Form von Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

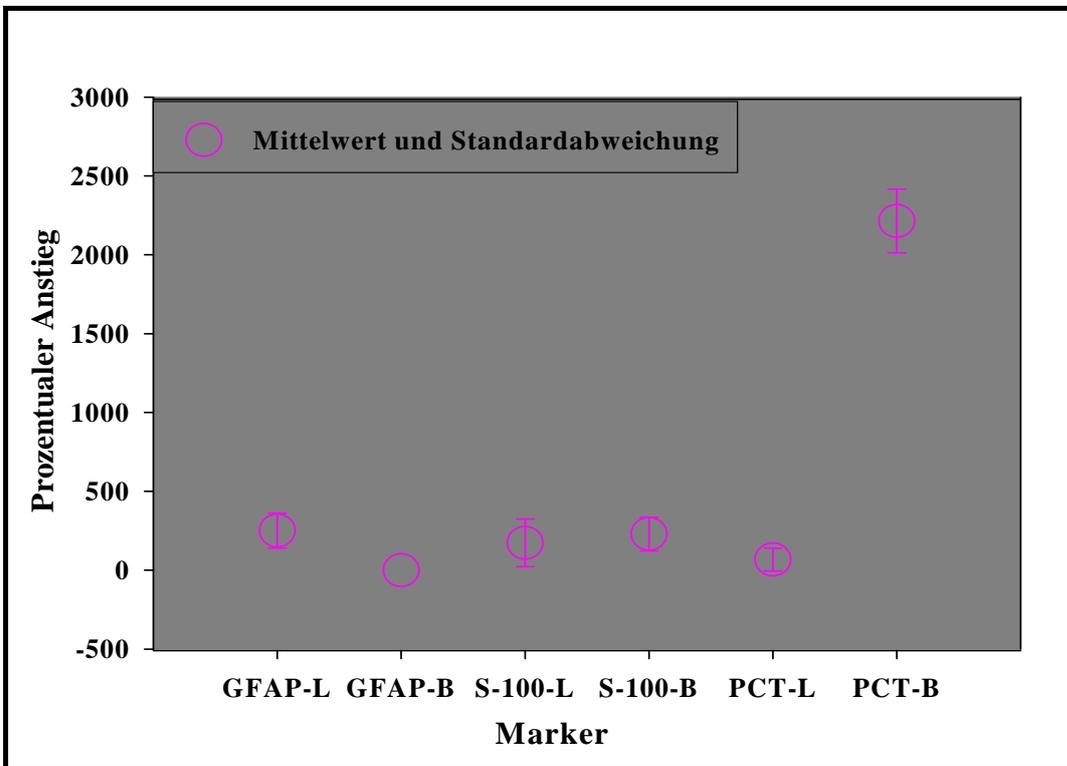


Abb. 20b Anstieg der Messwerte (GFAP, S-100 und PCT im Liquor (L) und im Blut (B))

bei Nachweis einer in Prozent. Dieses wird als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

4 Diskussion

4.1 Morbidität und Mortalität bei Meningitis

Auch heute noch gibt es trotz zunehmender technischer Fortschritte und wissenschaftlicher Erkenntnisse erworbene Erkrankungen - speziell Infektionen - im Bereich der Intensivmedizin, die laut *Arunodaya* besonders im Rahmen der neurologischen und neurochirurgischen Intensivtherapie mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität einhergehen und somit auch zu einem erheblichen Kostenfaktor werden können (*Arunodaya*, 2001). Durch entsprechende Maßnahmen, wie die Einhaltung von Hygienestandards, kann dieses zum Teil vermindert oder vermieden werden. Da eine nosokomiale Infektion nicht vollständig zu verhindern ist, bedarf es einer frühzeitigen Erkennung der zum Teil lebensbedrohlichen Infektionen insbesondere bei bereits immungeschwächten Patienten. Im neurochirurgischen Intensivbereich liegt hierbei unter anderem ein Augenmerk auf der lebensbedrohlichen akuten Meningitis, insbesondere dann, wenn diese als Folge einer therapeutisch notwendigen Liquorableitung entsteht. Hierzu konnten *Alleyne* et al. in einer retrospektiven Studie und gleichzeitigem Literaturreview einen Zusammenhang darstellen (*Alleyne* et al., 2000). In dieser Studie wurden die Krankenakten von insgesamt 308 Patienten, die eine externe Ventrikeldrainage (EVD) für drei oder mehr Tage angelegt bekamen, ausgewertet. Patienten, die eine EVD zum Ersatz bei einer Shuntinfektion oder bei einer primären Meningitis erhielten, wurden ausgeschlossen. Ein Wechsel der Katheter fand nur bei einer Dysfunktion statt. Der Liquor wurde zweimal pro Woche mikrobiologisch untersucht. Die Patienten wurden in zwei Gruppen unterteilt. Die eine Gruppe, die aus 209 Patienten bestand, erhielt während der Liegedauer des Katheters eine prophylaktische Antibiose. Die andere Gruppe mit 99 Patienten wurde nur perioperativ prophylaktisch mit dem gleichen Antibiotikum therapiert. Der prozentuale Anteil einer Ventrikulitis betrug insgesamt 3.9%. Die Infektionsrate in beiden Gruppen war jedoch nahezu identisch und somit konnte in dieser Studie der Nutzen einer prophylaktischen Antibiotika-Therapie nicht belegt werden. Der prophylaktische Einsatz von hochdosierten Antibiotika führte in der randomisierten Studie von *Poon* et al. dagegen zwar zur Reduktion der schwerwiegenden Ventrikulkatheter-assoziierten

Infektionen, jedoch traten vermehrt Infektionen mit resistenten und opportunistischen Erregern auf (*Poon et al.*, 1998). In dieser Studie wurden 228 Patienten ebenfalls in zwei Gruppen unterteilt und auch hier erfolgte die prophylaktische Gabe einer Antibiose entweder perioperativ (Gruppe 1) oder während der Liegedauer des Ventrikelkatheters (Gruppe 2). Im letzten Fall wurde die perioperative Therapie durch ein zusätzliches Antibiotikum ergänzt. Nach 5 Tagen wurde die EVD gewechselt, wenn eine prolongierte Liquordrainage notwendig war. Die Infektionsrate in Gruppe 1 betrug 11%, in Gruppe 2 3%. Dagegen lag die Mortalitätsrate bei Ventrikelkatheter-assoziierten Infektionen in Gruppe 1 bei nur 41% und in Gruppe 2 bei 66%. Zum anderen wurde ein Augenmerk auf die resistenten oder opportunistischen Erreger gelegt. In Gruppe 1 überwogen *Staphylococcus aureus* und *albus*, *E. coli* sowie Klebsiellen, in Gruppe 2 wurden MRSA und *Candida albicans* nachgewiesen. Dieses Ergebnis stellt aus ökonomischer und infektiologischer Sicht eine prophylaktische Antibiotika-Therapie in Frage. Aufgrund dessen ist es umso notwendiger, eine lebensbedrohliche Infektion frühzeitig erkennen und therapieren zu können.

Zingale et al. beschrieben in ihrer Studie unter Einschluß von Patienten mit einer liegenden EVD eine hohe Morbiditäts- und Mortalitätsrate (*Zingale et al.*, 1999). In dieser retrospektiven Studie wurden die Krankenakten von 143 Patienten ausgewertet. Fünfzehn Patienten bekamen zur Hydrozephalus-Therapie eine EVD mit längerer Liegedauer implantiert. Die Mortalitätsrate betrug 26% und die Morbiditätsrate lag bei 13%. *Federico et al.* untersuchten 3580 Patientenverläufe nach einem operativen neurochirurgischen Eingriff in dem Zeitraum von 1989 bis 1997. Zweiundfünfzig Patienten entwickelten nach dem Eingriff eine Meningitis, diese entspricht einer Infektionsrate von 1.4%. Dabei betrug die operative Infektionsrate 0.8% bei Kraniotomien (Entfernung eines Knochendeckels) und 2.6% bei Implantationen eines VP-Shunts oder einer externen Ventrikeldrainage. Alle Patienten erhielten eine perioperative Antibiotika-Prophylaxe. Die Mortalitätsrate betrug 8%, wobei in dieser Studie Patienten mit vorbestehender Multimorbidität ein erhöhtes Risiko hatten, an einem neurochirurgischen Eingriff zu sterben (*Federico et al.*, 2001). *Chadwick* und *Lever* zeigten in ihrer retrospektiven Studie, dass bei Patienten, die im Zeitraum von 1996-2001 im Addenbrooke's Hospital in Cambridge, UK, aufgenommen wurden, in 116 Fällen eine Meningitis oder Meningokokken-Sepsis nachgewiesen werden konnte. Die Mortalitätsrate aller dieser Fälle betrug 7%. Die Infektionsrate war bei Patienten mit einer bakteriellen Meningitis (12%) und bei älteren Patienten (16%) höher, lag jedoch im Rahmen einer viralen Meningitis (0%) und bei jüngeren Patienten (1%)

wesentlich niedriger. Bei älteren Patienten mit einer bakteriellen Meningitis betrug die Mortalitätsrate 21% und die gesamte Mortalität bei einer Meningokokken-Infektion 6%. Langzeitfolgen in Form von neurologischen Ausfällen konnten bei Patienten mit einer bakteriellen Meningitis (14%) und bei älteren Patienten (16%) beobachtet werden. Hingegen traten nur bei 9% der Patienten mit einer Meningokokken-Infektion neurologische Komplikationen auf (*Chadwick und Lever, 2002*).

Die Diagnostik der Meningitis im Frühstadium gestaltet sich häufig sehr schwierig, da ein Nachweis dieser Erkrankung in dieser frühen Phase meist nicht möglich ist. Obwohl die Nachweismethode der Wahl die Durchführung einer Liquorpunktion ist und damit ein direkter Zugang zum infizierten Medium möglich ist, findet sich nicht immer ein eindeutiger Beweis. Ein direkter Erregernachweis erfolgt nach *Thomson und Bertram* in 50% der Fälle, ein kultureller Nachweis gelingt nur in 60-70% (*Thomson und Bertram, 2001*). Die weiteren möglichen diagnostischen Maßnahmen sind zu unspezifisch, wobei eine Maskierung des Nachweises aufgrund anderer Infektionen, die während des intensivmedizinischen Aufenthaltes auftreten können, denkbar ist. So ist es von erheblicher klinischer und ökonomischer Bedeutung, weitere diagnostische Parameter zu etablieren, um eine Senkung der zu hohen Morbiditäts- und Mortalitätsraten und damit eine Verbesserung der Prognose zu erreichen.

4.2 GFAP bei Meningitis

Die mit dem Auftreten einer Meningitis verbundene erhöhte Morbidität und Mortalität mit ihren Folgen lässt nun die Frage aufkommen, ob durch einen spezifischen und kostengünstigen Marker eine Früherkennung der Meningitis und eine rechtzeitige Einleitung der entsprechenden Therapie möglich ist. Dieser Marker könnte z.B. in Form von zerebralen und nicht-zerebralen Proteinen vorliegen, die im Blut und/ oder Liquor nachweisbar sind. Aufgrund der vorliegenden Daten wurde die Auswahl der Proteine auf die Neuronenspezifische Enolase, das CRP, das Procalcitonin, das S-100-Protein sowie auf das saure Gliafaserprotein beschränkt. Es sollte nun in dieser Studie untersucht werden, ob durch die genannten Marker eine frühzeitigere Erkennung einer Meningitis als Folge einer Drainageanlage möglich ist. Nach einer aufgrund eines Hydrocephalus notwendigen Anlage einer Ableitung in Form einer externen Ventrikeldrainage, eines ventrikuloperitonealen Shunts oder einer Lumbaldrainage bedarf es einer engmaschigen Kontrolle des Liquors und des Blutes. Die von *Prabhu et al.*, *Zingale et al.* und *Federico et al.*

beschriebenen unterschiedlichen Infektionsraten sind hierbei zu überprüfen (*Prabhu et al., 1999; Zingale et al., 1999; Federico et al., 2001*). Je nach Drainagenart und der jeweiligen Lokalisation unterscheidet sich auch das Erregerspektrum. Als potentieller ZNS-Marker einer Meningitis könnte das GFAP (saures Gliafaserprotein) dienen. Dieses ist ein Polypeptid und gehört zu den Gliazellfilamenten, die das Zytoskelett formen, und ist hauptsächlich in den Astrozyten anzutreffen. Trotz seiner bisher unbekanntenen Kinetik erwies sich die Messung des GFAP im Liquor als brauchbarer spezifischer Indikator bei ZNS-Pathologien. *Eng et al.* geben in ihrer Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2000 einen guten historischen Überblick über die Entdeckung des Glia Fibrillary Acidic Protein (GFAP) und seine Bedeutung als spezifischer Marker (*Eng et al., 2000*). Nach dem Nachweis von membran- und wasserlöslichen Faserproteinen durch *Eng et al.* 1971 wurde in den folgenden Jahren versucht, das GFAP im Blut nachzuweisen und einen entsprechenden Nachweis bzw. Anstieg mit Schädigungen des Hirnparenchyms im Rahmen eines schweren Schädelhirntraumas in Beziehung zu bringen (*Eng et al., 1971*). Hierbei konnte ein Anstieg von GFAP im Blut in Korrelation zur Schwere des Hirnschadens nachgewiesen werden, nachdem erstmals 1999 ein entsprechender Assay (DELFI[®] Assay) von *Missler et al.* angewendet wurde (*Missler et al., 1999*). Der letztgenannte Assay wurde bereits von *Missler und Wiesmann* 1995 für S-100 beschrieben und als Messmethode auch in dieser Arbeit verwendet (*Missler und Wiesmann, 1995*). Er zeichnet sich während seiner Anwendung durch eine hohe Stabilität der Messsignale, durch eine hohe Empfindlichkeit mit einer dementsprechend niedrigen unteren Nachweisgrenze, durch eine geringere Anzahl von Arbeitsschritten im Vergleich zu anderen Messmethoden, durch eine hohe Sensitivität und Spezifität für GFAP und S-100 sowie durch den Verzicht auf radioaktive Substanzen aus. Weitere Studien bezüglich der GFAP-Messung folgten in den nächsten Jahren. So berichteten *Herrmann et al.* 2000 über GFAP- und S-100-Konzentrationsanstiege als Maß für einen durch einen Hirninfarkt bedingten Hirnschaden (*Herrmann et al., 2000*). *Vos et al.* hingegen stellten 2004 einen Zusammenhang zwischen dem Verlauf eines Schädelhirntraumas und der GFAP-Konzentration im Blut dar (*Vos et al., 2004*).

Auf der anderen Seite wurde die Messung des GFAP im Liquor im Zusammenhang mit hirngewebeschädigenden Erkrankungen weiter entwickelt. Die quantitativen Messreihenuntersuchungen des GFAP zeigten eine GFAP-Spiegelerhöhung im Liquor bei verschiedenen Hirnerkrankungen auf. So gelang *Lamers et al.* 2003 der Nachweis u.a von GFAP im Blut und Liquor bei akuten und chronisch progressiven neurologischen

Störungen mit Hirnschäden (*Lamers et al., 2003*). Vor dem Hintergrund der erwähnten Studien und deren Darstellung einer Korrelation zwischen einer Hirnschädigung und einem Anstieg von GFAP-Werten im Blut und im Liquor sollte diese Arbeit den Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Meningitis und einer GFAP-Erhöhung im Blut und im Liquor untersuchen. Es wurde der von *Missler und Wiesmann* 1995 entwickelte DELFIA[®] Assay angewendet (*Missler und Wiesmann, 1995*). Die hierbei durchgeführten GFAP-Messungen im Blut konnten aufgrund von zum Teil nicht messbaren Werten oder zu gering messbaren Konzentrationsanstiegen keinen sicheren Zusammenhang zwischen einem Plasmakonzentrationsanstieg im Blut und dem Nachweis einer Meningitis aufzeigen. *Lamers et al.* listeten 2003 die bis dato vorhandenen Studien auf, in denen der Nachweis von GFAP, S-100B, NSE und MBP im Liquor oder Blut erbracht werden konnte (*Lamers et al., 2003*). *Missler et al.* konnten 1999 bei 25 Patienten, *Herrmann et al.* 2000 bei 32 Patienten und *Vos et al.* 2004 bei 85 Patienten darstellen, dass eine Korrelation von GFAP-Konzentrationsanstiegen im Blut mit dem Ausmaß der Hirnschädigung, des neurologischen Status und dem zeitnahen Outcome der Patienten besteht (*Missler et al., 1999; Herrmann et al., 2000; Vos et al., 2004*). Dieses lässt sich in dieser Arbeit für eine entzündliche Erkrankung der Meningitiden nicht beweisen. Eine mögliche Erklärung wäre, dass es im Rahmen der Meningitis zwar zu einer Mitbeteiligung des gesamten Gehirnes kommt, jedoch nicht zu einer so ausgeprägten substanziellen Schädigung des Hirnparenchyms, die einen messbaren Anstieg des GFAP im Blut begründen würde.

Im Liquor hingegen findet sich ein Messwertanstieg von >50% mit Ausnahme der Werte bei einer initialen Meningitis, bei der keine Vergleichsmesswerte vorliegen. Auffällig ist die in Tabelle 7 beschriebene erhebliche Messwertbreite von 0.026 – 2270 µg/l. Folglich ist ein direkter Vergleich der einzelnen Messwerte nicht möglich. Gleichzeitig stellt sich hier die Frage, ob die Höhe der GFAP-Messwerte wirklich mit der Schwere der zerebralen Erkrankung korreliert. Eine Korrelation wird u. a. *Rosengren et al.* beschrieben (*Rosengren et al., 1994*). In dieser Studie konnte nachgewiesen werden, dass erwachsene Patienten mit einer akuten Hirngewebsdestruktion (9 Patienten mit einem Hirninfarkt, 5 Patienten mit einer viralen Enzephalitis) einen sehr hohen Level von GFAP im Liquor hatten, wohingegen bei chronischen Erkrankungen des Gehirns mit Entwicklung einer Gliose, wie beispielsweise bei der Alzheimer Erkrankung (7 Patienten) oder einer vaskulären Demenz (9 Patienten), allenfalls ein geringer Anstieg zu verzeichnen war, ebenso wie bei einer bakteriellen Meningitis (8 Patienten). Dieses steht im Gegensatz zu der hier

durchgeführten Studie, wenn man davon ausgeht, dass keine zusätzliche Enzephalitis vorliegt. Allerdings muß man einige Ergebnisse gesondert betrachten. Bei 5 der 17 Patienten dieser Studie lassen sich initiale Meningitiden definieren. Betrachtet man die hier gemessenen GFAP-Werte, so zeigt sich bei drei Patienten der erwartete Verlauf einer abklingenden Meningitis. Bei den übrigen zwei Patienten kommt es im Verlauf zu einem Messwertanstieg, der den initialen Wert übersteigt. Es stellt sich die Frage nach der Ursache dieser Beobachtung, wobei eine erneute zerebrale Infektion, eine andere Infektion, eine Reduktion des Allgemeinzustands im Rahmen des Intensivaufenthaltes oder eine zerebrale Destruktion in Folge einer Meningitis diskutiert werden müssen.

Die unterschiedlichen Messwertverläufe lassen sich auch bei den nicht-initialen Meningitiden beobachten. Hier zeigt sich bei drei von 12 Patienten keine Konzentrationserhöhung des GFAP im Liquor während des Meningitis-Nachweises. Bei 5 Patienten ist die initiale GFAP-Konzentration im Liquor im Vergleich zu den nachfolgend gemessenen Konzentrationen erhöht, obwohl noch keine Meningitis nachzuweisen war, so dass sich aus diesen Ergebnissen kein sichere zeitliche Korrelation zwischen dem Auftreten der Meningitis und dem Nachweis des GFAP im Liquor erkennen lässt. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist auch zu berücksichtigen, dass bei 14 von 17 Patienten ein entsprechender GFAP-Anstieg im Liquor nachweisbar ist. Davon umfasst die Studie 5 Patienten mit einer initialen Meningitis, einen Patient mit einem mikrobiologischen Meningitisnachweis zwei Tage zuvor, 5 Patienten mit einem Meningitisnachweis und GFAP-Anstieg am selben Tag, einen Patient mit einem Nachweis zwei Tage danach sowie einen Patienten mit einem Meningitisnachweis 5 Tage danach. Es konnte gezeigt werden, dass der GFAP-Konzentrationsanstieg im Liquor nicht immer mit dem Tag des mikrobiologischen Nachweises übereinstimmt. Der prozentuale Anstieg bezieht sich immer auf den GFAP-Anstieg an den zuvor beschriebenen Tagen vor, am oder nach dem Meningitisnachweis. Betrachtet man nun diese prozentualen Anstiege, so lässt sich auch hier ein sehr breites Spektrum von 54 – 1251% erkennen. Auch unter Berücksichtigung der Schwere der zerebralen Destruktion lässt sich keine allgemeine Tendenz erkennen, die eine konkrete Rolle des GFAP als Marker für eine Meningitis rechtfertigen würde. Selbst die Ergebnisse bei den 5 Patienten, bei denen ein GFAP-Konzentrationsanstieg am Tage des mikrobiologischen Meningitisnachweises auftrat, lassen keine allgemeingültigen Schlüsse zu. Betrachtet man die in Tab. 7 dargestellten exemplarischen Tage und die an diesen Tagen gemessenen GFAP-Konzentrationen, so fällt wiederum die Bandbreite der Messwerte auf. Dieses macht eine Vergleichbarkeit der Messwerte, der prozentualen

Anstiege und der allgemeinen Verlaufskurven unmöglich. Die Frage, ob der Nachweis von GFAP im Liquor ein geeigneter Marker zur (Früh-)erkennung einer Meningitis ist und ob sich ggf. daraus therapeutische Konsequenzen ableiten lassen, lässt sich aber aufgrund der geringen Fallzahl zum jetzigen Zeitpunkt - auch tendenziell - noch nicht abschließend beantworten.

4.3 S-100 bei Meningitis

Im Vergleich zum GFAP könnte auch das S-100 ebenfalls als Destruktionsmarker zur frühzeitigen Diagnostik von ZNS-Erkrankungen eingesetzt werden. Es handelt sich hierbei um eine Gruppe von aus zwei Untereinheiten bestehenden dimeren Proteinen, einer α -Kette und einer β -Kette sowie drei Isoformen. Zu 85% liegt das im ZNS vorhandene S-100 Protein in gelöster Form im Zytoplasma vor und befindet sich hauptsächlich in den Astrozyten. Als nützlicher Marker für eine Reihe von Glia- und Stützzellen gilt die β -Untereinheit des S-100 Proteins. Sie hemmt zum einen die GFAP-Polymerisation und fördert zum anderen die Gliazellproliferation.

Das S-100 konnte zum ersten Mal 1965 von *Moore* aus einem Rindergehirn mit Hilfe einer Komplementfixationsmethode isoliert werden (*Moore*, 1965). Bei konstant niedriger Temperatur ist das S-100 für zwei Tage im Liquor stabil. In einer Zusammenfassung der bis zu diesem Zeitpunkt erschienenen Veröffentlichungen berichteten *Mokuno et al.* 1983 über erhöhte Konzentrationsspiegel des S-100 im Liquor infolge eines Hirninfarktes, eines akuten Schubes bei Multiple Sklerose, einer Meningitis, einer Polyneuropathie und anderer neurologischer Pathologien bei insgesamt 129 Patienten (*Mokuno et al.*, 1983). Weitere Publikationen zu erhöhten S-100B-Werten im Liquor folgten (*Persson et al.*, 1988; *Hårdemark et al.*, 1989a). 1989 veröffentlichten *Hårdemark et al.* die erste systematische Untersuchung des S-100B bei Patienten, die eine Subarachnoidalblutung (SAB) erlitten hatten (*Hårdemark et al.*, 1989b). Bei 32 Patienten wurde in Liquorproben die S-100-Konzentrationen bestimmt und in Relation zu neurologischen Skalen, neuropsychologischen Tests, der nachweisbaren Blutmenge in der initialen Computertomographie und dem Outcome der Patienten gesetzt. Aus dieser Untersuchung wurde der Schluß gezogen, dass die Liquorkonzentration des S-100 während der akuten Phase nach der SAB nicht nur in Beziehung zum funktionalen Outcome, sondern auch in Korrelation zur Hirnschädigung steht, die durch eine in der Spätphase durchgeführten CT- oder SPECT-Untersuchung aufgezeigt wurde. Weitere Untersuchungen von entzündlichen

und nichtentzündlichen hirnschädigenden Erkrankungen folgten, wobei überwiegend eine Korrelation zwischen Schädigung und Anstieg des S-100-Konzentrationspiegels nachgewiesen wurde (*Sindic et al.*, 1982; *Noppe et al.*, 1986; *Aurell et al.*, 1991; *Infante et al.*, 2000).

Die erste Veröffentlichung zur Messung des S-100B Proteins im Blut erfolgte 1987 durch *Persson et al.* (*Persson et al.*, 1987). Es folgten weitere Publikationen zu diesem Thema und auch in diesen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen einer das Hirnparenchym schädigenden Erkrankung und einem Konzentrationsanstieg des S-100B im Blut festgestellt werden (*Raabe et al.*, 1999; *Naeimi et al.*, 2006; *Townend et al.*, 2006). Einen guten Überblick über die Rolle des S-100B im Rahmen einer zerebralen Schädigung geben die Übersichtsarbeiten von *Raabe et al.* und *Korfias et al.* (*Raabe et al.* 2003; *Korfias et al.*, 2006).

1997 verwendeten *Missler und Wiesmann* erstmals anstelle des seit 1996 verfügbaren kommerziellen LIA- Mat Sangtec 100® Assay (AB Sangtec Medical, Bromma, Schweden) die von ihnen 1995 beschriebene und bereits im Kapitel 4.2 erwähnte Messmethode des DELFIA® Assay zum Nachweis von S-100-Serumkonzentrationsanstiegen bei Multipler Sklerose und nach einer SAB (*Missler und Wiesmann*, 1995). In der Studie von *Missler et al.* wurden 17 Patienten mit akutem Schub einer Multiple Sklerose untersucht. Auch hier zeigte sich eine Korrelation zwischen dem klinischen Verlauf und dem Konzentrationsanstieg des S-100B. Aus diesem Ergebnis wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass sich die Plasmakonzentration des S-100 als sensitiver, jedoch unspezifischer Indikator für einen neuronalen Schaden und somit als Marker einer akuten Multiplen Sklerose eignet (*Missler et al.*, 1997). Ebenso untersuchten *Wiesmann et al.* im selben Jahr den Plasma-konzentrationsanstieg von S-100 bei 71 Patienten, die an einer SAB aufgrund eines rupturierten Aneurysmas litten. Resultat dieser Studie war, dass der S-100-Spiegel mit den frühen neurologischen Defiziten und dem absehbaren Outcome der Patienten korrelierte (*Wiesmann et al.*, 1997). Weitere Untersuchungen folgten, jedoch konnte keine Studie die Frage nach einer Korrelation von einem S-100B-Konzentrationsanstieg im Blut und im Liquor unter Verwendung des DELFIA® Assays beantworten. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte diese Frage geklärt werden.

Im Liquor konnte bei 15 unserer Patienten S-100B gemessen werden. Die Verteilung war folgendermassen: 5 Patienten hatten eine initiale Meningitis, bei einem Patient erfolgte der Anstieg im Liquor zwei Tage vor dem mikrobiologischen Meningitisnachweis, bei 6

Patienten am selben Tag, bei zwei Patienten zwei Tage danach und bei einem Patient drei Tage danach.

Auch im Blutserum konnte ein Konzentrationsanstieg des S-100B im Rahmen der Meningitis nachgewiesen werden. Dieses war bei 10 der 17 Patienten der Fall. Vier Patienten hatten primär erhöhte Messwerte als Ausdruck einer initialen Meningitis, bei einem Patient erfolgte der mikrobiologische Meningitisnachweis ein Tag zuvor, bei drei Patienten am Tag des Anstieges, bei einem Patienten ein Tag danach und bei einem Patienten drei Tage danach.

Interessant ist nun der direkte Vergleich der Destruktionsmarker im Blut und im Liquor während einer nachgewiesenen Meningitis. Dieses wird sowohl in der Tab. 8 als auch in den Abb. 2-18 veranschaulicht. Wie bereits erwähnt, lässt sich hingegen kein Zusammenhang zwischen den GFAP-Werten im Blut und dem Auftreten einer Meningitis erkennen. Auffällig ist auch, dass von den 5 Patienten, die nachweislich unter einer initialen Meningitis litten, alle auch einen GFAP- und S-100B-Konzentrationsanstieg im Liquor aufwiesen, hingegen im Blut ein S-100-Anstieg nur bei 4 Patienten zu beobachten war. Führt man diese Vergleiche unter Berücksichtigung der Abb. 2-18 fort, so lassen sich auch unterschiedlich ausgeprägte Konzentrationsanstiege bei den verschiedenen Patienten finden. Dieses könnte darauf hindeuten, dass sämtliche Begleitumstände wie beispielsweise die Drainageliegedauer, die Art der Drainage, die Schwere und Art der Grunderkrankung, der Krankheitsverlauf mit seinen Infektionen auf der Intensivstation, die Antibiotikatherapie usw., zu unterschiedlichen Messwerten führen. Auch zeigen sich im Liquor unterschiedliche Konzentrationsanstiege von S-100B und GFAP, wobei die Konzentration des S-100B meistens höher als die des GFAP ist. Die Gründe dafür bleiben spekulativ. Unterschiedliche Freisetzungsmechanismen und Abbauwege der Proteine könnten mit ursächlich sein, aber auch Messwertabweichungen könnten eine größere Rolle spielen. Zur Klärung dieser Fragen wäre eine homogenere Gruppenverteilung notwendig, was in dieser Arbeit jedoch nicht realisiert werden konnte.

4.4 PCT bei Meningitis

Dem Einsatz der Plasmacalcitonin-Bestimmung in der Diagnostik der Meningitis kommt eine gewisse Bedeutung zu und macht das PCT somit zu einem interessanten Marker. Procalcitonin stellt ein Prohormon des Calcitonins dar und ist sowohl thyroidalen als auch extrathyroidalen Ursprungs, wobei letzterem die wesentliche Bedeutung bei

schweren bakteriellen Infektionen und bei Sepsis zukommt. Es sind in der Literatur zwei Studien beschrieben, die eine hohe Sensitivität (94%) und eine hohe Spezifität (bis 100%) mit Hilfe des PCT angeben, das damit eine im Vergleich mit anderen Entzündungsmarkern hervorragende Unterscheidung zwischen einer akuten bakteriellen und einer viralen Meningitis ermöglicht. Dieses wurde sowohl für Kinder (*Gendrel et al., 1997*) als auch für Erwachsene (*Viallon et al., 1999*) nachgewiesen. *Gendrel et al.* schlossen 59 Kinder, die aufgrund einer bakteriellen oder viralen Meningitis ohne vorherige Antibiotika-Therapie im Krankenhaus aufgenommen wurden, in ihre Studie ein. Achtzehn Kinder in einem Alter von drei Monaten bis 13 Jahren litten unter einer bakteriellen Meningitis, ausgelöst durch *Neisseria meningitidis* (8 Patienten), *Haemophilus influenzae* (5 Patienten), *Streptococcus pneumoniae* (drei Patienten), *Escherichia coli* (ein Patient) und *Listeria monocytogenes* (ein Kind mit Leukämie). Einundvierzig Kinder im Alter von einem Monat bis 10 Jahren litten unter einer akuten viralen Meningitis. Von 41 viralen Kulturen waren 7 positiv (Enterovirus bei 4 Patienten, Adenovirus bei zwei Patienten, Varicella-zoster-Virus bei einem Patient und zwei Patienten mit einer Mumps- Infektion). Bei 17 weiteren Patienten konnte die reverse transcriptase-PCR die Präsenz von Enterovirus-RNA aufzeigen. Im Rahmen der Untersuchungen konnte zum einen gezeigt werden, dass zum einen Procalcitonin nicht im Liquor nachweisbar war und zum anderen, dass sich bei allen 18 Kindern mit einer akuten bakteriellen Meningitis ein erhöhter Plasma-Procalcitonin-Spiegel bestand. Dagegen wurden bei den Kindern mit einer viralen Meningitis nur sehr geringe Plasma-Procalcitonin-Spiegel nachgewiesen. Eine weitere Beobachtung in dieser Studie war der schnelle Abfall des PCT-Spiegels während einer Antibiotika-Therapie (*Gendrel et al., 1997*).

Viallon et al. schlossen hingegen 105 erwachsene Patienten, die aufgrund des Verdachts auf eine akute Meningitis im Krankenhaus aufgenommen wurden, in ihre Studie ein. Die Patientengruppe bestand aus 54 Frauen und 51 Männern mit einem Alter von 16 bis 82 Jahren. Dreiundzwanzig dieser Patienten litten unter einer akuten bakteriellen Meningitis. Davon konnten bei 13 Patienten *Streptococcus pneumoniae*, bei drei Patienten *Neisseria meningitidis* und bei 5 Patienten *Listeria monocytogenes* nachgewiesen werden. Bei 19 von 57 Patienten wurden kulturell oder mittels reverse transcriptase-PCR Herpes-Virus (6 Patienten), Adenovirus (9 Patienten), Varicella-zoster-Virus (drei Patienten) oder Masern-Virus (ein Patient) entdeckt. Der Verdacht auf eine Meningitis bestätigte sich bei 25 der untersuchten Patienten nicht. Auch in dieser Studie konnte kein PCT im Liquor nachgewiesen werden (*Viallon et al., 1999*).

Hoffmann et al. hingegen zeigten in ihrer Studie, dass von 12 Patienten mit einer Altersbreite von 16 bis 84 Jahren im Rahmen einer nachgewiesenen bakteriellen Meningitis, ausgelöst durch typische Meningitiserreger, erhöhte Serum-PCT-Konzentrationen zu verzeichnen waren. Auf der anderen Seite traten bei nosokomial induzierten bakteriellen Meningitiden nach neurochirurgischen Operationen keine PCT-Anstiege auf (*Hoffmann* et al., 2001).

Nun stellt sich also die Frage, ob PCT auch bei einer durch eine Drainagenanlage induzierten Meningitis ein wertvoller Entzündungsmarker sein kann. Hierzu gibt es unter anderem die Untersuchung von *Berger* et al., in der von erhöhten PCT-Plasmakonzentrationen berichtet wird (*Berger* et al., 2002). In diese prospektive Studie gingen 34 Patienten mit unterschiedlichen neurologischen/ neurochirurgischen Erkrankungen ein. Dabei konnte eine Serum-Procalcitonin-Spiegel-Erhöhung bei Patienten mit einer nachgewiesenen bakteriellen Ventrikulitis beobachtet werden. Die Studie zeigte jedoch auch, dass eine Erhöhung des Procalcitonin-Spiegels durch Kontamination des Liquors mit Blut aufgrund der Drainagenanlage oder auch aufgrund der Grunderkrankung auftritt und somit eine sichere Unterscheidung einer abakteriellen Reaktion von einer bakteriellen nicht möglich war (*Berger* et al., 2002). Somit muss bei neurochirurgischen Patienten differenziert werden, ob die Ursache der PCT-Erhöhung die neurochirurgische Grunderkrankung, die Drainagenanlage oder nur die Meningitis ist (*Han* et al., 2002). *Han* et al. untersuchten hierzu bei 28 Kindern, die eine externe Ventrikeldrainage benötigten, die Zusammenhänge zwischen der nachzuweisenden Liquor-Procalcitonin-Konzentration und einer schweren traumatischen Hirnverletzung (*Han* et al., 2002). Als Kontrollgruppe dienten 22 Kinder, die zum Ausschluß einer Meningitis lumbalpunktiert wurden. Die Studie zeigte eine Erhöhung des Liquor-PCT-Spiegels bei Kindern nach einer traumatischen Hirnverletzung. Wie *Gendrel* et al. bereits berichteten, ließ sich im Liquor kein PCT bei Kindern mit einer bakteriellen Meningitis nachweisen (*Gendrel* et al., 1997). In der Studie von *Han* et al. konnte innerhalb der Kontrollgruppe keine oder nur eine sehr geringe Konzentration von PCT detektiert werden. Der Anstieg des Liquor-PCT-Spiegels könnte auch in dieser Studie sowohl durch die neurochirurgische Grunderkrankung (traumatische Hirnverletzung) als auch durch die Drainageanlage erklärt werden und besitzt deshalb nur eine sehr eingeschränkte Wertigkeit.

Es stellte sich unter anderem deshalb auch die Frage, ob eine infolge einer Drainagenanlage auftretende isolierte Ventrikulitis eine eben solche PCT-Plasmakonzentrationserhöhung verursacht wie nach einer Meningitis. In der Studie von

Martinez et al. wurden 25 Patienten einer Intensivstation untersucht, 15 mit einer Ventrikelkatheter-assoziierten Ventrikulitis im Vergleich zu 10 Patienten mit einer ambulant erworbenen bakteriellen Meningitis (*Martinez et al.*, 2002). Als Ergebnis zeigte sich, dass die Serum-PCT-Spiegel bei den Patienten mit einer katheterassoziierten Ventrikulitis normal oder gering erhöht waren, wohingegen die PCT-Spiegel bei Patienten mit einer bakteriellen Meningitis deutlich erhöht waren.

Fasst man diese Studien unter Einschluss der Studie von *Shimetani* zusammen, so lässt sich feststellen, dass es sich bei der Bestimmung der Serum-Procalcitonin-Konzentration um ein sensitives diagnostisches Verfahren zum Nachweis einer bakteriellen Meningitis mit typischen Meningitiserregern handelt (*Shimetani et al.*, 2001). Dieses konnte durch die Ergebnisse unserer Studie bestätigt werden, denn im Blutserum zeigte der PCT-Konzentrationsanstieg bei 10 von 17 Patienten eine Meningitis an. Die Frage war allerdings auch, ob ein PCT-Konzentrationsanstieg im Liquor unter veränderten Untersuchungsmethoden von diagnostischem Nutzen sein kann. Im Gegensatz zur Behauptung von *Meisner*, dass keine spezifische Produktion von PCT in speziellen Körperflüssigkeiten, wie etwa im Liquor, bei einer Meningitis auftritt, konnte in unserer Studie gezeigt werden, dass die PCT-Messung im Liquor bei 9 von 17 Patienten eine Meningitis anzeigte (*Meisner*, 2000).

4.5 Zusammenfassende Bewertung der zerebralen Proteine als Marker bei einer Meningitis

Betrachtet man nun die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zusammenfassend, so zeigte sich, dass sowohl S-100B als auch GFAP als Destruktionsmarker und Procalcitonin als primärer Entzündungsmarker eine sehr unterschiedliche Wertigkeit als frühe Marker einer Meningitis besitzen. Dieses gilt beim Vergleich untereinander und insbesondere dann, wenn man die untersuchten Körperflüssigkeiten (Serum versus Liquor) betrachtet.

Im Vergleich mit den anderen Marker ist S-100B der verlässlichste Marker beim Nachweis einer Infektion im Liquor, gefolgt vom GFAP und schließlich vom PCT. Der Zusammenhang zwischen einer Meningitis und dem PCT-Konzentrationsanstieg im Liquor ist zwar bemerkenswert, jedoch entpuppte sich das PCT nicht als verlässlicher Marker, da ein Anstieg nur bei einer vergleichsweise niedrigen Patientenzahl beobachtet wurde.

Vergleicht man nun diese Ergebnisse mit den Konzentrationsbestimmungen im Serum, so ergibt sich ein völlig anderes Bild. Das PCT zeigte hier die verlässlichsten Konzentrationsanstiege im Rahmen einer Meningitis, gefolgt vom S-100. Im Blutserum zeigte sich hingegen für GFAP kein sicherer Verwendungszweck zur Anzeige einer Meningitis bei Anwendung dieser Messmethode.

Wie oben bereits erwähnt musste auf einen Vergleich von NSE und CRP mit den anderen Markern im Liquor verzichtet werden. Zum einen führte die Messung des NSE trotz mehrfacher Anpassungen des Assays zu keinen glaubwürdigen Ergebnissen und zum anderen ließ sich mit den vorhandenen Hilfsmitteln die Entwicklung eines Assays zum Nachweis des CRP im Liquor nicht durchführen.

Ein generelles Problem dieser Studie war die geringe Patientenzahl, so dass die Ergebnisse insbesondere aufgrund der fehlenden statistischen Auswertmöglichkeiten mit Einschränkungen zu betrachten sind.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war die Untersuchung von Serum- bzw. Liquormarkern zur Früherkennung einer Liquorkatheter-assoziierten Meningitis bei neurochirurgischen Intensivpatienten.

Insgesamt 76 Patienten, die zur Therapie eines Hydrozephalus eine Liquordrainage erhielten, stellten das Patientenkollektiv dar. Es erfolgte eine tägliche Blut- und Liquorentnahme zur stationsüblichen Routinediagnostik einerseits und andererseits zur Asservierung von Proben bei den Patienten, die die Kriterien einer Meningitis erfüllten. Der Beobachtungszeitraum der Patienten der Positivgruppe erstreckte sich von der Anlage des Liquorkatheters bis zur Normalisierung der Werte nach Ablauf der Meningitis. Bei den Patienten, die bereits initial eine Meningitis hatten, wurde der Zeitraum bis zur Entfernung des Katheters als Beobachtungszeitraum gewertet. Siebzehn der 76 Patienten (22.4%) erfüllten primär oder im Verlauf die Kriterien einer Meningitis. Insgesamt wurden bei diesen Patienten 18 Lumbaldrainagen und 13 externe Ventrikeldrainagen gelegt. In einem Fall wurde ein ventrikuloperitonealer Shunt in eine externe Ventrikeldrainage umgewandelt. Die Altersgruppe und die Geschlechterverteilung waren dabei inhomogen. Die 11 Frauen und 6 Männer waren zwischen 24 und 77 Jahre alt.

Die längste Liegedauer betrug 88 Tage (wobei hier mehrere Drainagenwechsel zu berücksichtigen waren), die kürzeste einen Tag. Hierbei zeigte sich, dass die Patienten mit einer diagnostisch gesicherten Meningitis überwiegend eine Lumbaldrainage zur Liquorableitung erhalten hatten und die Patienten ohne Meningitis ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen der Ableitung in Form einer Lumbaldrainage oder einer Ventrikeldrainage hatten. Überwiegend wurden die Patienten vor dem Nachweis der Meningitis antibiotisch therapiert.

Ein Anstieg allgemeiner Entzündungszeichen zum Zeitpunkt des Meningitis-Nachweises in Form einer Körpertemperaturerhöhung oder eines CRP-Anstieges ließ sich bei 11 von 17 Patienten beobachten, die nachgewiesenen Erreger stammten aus dem üblichen Keimspektrum.

Zu einem späteren Zeitpunkt folgten dann die Bestimmungen von PCT, NSE, GFAP und S-100B. Postuliert wurde, dass die Bestimmung der Destruktionsmarker GFAP und S-100 sowie des Entzündungsmarkers PCT als sensitives diagnostisches Verfahren zum Nachweis einer Meningitis dienen könnten. Von 17 Meningitisfällen war bei 12 bzw. 13

Fällen die Forderung nach Messwertanstiegen von >50% erfüllt. Ursächlich für die Anstiege, insbesondere bei den Destruktionsmarkern, könnten beispielsweise ein Infarkt gewesen sein, welcher bei 7 der insgesamt 76 Patienten und bei einem der 17 Meningitis-Patienten nachgewiesen wurde. Andererseits litten alle 17 Patienten an einer Meningitis.

Unter Ausschluss der initialen Meningitiden wurden die sensitivsten Marker betrachtet. Die GFAP-Messungen im Blut ergaben aufgrund von zum Teil nicht messbaren Werten oder zu gering messbaren Konzentrationsanstiegen keinen Zusammenhang zwischen einem Plasmakonzentrationsanstieg und dem Nachweis einer katheterassoziierten Meningitis. Die größte Verlässlichkeit hinsichtlich eines Meningitismachweises im Blutserum lag beim PCT mit einer Zeitverzögerung von 3 ± 2.788 Tagen, gefolgt vom S-100B mit einer Zeitverzögerung von 4 ± 3.674 Tagen. Unter Einbeziehung eines verbesserten kommerziellen Assays mit niedrigerer Nachweisgrenze könnte die Konzentrationspiegeländerung des PCT im Blut ein wichtiger Marker zur Früherkennung einer Meningitis werden.

Im Vergleich zu den anderen Markern war S-100B der verlässlichste Marker zum Nachweis einer Infektion im Liquor mit einer Zeitverzögerung von 4 ± 3.902 Tagen, gefolgt vom GFAP mit einer Zeitverzögerung von 0.7 ± 1.819 Tagen und dann vom PCT mit einer Verzögerung von 0.6 ± 0.8 Tagen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass in dieser Studie kein optimaler Marker zur Früherkennung einer katheterassoziierten Meningitis gefunden wurde, möglicherweise mitbedingt durch die zu inhomogene und zu kleine Patientengruppe. Zur Verifizierung der Ergebnisse sind Folgeuntersuchungen unter Einschluss einer größeren Patientenzahl und eventuell verbesserter kommerzieller Assays mit sensibleren Nachweisgrenzen der einzelnen Marker notwendig, wobei der Kostenaspekt sowie die einfache Handhabung (vorzugsweise Messung im Serum) nicht vernachlässigt werden dürfen.

Abschließend sei erwähnt, dass sich die Fertigstellung der Studie aufgrund der erheblich aufwendigen Messmethoden und den gleichzeitigen Weggängen von Priv.-Doz. Dr. med M. Wiesmann und der Mitdotorandin S. Thönnißen bedauerlicherweise sehr verzögert hat.

6 Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ARDS	adult respiratory distress syndrome
ATP	Adenosintri-phosphat
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
C	Celsius
ca.	circa
CGRP	calcitonin gene related peptide
CK	Kreatininkinase
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
d.h.	das heißt
DELPHIA	Dissociation-Enhanced-Lanthanide-Fluorescent-Immuno-Assay
DIC	disseminierte intravasale Gerinnung
dl	Deziliter
EDTA	ethylene-diamine-tetraacetic acid
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EVD	externe Ventrikeldrainage
FFP	fresh frozen plasma
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
GFAP	saures Gliafaserprotein
HIV	Human immunodeficiency virus
HNO	Hals-Nasen-Ohren
ILMA	Immunoluminometrischer Assay
kD	Kilo-Dalton
l	Liter
LD	Lumbaldrainage
LKC	4-amino-1-((1s,3r,4r,7s)-7-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-2,5-dioxabicyclo(2.2.1)hept-3-yl)-5-methylpyrimidin-2-(1h)-1
MBP	Basische Myelinprotein (Myelin basic protein)
mg	Milligramm
mmol	Millimol
µg	Mikrogramm

μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
MRT	Magnetresonanztomographie
ng	Nanogramm
NO	Stickstoffoxid
NSE	Neuronenspezifische Enolase
PCT	Procalcitonin
PCR	Polymerase chain reaction
SAB	Subarachnoidalblutung
SPECT	Single-Photon-Emissions-Computertomographie
Tab.	Tabelle
TRF	Time-Resolved Fluorescence
TRIS	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-propan-1,3-diol
Tween [®] 20	Polyoxyethylen(20)-sorbitan-monolaurat
u.a.	unter anderem
usw.	und so weiter
WHO	World Health Organisation
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

7 Literaturverzeichnis

1. Akcam FZ, Karaaslan D, Dogan M, Yayli G (2006) Microbiological surveillance in the intensive care unit: a tertiary hospital experience. *Med Sci Monit* **12**: 81-85.
2. Alleyne CH Jr, Hassan M, Zabramski JM (2000) The efficacy and cost of prophylactic and perioperative antibiotics in patients with external ventricular drains. *Neurosurgery* **47**: 1124-1127.
3. Anupurba CH Jr, Sen MR (2005) Antimicrobial resistance profile of bacterial isolates from intensive care unit: changing trends. *J Commun Dis* **37**: 58-65.
4. Arunodaya GR (2001) Infections in neurology and neurosurgery intensive care units. *Neurol India* **49**: 51-59.
5. Aurell A., Rosengreen LE, Karlsson B, Olsson JE, Zbornikova V, Haglid KG (1991) Determination of S-100 glial fibrillary acidic protein concentrations in spinal fluid after brain infarction. *Stroke* **22**: 179-185.
6. Becker KL, Gazdar AF, Carney DN, Snider RH, Moore CF, Silva OL (1983) Calcitonin secretion by continuous cultures of small cell carcinoma of the lung: incidence and immunoheterogeneity studies. *Cancer Lett* **18**: 179-185.
7. Berger C, Schwarz S, Schaebitz WR, Aschoff A, Schwab S (2002) Serum procalcitonin in cerebral ventriculitis. *Crit Care Med* **30**: 1778-1781.
8. Bonadies N, Vogt M (2005) Kulturnegative Meningokokkenmeningitis - keine Seltenheit? *Schweiz Med Forum* **5**: 1210-1214.
9. Bracq S, Machairas M, Clement B, Pidoux E, Andreoletti M, Moukhtar MS, Jullienne A (1993) Calcitonin gene expression in normal human liver. *FEBS Lett* **331**: 15-18.
10. Chadwick DR, Lever AM (2002) The impact of new diagnostic methodologies in the management of meningitis in adults at a teaching hospital. *QJM* **95**: 663-670.

11. Chen TL, Tsai CA, Fung CP, Lin MY, Yu KW, Liu CY (2002) Clinical significance of *Candida* species isolated from cerebrospinal fluid. *J Microbiol Immunol Infect* **35**: 249-254.
12. Chusid J. The Brain (1985). In: Correlative neuroanatomy and functional neurology. Lange Medical Publications, Los Altos: 19-86.
13. Classen M, Diehl V, Kocksiek K. Innere Medizin (1998). In: Pongraz D: Störungen des Nervensystems. Urban & Schwarzenberg, München, **4 ed.**: 994-998.
14. Clyne B, Olshaker JS (1999) The C-reactive protein. *J Emerg Med* **17**: 1019-1025.
15. Cutler R. The cerebrospinal fluid (2006). In: Swash M, Kennard C (Ed.): Scientific basis of clinical neurology. Churchill Livingstone, London: 646-657.
16. Dai CM, Zhou JD, Wu Y, Qi Y (2006) Distribution of pathogen and resistance of nosocomial infections in the intensive care units. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* **31**: 277-280.
17. Dunbar SA, Eason RA, Musher DM, Clarridge JE 3rd (1998) Microscopic examination and broth culture of cerebrospinal fluid in diagnosis of meningitis. *J Clin Microbiol* **36**: 1617-1620.
18. Eng LF, Vanderhaeghen JJ, Bignami A, Gerstl B (1971) An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. *Brain Res* **28**: 351-354.
19. Eng LF, Ghimikar RS, Lee YL (2000) Glial fibrillary acidic protein: GFAP – thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res* **25**: 1439-1451.
20. Federico G, Tumbarello M, Spanu T, Rosell R, Iacoangeli M, Scerrati M, Tacconelli E (2001) Risk factors and prognostic indicators of bacterial meningitis in a cohort of 3580 postneurosurgical patients. *Scand J Infect Dis* **33**: 533-537.
21. Ferreira NP, Otta GM, do Amaral LL, da Rocha AJ (2005) Imaging aspects of pyogenic infections of the central nervous system. *Top Magn Reson Imaging* **16**: 145-154.

22. Gamper G, Oschatz E, Herkner H, Paul G, Burgmann H, Janata K, Roggla M, Laggner AN (2001) Sepsis-associated purpura fulminans in adults. *Wien Klin Wochenschr* **113**: 107-112.
23. Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Moulin F, Iniguez JL, Lebon P, Bohuon C (1997) Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial or viral meningitis. *Clin Infect Dis* **24**: 1240-1242.
24. Gendrel D, Bohuon C (2000) Procalcitonin as a marker of bacterial infection. *Pediatr Infect Dis J* **19**: 679-687.
25. Hader WJ, Steinbok P (2000) The value of routine cultures of the cerebrospinal fluid in patients with external ventricular drains. *Neurosurgery* **46**: 1149-1153.
26. Hagenström H. (1997) S-100 Plasmaspiegel nach aneurysmatischer Subarachnoidalblutung: Aussagekraft in der Akutdiagnostik und möglicher prognostischer Wert. Med. Diss. Lübeck.
27. Ham J, Ellison ML, Lumsden J (1980) Tumour calcitonin. Interaction with specific calcitonin receptors. *Biochem J* **190**: 545-550.
28. Han YY, Carcillo JA, Ruppel RA, Adelson PD, Wisniewski SR, Bell MJ, Janesko KL, Marion DW, Kochanek PM (2002) Cerebrospinal fluid procalcitonin and severe traumatic brain injury in children. *Pediatr Crit Care Med* **3**: 39-44.
29. Hårdemark HG, Ericsson N, Kotwica Z, Rundström G, Mendel-Hartvig I, Olsson Y, Pählman S, Persson L (1989a) S-100 protein and neuron-specific enolase in CSF after experimental traumatic or focal ischemic brain damage. *J Neurosurg* **71**: 727-731.
30. Hårdemark HG, Almqvist O, Johansson T, Pählman S, Persson L (1989b) S-100 protein in cerebrospinal fluid after aneurysmal subarachnoid haemorrhage: relation to functional outcome, late CT and SPECT changes, and signs of higher cortical dysfunction. *Acta Neurochir* **99**: 135-144.
31. Heizmann CW, Cox JA (1998) New perspectives on S-100 proteins: a multi-functional Ca^{2+} -, Zn^{2+} -, and Cu^{2+} -binding protein family. *Biometals* **11**: 727-731.

32. Herrmann M, Vos P, Wunderlich MT, de Bruijn CH, Lamers KJ (2000) Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke* **31**: 2670-2677.
33. Hoffmann O, Reuter U, Masuhr F, Holtkamp M, Kassim N, Weber JR (2001) Low sensitivity of serum procalcitonin in bacterial meningitis in adults. *Scand J Infect Dis* **33**: 215-218.
34. Infante JR, Torres-Avisbal M, Martinez A, Vallejo JA, Aguilera C, Contreras P, Benitez A, Latre JM (2000) Evaluation of tumor marker S-100 in cerebrospinal fluid from subjects with nonischemic brain pathologies. *Tumor Biol* **21**: 38-45.
35. Kastrup O, Wanke I, Maschke M (2005) Neuroimaging of infections. *NeuroRx* **2**: 324-332.
36. Kjekshus JK, Vaagenes P, Hetland O (1980) Assessment of cerebral injury with spinal fluid creatine kinase (CSF-CK) in patients after cardiac resuscitation. *Scand J Clin Lab Invest* **40**: 437-444.
37. Ko FJ, Chiang CH, Wu CC, Wu L (1990) Studies of neuron-specific enolase levels in serum and cerebrospinal fluid of children with neurological diseases. *Gaoxiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi* **6**: 137-143.
38. Korfiatis S, Stranjalis G, Papadimitriou A, Psachoulia C, Daskalakis G, Antsaklis A, Sakas DE (2006) Serum S-100B protein as a biochemical marker of brain injury: a review of current concepts. *Curr Med Chem* **13**: 3719-3731.
39. Lamers KJ, Vos P, Verbeek MM, Rosmalen F, van Geel WJ, van Engelen BG (2003) Protein S-100B, neuron-specific enolase (NSE), myelin basic protein (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluid (CSF) and blood of neurological patients. *Brain Res Bull* **61**: 261-264.
40. Lima JE, Takayanagui OM, Garcia LV, Leite JP (2004) Use of neuron-specific enolase for assessing the severity and outcome in patients with neurological disorders. *Braz J Med Biol Res* **37**: 19-26.

41. Martinez R, Gaul C, Buchfelder M, Erbguth F, Tschakowsky K (2002) Serum procalcitonin monitoring for differential diagnosis of ventriculitis in adult intensive care patients. *Intensive Care Med* **28**: 208-210.
42. Massaro AR, Scivoletto G, Tonali P (1990) Cerebrospinal fluid markers in neurological disorders. *Ital J Neurol Sci* **11**: 537-547.
43. Meisner M (1999) Procalcitonin: Erfahrungen mit einer neuen Meßgröße für bakterielle Infektionen und systemischer Inflammation. *J Lab Med-Sonderdruck* **23**: 263-272.
44. Meisner M. Procalcitonin (PCT) (2000). In: Ein neuer innovativer Infektionsparameter; biochemische und klinische Aspekte. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **3 ed.**
45. Meisner M (2002) Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin. *Clin Chim Acta* **323**: 17-29.
46. Miguel-Hidalgo JJ, Baucom C, Dilley G, Overholser JC, Meltzer HY, Stockmeier CA, Rajkowska C (2000) Glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in the prefrontal cortex distinguishes younger from older adults in major depressive disorder. *Biol Psychiatry* **48**: 861-873.
47. Missler U, Wiesmann M (1995) Measurement of S-100 protein in human blood and cerebrospinal fluid: analytical method and preliminary clinical results. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* **33**: 743-748.
48. Missler U, Wandinger KP, Wiesmann M, Kaps M, Wessel K (1997) Acute exacerbation of multiple sclerosis increases plasma levels of S-100 protein. *Acta Neurol Scand* **96**: 142-144.
49. Missler U, Wiesmann M, Wittmann G, Magerkurth O, Hagenstrom H (1999) Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results. *Clin Chem* **45**: 138-141.
50. Missler U. (2000) Die Blutspiegel zerebraler Strukturproteine als die Bildgebung ergänzende Untersuchungsmethoden bei Erkrankungen des Zentralnervensystem. *Med. Habil. Schr. Lübeck.*

51. Mokuno K, Kato K, Kawai K, Matsuoka Y, Yanagi T, Sobue I (1983) Neuron-specific enolase and S-100 protein levels in cerebrospinal fluid of patients with various neurological diseases. *J Neurol Sci* **60**: 443-451.
52. Montero A, Romero J, Vargas JA, Regueiro CA, Sanchez-Aloz G, De Prados F, De la Torre A, Aragon G (2000) Candida infection of cerebrospinal fluid shunt devices: report of two cases and review of the literature. *Acta Neurochir* **142**: 67-74.
53. Moore BW (1965) A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* **19**: 739-744.
54. Naeimi ZS, Weinhofer A, Sarahrudi K, Heinz T, Vécsei V (2006) Predictive value of S-100B protein and neuron specific-enolase as markers of traumatic brain damage in clinical use. *Brain Inj* **20**: 463-468.
55. Namias N, Harvill S, Ball S, McKenney MG, Salomone JP, Civetta JM (1999) Cost and morbidity associated with antibiotic prophylaxis in the ICU. *J Am Coll Surg* **188**: 225-230.
56. Nathan BR, Scheld WM (2002) The potential roles of C-reactive protein and procalcitonin concentrations in the serum and cerebrospinal fluid in the diagnosis of bacterial meningitis. *Curr Clin Top Infect Dis* **22**: 155-165.
57. Noppe M, Crols R, Andries D, Lowenthal A (1986) Determination in human cerebrospinal fluid of glial fibrillary acidic protein, S-100 and myelin basic protein as indices of non-specific or specific central nervous tissue pathology. *Clin. Chim. Acta* **155**: 143-150.
58. Norris EB, Cooper P, Juurlink DN (2006) A case of recurrent meningitis. *CMAJ* **174**: 1093-1094.
59. Persson L, Hårdemark HG, Gustafsson J, Rundström G, Mendel-Hartvig I, Esscher T, Pählman S (1987) S-100 protein and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system. *Stroke* **18**: 911-918.

60. Persson L, Hårdemark H, Edner G, Ronne E, Mendel-Hartvig I, Pålman S (1988) S-100 protein in cerebrospinal fluid of patients with subarachnoid haemorrhage: a potential marker of brain damage. *Acta Neurochir* **93**: 116-122.
61. Pintado V, Cabellos C, Moreno S, Meseguer MA, Ayats J, Viladrich PF (2003) Enterococcal meningitis: a clinical study of 39 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* **82**: 346-364.
62. Poeck K, Hacke W. *Neurologie* (2006). In: Poeck K, Hacke W: Entzündungen des Nervensystems. Springer, Berlin-Heidelberg, **12 ed.**: 439-488.
63. Poon WS, Ng S, Wai S (1998) CSF antibiotic prophylaxis for neurosurgical patients with ventriculostomy: a randomised study. *Acta Neurochir* **71**: 146-148.
64. Potts BC, Smith J, Akke M, Macke TJ, Okazaki K, Hidaka H, Case DA, Chazin WJ (1995) The structure of calyculin reveals a novel homodimeric fold for S100 Ca²⁺-binding proteins. *Nat Struct Biol* **2**: 790-796.
65. Pova P, Coelho L, Almeida E, Fernandes A, Mealha R, Moreira P, Sabino H (2006) Early identification of intensive care unit-acquired infections with daily monitoring of C-reactive protein: a prospective observational study. *Crit Care* **10**: R63.
66. Powell LJ (1979) C-reactive protein—a review. *Am J Med Technol* **45**: 138-142.
67. Prabhu VC, Kaufman HH, Voelker JL, Aronoff SC, Niewiadomska-Bugaj M, Mascaro S, Hobbs GR (1999) Prophylactic antibiotics with intracranial pressure monitors and external ventricular drains: a review of the evidence. *Surg Neurol* **52**: 226-236.
68. Raabe A, Grolms C, Sorge O, Zimmermann M, Seifert V (1999) Serum S-100B protein in severe head injury. *Neurosurgery* **45**: 477-483.
69. Raabe A, Kopetsch O, Woszczyk A, Lang J, Gerlach R, Zimmermann M, Seifert V (2003) Serum S-100B protein as a molecular marker in severe traumatic brain injury. *Restor Neurol Neurosci* **21**: 159-169.
70. Rosengren LE, Wikkelso C, Hagberg L (1994) A sensitive ELISA for glial fibrillary acidic protein: application in CSF of adults. *J Neurosci Methods* **51**: 197-204.

71. Royds JA, Davies-Jones GA, Lewtas NA, Timperley WR, Taylor CB (1983) Enolase isoenzymes in the cerebrospinal fluid of patients with diseases of the nervous system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **46**: 1031-1036.
72. Sallam SA, Arafa MA, Razek AA, Naga M, Hamid MA (2005) Device-related nosocomial infection in intensive care units of Alexandria University Students Hospital. *East Mediterr Health J* **11**: 52-61.
73. Scarna H, Delafosse B, Steinberg R, Debilly G, Mandrand B, Keller A, Pujol J (1982) Neuron-specific enolase as a marker of neuronal lesions during various comas in man. *Neurochem Int* **4**: 405-411.
74. Schade RP, Schinkel J, Visser LG, Van Dijk JM, Voormolen JH, Kuijper EJ (2005) Bacterial meningitis caused by the use of ventricular or lumbar cerebrospinal fluid catheters. *J Neurosurg* **102**: 229-234.
75. Shimetani N, Shimetani K, Mori M. Levels of three inflammation markers, C-reactive protein, serum amyloid A protein and procalcitonin, in the serum and cerebrospinal fluid of patients with meningitis (2001) *Scand J Clin Lab Invest* **61**: 567-574.
76. Sindic CJ, Chalon MP, Cambiaso CL, Laterre EC, Masson PL (1982) Assessment of damage to the central nervous system by determination of S-100 protein in the cerebrospinal fluid. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **45**: 1130-1135.
77. Stangl AP, Meyer B, Zentner J, Schramm J (1998) Continuous external CSF drainage-a perpetual problem in neurosurgery. *Surg Neurol* **50**: 77-82.
78. Thomson RB Jr., Bertram H (2001) Laboratory diagnosis of central nervous system infections. *Infect Dis Clin North Am* **15**: 1047-1071.
79. Townend W, Dibble C, Abid K, Vail A, Sherwood R, Lecky F (2006) Rapid elimination of protein S-100B from serum after minor head trauma. *J Neurotrauma* **23**: 149-155.
80. Vanaclocha V, Saiz-Sapena N, Leiva J (1996) Shunt malfunction in relation to shunt infection. *Acta Neurochir* **138**: 829-834.

81. Varon J, Chen K, Sternbach GL (1998) Rupert Waterhouse and Carl Friderichsen: adrenal apoplexy. *J Emerg Med* **16**: 643-647.
82. Viallon A, Zeni F, Lambert C, Pozzetto B, Tardy B, Venet C, Bertrand JC (1999) High sensitivity and specificity of serum procalcitonin levels in adults with bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* **28**: 1313-1316.
83. Vieweg U, Kaden B, Van Roost D (1996) A flexible metal ventricular catheter for treatment of complicated and protracted infections of the cerebrospinal fluid spaces: preliminary experiences. *Acta Neurochir* **138**: 1431-1436.
84. Vinchon M, Lemaitre MP, Vallee L, Dhellemmes P (2002) Late shunt infection: incidence, pathogenesis, and therapeutic implications. *Neuropediatrics* **33**: 169-173.
85. Vos PE, Lamers KJ, Hendriks JC, van Haaren M, Beems T, Zimmerman C, van Geel W, de Reus H, Biert J, Verbeek MM (2004) Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury. *Neurology* **62**: 1303-1310.
86. Wiesmann M, Missler U, Hagenström H, Gottmann D (1997) S-100 protein plasma levels after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir* **139**: 1155-1160.
87. Zimmer DB, Cornwall EH, Landar A, Song W (1995) The S100 protein family: history, function, and expression. *Brain Res Bull* **37**: 417-429.
88. Zingale A, Ippolito S, Pappalardo P, Chibbaro S, Amoroso R (1999) Infections and re-infections in long-term external ventricular drainage. A variation upon a theme. *J Neurosurg Sci* **43**: 125-132.
89. Zolldann D, Spitzer C, Hafner H, Waitschies B, Klein W, Sohr D, Block F, Lutticken R, Lemmen SW (2005) Surveillance of nosocomial infections in a neurologic intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* **26**: 726-73.

8 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. V. Tronnier danke ich für die Möglichkeit, diese Arbeit an der Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, beenden zu können.

Herrn Prof. (em.) Dr. med. H. Arnold danke ich für die Möglichkeit, die Arbeit unter seiner Leitung an der Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, beginnen zu können.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. J. Gliemroth für die Überlassung des Themas und die geduldige und unterstützende Betreuung und Förderung der Arbeit. Auch wenn die Motivation mal wieder nachgelassen hatte, schaffte er es doch wieder, mir Mut zu machen, die Arbeit nicht aufzugeben.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Wiesmann danke ich für die geduldige und kompetente Unterstützung insbesondere bei der Auswertung der Messergebnisse.

Weiterhin gebührt mein besonderer Dank meiner Mitdotorandin S. Thönnißen (geb. March), die mit mir Freud und Leid während der Doktorarbeitsjahre teilte. Ohne die abwechselnde tägliche Sammlung der Liquor- und Blutproben sowie die gemeinsamen Wochenenden und Abende im Labor wären niemals brauchbare Ergebnisse zustande gekommen.

Dem Team der Schwestern und Pfleger sowie den Ärzten der Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, gebührt Dank für die tatkräftige Unterstützung, insbesondere bei der Sammlung von Blut- und Liquorproben zwischen Juli 1999 und Oktober 2000.

Frau E. Pawlak im Neurochirurgischen Labor der Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, danke ich für die verständnisvolle Hilfe und gute Zusammenarbeit.

Dem gesamten Team des Klinischen Labors der Medizinischen Klinik I des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus, Lübeck, danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Weiterhin danke ich dem Institut für Mikrobiologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck für die bereitwillige Hilfe bei der zu diesem Zeitpunkt noch nicht standardmäßigen Messung des PCT.

Außerdem möchte ich allen danken, die mir bei der Planung, Organisation und Durchführung dieser Arbeit mit Rat und Tat zur Seite standen und mich ertragen mussten. Besonders erwähnt seien hier meine Familie, meine Freunde und alle die, die bereits ihre Doktorarbeit beendet hatten und mich aufmunterten.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Andrea Finis
Adresse: Albert-Schweitzer-Str. 37
23566 Lübeck
Geburtstag: 24. Februar 1969
Geburtsort: Hamburg
Familienstand: ledig

Schulbildung:

1975-1979 Grundschule Altgemeinde in Schenefeld
1979-1980 Gymnasium im Knabeweg in Hamburg
1980-1983 Gymnasium Schenefeld in Schenefeld
1983-1989 Gymnasium im Schulzentrum Süd in Norderstedt
1989 Abitur

Berufliche Tätigkeiten:

1989-1991 Aupair in den USA
1991-1992 Schwesternhelferin am Flughafen Hamburg
1992-1995 Ausbildung zur Krankenschwester am AK Ochsenzoll,
Hamburg
-10/1995 Krankenschwester in der Unfallambulanz des AK
Ochsenzoll

Studium:

1995-2002 Studium der Humanmedizin an der Medizinischen
Universität zu Lübeck

03/1998	Ärztliche Vorprüfung
08/1999	Erster Abschnitt der Ärztlichen Vorprüfung
03/2002	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Vorprüfung
04/2003	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Vorprüfung

Praktisches Jahr:

04/2002-08/2002	Neurochirurgisches Tertial in der Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck
08/2002-11/2002	Chirurgisches Tertial in den Sana Kliniken Lübeck GmbH, Sana Krankenhaus Süd
11/2002-03/2003	Internistisches Tertial in den Ostholstein Kliniken GmbH, Klinik Eutin und im Memorial Sloan-Kettering Cancer Center in New York City, USA

Tätigkeit als ÄiP:

5/2003-10/2004	Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck
----------------	---

Tätigkeit als Ärztin:

Seit 10/2004	Klinik für Neurochirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck
--------------	---