

len Nachweises von säurefesten Stäbchen mit der Polymerase Chain Reaction überein; acht Proben waren nur in der Polymerase Chain Reaction positiv. Dabei handelte es sich um klinisch gesicherte Tuberkulosefälle.

### Empfehlungen

1. Bei Verdacht auf tuberkulöse Meningitis sollten mehrere Liquores wie auch andere Proben (z. B. Sputum, Magensaft, Urin) auf säurefeste Stäbchen untersucht werden.
2. Der mikroskopische Nachweis von säurefesten Stäbchen ist nach wie vor die schnellste und billigste Bestätigung einer tuberkulösen Meningitis. Allerdings ist die Sensitivität gering. Kliniker und Laborverantwortliche sollten die Rahmenbedingungen verbessern. Dazu gehören eine strengere Indikationsstellung zur Untersuchung auf säurefeste Stäbchen; mindestens 2 ml Liquor für die mykobakteriologische Untersuchung (Zentrifugation der Probe mit mind. 3'000 x g, mind. 20 Min.). Objektträger sollte mit „Liquor“ bezeichnet und länger nach säurefesten Stäbchen gesucht werden; eventuelle Überprüfung des Befundes durch eine zweite medizinisch-technische Assistentin.
3. Neben Festmedien sollten unbedingt Flüssigmedien, z. B. BACTEC- oder Kirchner-Medium, verwendet werden. Auf den Tierversuch kann unter diesen Umständen verzichtet werden.
4. Obwohl der apparative Aufwand für den Nachweis der Tuberkulostearinsäure erheblich ist, lohnt sich dank der guten Sensitivität für größere Zentren die Anschaffung der notwendigen Geräte.
5. Die erwähnten Arbeiten liefern die Grundlagen für die wünschenswerte Einführung serologischer Untersuchungsmethoden in die Routinediagnostik.
6. Hat vor Jahren die radiometrische Nachweismethode den mykobakteriologischen Alltag nur zögernd verändert, so wird die Molekularbiologie mit ihren neuesten Methoden dies um so schneller tun.

Anschrift des Verfassers:

Dr. med. Max Salfinger  
Institut für Medizinische Mikrobiologie  
der Universität Zürich  
Gloriastraße 30  
CH-8028 Zürich

### Schrifttum:

1. HAEGI, V.: Die extrapulmonale Tuberkulose heute. Schweiz. med. Wschr. 117, 1403-1408 (1987).
2. STARKE, J. R., TAYLOR-WATTS, K. T.: Tuberculosis in the pediatric population of Houston, Texas. Pediatrics 84, 28-35 (1989).
3. ALVAREZ, S. A., McCABE, W. R.: Extrapulmonary tuberculosis revisited: A review of experience at Boston City and other hospitals. Medicine 63, 25-55 (1984).
4. RICH, A. R., McCORDOCK, H. A.: Pathogenesis of tuberculous meningitis. Bull. Johns Hopkins Hosp. 52, 5-37 (1933).
5. STEWART, S. M.: The bacteriologic diagnosis of tuberculous meningitis. J. Clin. Pathol. 6, 241-242 (1953).
6. KENNEDY, D. H., FALLON, R. J.: Tuberculous meningitis. JAMA 241, 264-268 (1979).
7. KLEIN, N. C., DAMSKER, B., HIRSCHMAN, S. Z.: Mycobacterial meningitis. Am. J. Med. 79, 29-34 (1985).
8. CLARK, W. C., METCALF jr., J. C., MUHLBAUER, M. S., DOHAN jr., F. C., ROBERTSON, J. H.: Mycobacterium tuberculosis meningitis: A report of twelve cases and a literature review. Neurosurgery 18, 604-610 (1986).
9. OGAWA, S. K., SMITH, M. A., BRENNESSEL, D. J., LOWY, F. D.: Tuberculous meningitis in a urban medical center. Medicine 66, 317-326 (1987).
10. BROMBERG, K.: Policy for fungal and mycobacterial culture requests on CSF. The Lancet, May 10, 1023 (1980).
11. CROWSON, T. W., RICH, E. C., WOLFREY, B. F., CONNELLY, D. P.: Overutilization of cultures of CSF for mycobacteria. JAMA 251, 70-72 (1984).
12. ROBERTS, F. J.: Problems in diagnosis of tuberculous meningitis. Arch. neurol. 38, 319-320 (1981).
13. MARKS, J.: Ending the routine guinea-pig test. Tubercle 53, 31-34 (1972).
14. MORRIS, C. A., BARTON, B. W.: Is guinea-pig inoculation ever justified for the diagnosis of tuberculosis? J. Clin. Path. 36, 719-720 (1983).
15. SCHRÖDER, K. H., RÜSCH-GERDES, S.: Untersuchungen mit dem System Bactec-460, 4. Vergleich Bactec-460 und Tierversuch für den Nachweis von Tuberkulose-Bakterien. Prax. Klin. Pneumol. 42, 711-714 (1988).
16. ANDERSON, R. J., CHARGAFF, E.: The chemistry of the lipids of tubercle bacilli. VI. Concerning tuberculostearic acid and phthioic acid from the acetone-soluble fat. J. Biol. Chem. 85, 77-88 (1929).
17. LARSSON, L., MARDH, P. A., ODHAM, G., WESTERDAHL, G.: Detection of tuberculostearic acid in biological specimens by means of glass capillary gas-chromatography-electron and chemical ionization mass spectrometry, utilizing selected ion monitoring. J. Chromatogr. Biomed. Appl. 163, 221-224 (1979).
18. FRENCH, G. L., CHAN, C. Y., CHEUNG, S. W., TEOH, R., HUMPHRIES, M. Y., MAHONY, G. O.: Diagnosis of tuberculous meningitis by detection of tuberculostearic acid in cerebrospinal fluid. The Lancet, July 18, 117-119 (1987).
19. BROOKS, J. B., DANESHVAR, M. I., FAST, D. M., GOOD, R. C.: Selective procedures for detecting femtomole quantities of tuberculostearic acid in serum and cerebrospinal fluid by frequency-pulsed electron capture gas-liquid chromatography. J. Clin. Microbiol. 25, 1201-1206 (1987).
20. BROOKS, J. B., DANESHVAR, M. I., HABERBERGER, R. L., MIKHAIL, I. A.: Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by frequency-pulsed electron-capture gas-liquid chromatography detection of carboxylic acid in cerebrospinal fluid. J. Clin. Microbiol. 28, 989-997 (1990).
21. KRAMBOVITIS, E., McILLMURRAY, M. B., LOCK, P. E., HENDRICKSE, W., HOLZEL, H.: Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by latex particle agglutination. The Lancet 2, 1229-1231 (1984).
22. CHANDRAMUKI, A., BOTHAMLEY, G. H., BRENNAN, P. J., IVANYI, J.: Levels of antibody to defined antigens of Mycobacterium tuberculosis in tuberculous meningitis. J. Clin. Microbiol. 27, 821-825 (1989).
23. WILKINS, E. G. L., IVANYI, J.: Potential value of serology for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. The Lancet 336, 641-644 (1990).
24. EISENACH, K. D., CAVE, M. D., BATES, J. H., CRAWFORD, J. T.: Polymerase chain reaction amplification of a repetitive DNA sequence specific for Mycobacterium tuberculosis. J. Infect. Dis. 26, 977-981 (1990).
25. PAO, C. C., YEN, T. S. B., YOU, J.-B., MA, J.-S., FISS, E. H., CHANG, C.-H.: Detection and identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA amplification. J. Clin. Microbiol. 28, 1877-1880 (1990).

## Cryptococcus neoformans – Nachweis im Liquor (Kasuistik)

### Demonstration of Cryptococcus neoformans in Cerebrospinal Fluid (Case Report)

D. Ratfisch, P. Koschnike, Liquorlabor, Bezirksnervenklinik Schwerin

### Zusammenfassung:

Kasuistik einer 25jährigen Frau mit einer Cryptococcen-Meningoencephalitis. Schon die Routine-Färbung nach Pappenheim zeigte zahlreiche Cryptococcen. Da diese aber nicht als Pilzzellen erkannt wurden, kam es ohne spezifische Therapie zum Exitus letalis.

### Schlüsselwörter:

Chronische Pilzmeningoencephalitis – Cryptococcen-Nachweis mit Färbung nach Pappenheim

### Summary:

The case report of a 25 year old woman with cryptococcus meningoencephalitis is presented. The routine staining of the CSF

sediment by Pappenheim showed numerous cryptococcae. A specific treatment was not performed because of the ignorance of the cells to be fungus elements and a lethal outcome occurred.

### Keywords:

Fungous Meningoencephalitis – cryptococcus detection by Pappenheim staining

Wir möchten ein Krankheitsbild vorstellen, das uns erhebliche diagnostische Schwierigkeiten bereit hat und das letztendlich erst vom Pathologen geklärt wurde.

Es handelte sich um eine 25jährige Frau, die sechs Monate vor dem Tode in einer Klinik für Innere Medizin zur Diagnostik hormoneller Störungen (extreme Adipositas, Hirsutismus, Oligomenorrhoe) lag. Eine Ursache der endokrinen Störungen wurde aber nicht gefunden.

Da die Frau außerdem seit einem Jahr über Kopfschmerzen klagte, wurde sie einem Neurologen vorgestellt, der Stauungspapillen sah und sie uns einwies. Der Neurostatus bot außer den Stauungspapillen nichts Pathologisches. Die Sella erschien im Röntgenbild zwar transparentgemindert, ein Pneumoencephalogramm schloß aber einen Tumor an der Hirnbasis aus. Im cranialen Computertomogramm zeigte sich eine weite Sella bei regelrechter Hirnfurchung und unauffälligem Hirnparenchym. Im EEG wurden lediglich bitemporale Theta-Delta-Wellen registriert.

Alle serologischen Untersuchungen auf Viren und Bakterien blieben negativ.

Zwölf Tage vor dem Tode vielen eine delirante Unruhe und eine allgemeine Verlangsamung auf. Zu diesem Zeitpunkt bestanden auch ein Meningismus und eine N. abducens-Parese links, im EEG leichte Allgemeinveränderungen. Trotz Intensivtherapie entwickelte sich ein Koma, in dem sie verstarb.

Pathologisch und auf eine Encephalitis hinweisend waren allerdings zwei Liquores gewesen (Methodik s. 1). Bei Klinikaufnahme fand sich lumbal: Gesamteiweiß 990 mg/l, Albumin 570 mg/l, Immunglobulin G 240 mg/l, 260 Mpt/l Zellen, im nach Pappenheim gefärbten SAYK-Sediment 53 % Neutrophile, 21 % monozytäre und 22 % lymphozytäre Zellen, außerdem 1 Eosinophiler, 1 Leukophage und 2 Lymphoidzellen.

Ein späterer suboccipitaler Kontroll-Liquor bot bei 1000 mg/l Gesamteiweiß eine Zellzahl von 192 Mpt/l; im Sediment waren 38 % Neutrophile, 37 % monozytäre und 16 % lymphozytäre Zellen, ferner 4 Eosinophile, 3 Phagen, 1 Plasmazelle, 1 Lymphoidzelle. Zahlreiche Zellen zeigten acidophile und tröpfchenförmige Einschlüsse, einige Zellen blieben undifferenzierbar (s. Abb. 1).

Die Sektion konnte den entzündlichen Prozeß klären. Es bestand eine ausgeprägte granulomatöse Meningoencephalitis aller Hirnabschnitte mit zahlreichen Nekrosen der Rinde und des Marklagers. Mikroskopisch waren massenhaft extra- und intrazellulär gelegene Pilze (Cryptococcen) zu erkennen. Vorbestehende Krankheiten, die das Auftreten der Pilzinfektion begünstigt hätten, waren nicht nachweisbar.

In Kenntnis des Obduktionsbefundes können wir retrospektiv die im Liquorsediment gesehenen Zellen mit acidophilen und tröpfchenförmigen Einschlüssen als Cryptococcen klassifizieren. Da wir solche Zellelemente vorher niemals gesehen hatten, gelang uns die richtige Artdiagnose nicht. Dies ist insofern bedauerlich, da eine rechtzeitige Therapie mit Amphotericin B in der Mehrzahl der Fälle wirksam ist und zur Ausheilung führt.

Cryptococcen (2) werden in die Klasse der imperfekten Pilze (Deuteromycetes) eingeordnet, die sich rein vegetativ über Sporen (Konidien) fortpflanzen. Während sich die meisten Pilze über einen fädigen Vegetationskörper (Mycel) durch Sprossung vermehren, besitzt *Cryptococcus neoformans* kein Mycel. Die asexuelle Vermehrung vollzieht sich in der Form, daß sich von einer Mutterzelle eine Tochterzelle abschnürt und diese rasch freigesetzt wird.

Cryptococcen sind rundliche Zellen von 2 bis 20  $\mu$ m Größe, die im Innern Fetttropfchen enthalten, als feine Körnelung erkennbar. Die Pilzzellen sind von einer schleimigen Gallertkapsel umgeben. Je dicker die Kapsel ist, desto höher soll die Virulenz sein. Cryptococcen benutzen als Eintrittspforte die Atemwege. Die pulmonale Primärinfektion bleibt klinisch oft unbemerkt.

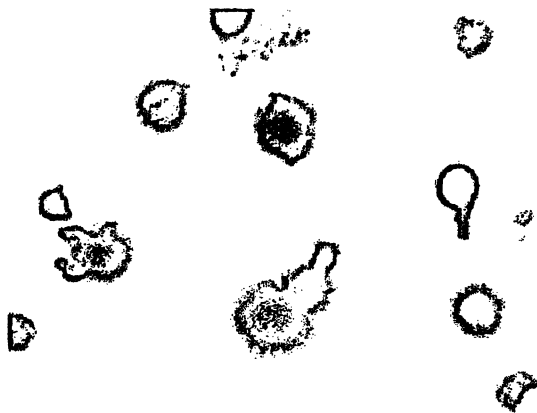


Abb. 1: Liquorsediment: *Cryptococcus neoformans*. Färbung nach Pappenheim, Obj. 40

Über eine hämatogene Aussaat gelangen die Pilzzellen ins Gehirn und in die Meningen und unterhalten hier chronische Entzündungen. Trotz schwerer Nekrotisierung des Hirnparenchyms treten keine akuten Entzündungszeichen auf. Infolge des unterschiedlich starken Pilzbefalls in verschiedenen Hirnregionen ist das neurologische Krankheitsbild bunt und auch psychopathologische Auffälligkeiten sind nicht unbekannt. Unbehandelt verläuft eine generalisierte Infektion des gesamten ZNS fast immer tödlich (3, 4).

Richtungweisend für die Diagnose sind Bestimmungen der KBR im Serum und Liquor. Ein positiver Antigennachweis gelingt häufig.

Wir wollten mit unserem Beitrag zeigen, daß es bereits mit einer Routine-Färbung nach Pappenheim gelingt, im Liquor Pilze nachzuweisen und daß das Nichterkennen der Pilzzellen für den Patienten fatale Folgen hat.

#### Schrifttum:

1. Arzneibuch der DDR: Diagnostische Labormethoden, Akademie-Verlag, Berlin (1983).
2. WILDFÜHR, W.: Medizinische Mikrobiologie, Bd. III, G. Thieme, Leipzig (1978).
3. KRAPF, R., WEGMANN, T.: Pilze und Parasiten. In: Akute und entzündliche Erkrankungen des ZNS und seiner Hüllen (Gänshirt, H., Ed.), 130, perimed. Fachbuch-Verlagsgesellschaft mbH, Erlangen (1984).
4. SCHEID, W.: Lehrbuch der Neurologie, 5. Aufl., 583, G. Thieme-Verlag, Stuttgart (1983).

#### Anschrift der Verfasser:

Dr. Dieter Ratfisch, Oberarzt  
Neurologische Klinik

Dipl.-Chem. Peter Koschnike  
Liquorlabor  
Bezirksnervenklinik  
Wismarsche Straße 393/395  
O-2758 Schwerin