Liquor-Zytozentrifugen-Verfahren

T. O. Kleine

Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie,
Molekulare Diagnostik Standort Marburg Referenzlabor für
Liquordiagnostik, UKGM Universitätsklinikum Gießen und
Marburg, Marburg, Deutschland

Englischer Begriff cerebrospinal fluid (CSF) cytocentrifugation

Definition Anreicherung zellarmer nativer CSF-Proben mittels Zentrifugalkraft auf Objektträgern in Spezialzentrifuge zur Zellanalyse.

Physikalisch-chemisches Prinzip Anreicherung von nativen CSF-Zellen durch Zentrifugationskraft (bis 200 g tolerierbar für native CSF-Zellen) mittels:

- Shandon-Zytozentrifuge Cytospin I, II vertikal auf Objektträger bei 50–80 g (800–1000 rpm) für 6–10 Minuten von $\leq 400\text{-}\mu\text{L}$ -Aliquot von nativer CSF (keine entzellte CSF);
- Hettich-Zytozentrifuge: Vorzentrifugation der gesamten CSF-Probe mit ≤ 50 Leukozyten/ μL 20 Minuten bei 220 g zur Gewinnung von zellfreiem Überstand und Zellsediment; Resuspension des Zellsedimentes mit entzelltem Liquor zu 200- μL -Zellportionen + 50 μL steriles Medium mit Rinderserumalbumin (50 g/L Endkonzentration) und Antibiotikazusatz (bei > 50 Leukozyten/ μL 200 μL native CSF-Probe + 50 μL Medium ohne Anreicherung). Anheften der CSF-Zellen auf Polykationen-beschichteten Objektträgern vertikal 5 Minuten bei 220 g; Abpipettieren von 200 μL Überstand, Trockenzentrifugation von $< 50\text{-}\mu\text{L}$ Rest auf Filterpapier 1 Minute $800 \times g$.

Resultat: luftgetrocknete, abgeflachte CSF-Zellen ohne alkohollösliches Material nach Alkoholfixation, Darstellung mittels ► [Liquor-May-Grünwald-Giemsa-Färbung](#).

Untersuchungsmaterial $> 0,5$ mL frischer Ventrikel-, Subokzipital-(SOP-), Lumbal-Liquor oder (subdurale) Zystenflüssigkeit. Lichtgeschützt in durchsichtigen, farblosen Polypropylenröhrchen steril bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ $< 1\text{--}2$ Stunden gelagert.

Instrumentierung Polykationen-beschichtete Objektträger, beschichtet mit Poly-Dimethyl-Diallyl-Ammoniumchlorid (PDDA ca. 100 kDa); entfettete Objektträger 45 Minuten in wässriger PDDA-Lösung (0,4–1,0 g/L) inkubieren, spülen mit Aqua dest., Lufttrocknen) oder Poly-L-Lysin. Zytozentrifuge mit Zubehör von Shandon Cytospin I, II bzw. von Hettich mit Ausschwingrotor.

Bewertung – Methodenhierarchie (allg.) Teil von ► [Liquor-Basis-Programm](#) zur Analyse von Entzündungsreaktionen, Tumorzellen, Liquor-Zellreaktionen; praktikables Routineverfahren mit hohen Ausbeuten differenzierbarer CSF-Zellen in weniger Probenvolumen als mit ► [Liquor-Sedimentierkammer-Verfahren](#) mit hohen Zellverlusten und -denaturierungen; Möglichkeit von Spezialfärbungen (► [Liquor-Tumorzellen](#)).

Literatur

Lehmitz R, Kleine TO (1994) Liquorzytologie: Ausbeute, Verteilung und Darstellung von Leukozyten bei drei Sedimentationsverfahren im Vergleich zu drei Zytozentrifugen-Modifikationen. Lab Med 18:91–99