

Diagnostika likvorhey

David Zeman, Michaela Pospíšilová, Margaréta Štefániková

Laboratoř likvorologie a analýzy proteinů, ÚLM-OKB FN Brno

Katedra laboratorních metod, LF MU

2023

Likvorhea - definice

- Únik likvoru mimo likvorové cesty, spontánně nebo traumaticky vzniklým otvorem v mozkových obalech (dura mater + arachnoidea)
- Podle toho, odkud likvor vytéká, rozlišujeme
 - **rhinorheu** – výtok likvoru z nosu (likvor může též zatékat po zadní stěně nosohltanu do úst a být polykán)
 - **otorheu** – výtok likvoru z ucha
 - existuje řada dalších možností, např. únik likvoru po NCH operacích
 - přísně vzato je „likvorheou“ (přechodný) únik likvoru otvorem v dura mater po lumbální punkci

Diagnostika likvorhey

- Zobrazovací metody
(viz následující snímek)

- Průkaz přítomnosti likvoru v sekretech:
 - detekce asialotransferinu (τ -transferinu nebo β 2-transferinu; pozn. – nezaměňovat s τ -proteinem přítomným v neuronech a axonech, který slouží jako biomarker neuronálního a axonálního poškození u řady neurodegenerativních onemocnění, ale jde o zcela jinou bílkovinu!)
 - stanovení koncentrace **beta trace proteinu (BTP)**
 - teoreticky připadá v úvahu také stanovení S100B proteinu (nepraktické – je dražší a přítomný v řádově nižších koncentracích, proto se běžně neprovádí)
 - „klasické“ zkoušky – kalium, glukosa – považovány za obsolentní

Diagnostika likvorhey: zobrazovací metody

Metaanalýza Xie M et al. *Am J Clin Rhinol Allergy* 2022; 36(3): 397-406 (týká se pouze rhinorhey)

zkratka	Metoda	celkový počet pacientů	Senzitivita (medián)	Specificita (medián)
HRCT	Vysokorozlišovací výpočetní tomografie	547	93 %	50 %
MRC	Magentickorezonanční cisternografie	359	94 %	77 %
CEMRC	Magnetickorezonanční cisternografie s intrathekálním podáním kontrastní látky	137	99 %	100 %
CTC	CT cisternografie	212	95 %	100 %
RNC	Radionuklidová cisternografie	439	90 %	50 %
Endoskopie	Endoskopie	58	58 %	100 %
TIF	Topické intranazální podání fluoresceinu	40	100 %	?
ITF	Intratekální podání fluoresceinu	76	96 %	100 %

Historicky používané testy k odlišení likvoru od nosálního sekretu

(Dennebaum R. In: Thomas L. Labor und Diagnose. 5. vydání, TH-Books, Frankfurt am Main 1998)

Test	Likvor	Nosní sekret	Poznámka
glukosa	2,7 – 4,8 mmol/L (vždy >1,7 mmol/L), 60 – 70% glykémie	≤ 0,6 mmol/L	↓↓ u purulentního zánětu!
Celková bílkovina	0,2 – 0,5 mmol/L	3 – 40 g/L	Kritérium nelze použít u krví kontaminovaného vzorku
Kalium	≈3 mmol/L	≈17 mmol/L	
Natrium	≈141 mmol/L	90 – 148 mmol/L	
Kalcium	1,05 – 1,35 mmol/L	1,0 – 1,75 mmol/L	
buňky	Převážně lymfocyty a monocyty	Převážně neutrofily, u alergické rhinitidy i eosinofily	Neutrofily v zánětlivě změněném likvoru!

Biomarkery likvorhey

- **Asialotransferin**
- TRF neobsahující žádné zbytky kyseliny sialové (odštěpení z molekuly TRF neuraminidasou v buňkách choroidálních plexů)
- V likvoru až 30% celkového TRF
- Komerční test: elektroforéza s imunofixací (Sebia) a posouzením poměru asialo-/disialoTRF v sekretu a séru
- Poměr asialo-/disialoTRF > 1 NEBO významně vyšší poměr asialo-/disialoTRF v sekretu oproti séru svědčí pro přítomnost likvoru v sekretu
- **Beta trace protein (BTP)**
- Prostaglandin D2 synthasa
- Správně: Prostaglandin D2:H2 isomerasa (EC 5.3.99.2)
- V likvoru 2. až 3. nejvíce zastoupený protein (fyziologická koncentrace 10 – 20 mg/L)
- Koncentrace v séru < 1 mg/L
- Koncentrace > 1,3 mg/L v sekretu svědčí pro přítomnost likvoru v sekretu
- Koncentrace v sekretu < 0,7 mg/L svědčí pro nepřítomnost likvoru
- V případě koncentrace BTP v sekretu $\geq 0,7$ mg/L je vhodné stanovit BTP zároveň v séru, pro přítomnost likvoru svědčí poměr koncentrací BTP v sekretu/séru $\geq 2,0$
- Nelze použít k průkazu přítomnosti likvoru v pleurálním punktátu nebo ascitu – tyto tekutiny mají samy vysokou koncentraci BTP (medián 2,29, horní hranice 26,5 mg/L)
- Vysoké koncentrace také v perilymfě (51,5 mg/L) a endolymfě (68 mg/L) vnitřního ucha

IVD test pro stanovení BTP

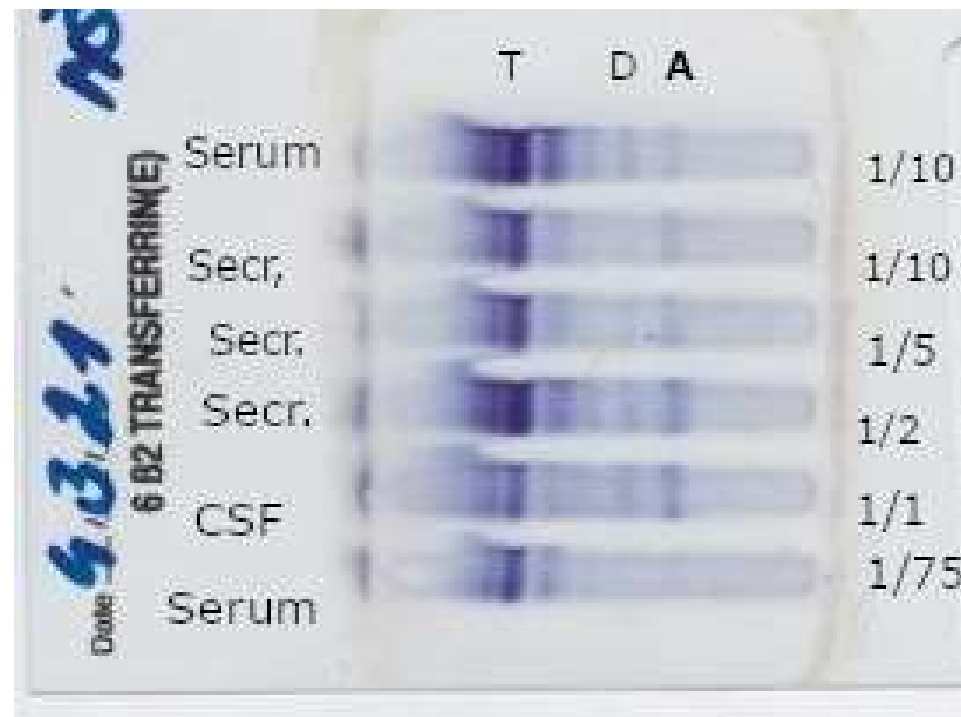
Test	N-Latex BTP (Siemens)	
Katalogové číslo	10709757	
Princip	Nefelometrie zesílená latexovými částicemi	
Referenční meze	Sérum/plazma: $\leq 0,70$ mg/L	
Mez stanovitelnosti	0,22 mg/L	
Rozhodovací meze	BTP v sekretu $< 0,70$ mg/L BTP v sekretu $\geq 1,3$ mg/L: <i>BTP v sekretu 0,70 – 1,29 mg/L:</i> Poměr sekret/sérum < 2 : Poměr sekret/sérum ≥ 2 :	Přítomnost likvoru je nepravděpodobná Přítomnost likvoru je pravděpodobná Přítomnost likvoru je nepravděpodobná Přítomnost likvoru je pravděpodobná
Senzitivita	98 %	
Specifická	96 %	

IVD testy pro detekci β 2 transferinu

Test	Hydragel 6 β 2 Transferrin(e) (Sebia)			SAS Transferrin IEF Kit (Helena Biosciences Europe)
Katalogové číslo	4853			103100
Princip	Elektroforéza s imunofixací			IEF s imunoblottingem
Mez detekce	0,08 mg/L β 2 transferinu; 2% likvoru v sekretu			
odkaz				viz https://www.helena-biosciences.com/en/clinical-electrophoresis/gel/tests/transferrin-ief/
HODNOCENÍ:	sekret	sérum	Závěr	
Poměr 0-sialo/2-sialo	>1	analýza není požadována	pozitivní	
	\leq 1	\geq poměr 0-sialo/2-sialo v sekretu < poměr 0-sialo/2-sialo v sekretu	negativní pozitivní	

Průkaz asialotransferinu (elfo s imunofixací – Sebia)

Metoda používaná k průkazu přítomnosti likvoru v sekretech. V likvoru je poměr A/D > 1, v séru <1; poměr A/D v sekretu s příměsí likvoru je vyšší než v séru.



Detekce β 2-transferinu

pozice 1 – negativní kontrola (sérum ředěné 1/75); pozice 2 – pozitivní kontrola (likvor); pozice 3 a 5 – sérum ředěné 1/10 a 1/2; pozice 4 a 6 – sekret neředěný a ředěný 1/2

Úkol: Vizuálně odhadněte, obsahuje-li sekret na obr. vlevo a na obr. vpravo likvor či nikoliv!

