

Anders Larsson, Akademiska laboratoriet, klinisk kemi och farmakologi ([anders.larsson@clm.uas.lul.se](mailto:anders.larsson@clm.uas.lul.se))

Hans Deuschl, öron-, näs- och halskliniken

Mats Flodin, Akademiska laboratoriet, klinisk kemi och farmakologi

Gunnar Ronquist, Akademiska laboratoriet, klinisk kemi och farmakologi; samtliga vid Akademiska sjukhuset, Uppsala

# Analys av $\beta$ -»trace«-protein spårar läckage av cerebrospinalvätska

## Snabbt, säkert och billigt

■ Läckage av cerebrospinalvätska (csv) kan bero på trauma, operativa ingrepp, missbildningar eller tumörer. I enstaka fall har man även funnit läckage utan någon känd genes [1-3]. Läckagefrågeställningen kan därför uppkomma inom många olika specialiteter. Oftast uppstår misstanke om en fistel hos patienter där det rinner vätska från näsa eller öra. Det är viktigt att kunna påvisa ett sådant läckage och åtgärda detta, då förbindelsen till hjärnan kan medföra att mikroorganismer kan sprida sig till centrala nervsystemet och ge upphov till livshotande infektioner [4, 5].

» $\beta$ -trace«-protein ( $\beta$ -TP), eller prostaglandin D-syntas (EC 5.3.99.2) som det också heter, är ett av de vanligaste proteinerna i csv [6, 7].  $\beta$ -TP är ett sekretoriskt glykoprotein med en molekylvikt på ca 26 kDa.  $\beta$ -TP katalyserar bildandet av  $PGD_2$ , som har flera biologiska funktioner. Bl a inducerar det vasodilatation, hämmar trombocytaggregation och påverkar NO-omsättning. Det har också betydelse för sömninduktion.  $\beta$ -TP har en csv/serumkvot på över 30, vilket är högre än för övriga proteiner i csv [8]. Detta i kombination med det faktum att det är ett förhållandevis stabilt protein gör att det teoretiskt borde vara en mycket bra markör för läckage av csv. I regel innehåller proven inte ren csv utan även transsudat av plasmaproteiner. Genom att skillnaden är så pass stor mellan csv och blod kan man upptäcka även ringa inblandning av csv i provet. Studier talar för att man kan påvisa csv i sekret redan vid 1–2 procents inblandning [9].

Tidigare har det varit svårt att analysera  $\beta$ -TP, då det inte funnits kommersiellt tillgängliga reagens som lämpat sig för rutindiagnostik. Det finns nu ett latexförstärkt reagens avsett för nefelometri som gör det möjligt att både ha analysen tillgänglig dygnet runt och ge snabba svar. Vi anser att analys av  $\beta$ -TP är ett användbart test vid misstanke om csv-tillblandning i sekret från näsa eller öra. Akademiska laboratoriet i Uppsala har möjlighet att utföra analysen dagligen.

## ■ Material och metod

Analys av  $\beta$ -TP utfördes med latexförstärkt reagens för nefelometri (N Latex  $\beta$ -TP, Dade Behring, Liederbach, Tyskland)

## SAMMANFATTAT

Läckage av cerebrospinalvätska till näsa eller öra är en viktig men oftast svår diagnos att ställa.

Analys av  $\beta$ -»trace«-protein (prostaglandin D-syntas),  $\beta$ -TP, gör det möjligt att påvisa förekomst av cerebrospinalvätska i nassekret.

I en tidigare publicerad studie hade analys av  $\beta$ -TP i sekret för påvisande av cerebrospinalvätska ett negativt prediktivt värde på 0,97 och ett positivt prediktivt värde på 1,00.

Analys av  $\beta$ -TP är en värdefull laboratorieanalys för rutindiagnostik av läckage från centrala nervsystemet.

och en Prospec nefelometer (Dade Behring). När antikroppar reagerar med antigen bildas immunkomplex så stora att de ger upphov till en grumlighet i provet. Nefelometri, där man mäter den grumlighet som bildas av immunkomplexen, är ett mått på hur mycket antigen som finns i provet. Metoden används i Sverige bl a för analys av C-reaktivt protein (CRP) och andra proteiner.

Total variationskoefficient för metoden är <4 procent vid en  $\beta$ -TP-koncentration på 1,27 mg/l vid analys av nassekret [9]. Inga matriseffekter noterades vid analys av nassekret [9]. Analystiden är kortare än 15 minuter.

## Prov

Proven utgjordes av serum från 20 friska blodgivare och cerebrospinalvätska från 20 patienter. Utöver detta gjordes spädningsserier av csv i serum. Nassekret från nio frivilliga friska kontroller erhöles med teknik enligt Linder och medarbetare [10]. Resultaten från nassekretsanalyserna korrigerades

**Tabell I.** Tillsats av cerebrospinalvätska till tre olika serumprov.

Cerebrospinalvätska, procent	Uppmätt värde	Beräknat värde
10	2,11	2,21
25	4,53	4,39
50	8,94	8,03
10	1,49	1,65
25	3,28	3,53
50	6,3	6,65
10	1,61	1,67
25	3,57	3,46
50	6,97	6,44

des för den utspädning som skedde på grund av provtagnings-tekniken [10].

## II Resultat

$\beta$ -TP i serum (medel 0,64 mg/l, median 0,66 mg/l, variationsvidd 0,34–2,74 mg/l) och i nässekret (medel 0,24 mg/l, median 0,21 mg/l, variationsvidd 0,03–0,61 mg/l) var klart lägre än i cerebrospinalvätska (medel 14,5 mg/l, median 13,5 mg/l, variationsvidd 3,2–29,0 mg/l). En patient med stegrad kreatininvärde hade  $\beta$ -TP i serum på 2,74 mg/l. Näst högsta värdet var 1,02 mg/l. Serumnivåerna stämmer väl överens med tidigare publicerade [9]. Vi fann ett serumprov som låg över beslutsgränsen, medan samtliga nässekretsprov klart underskred denna gräns. Alla csv-värden låg klart över beslutsgränsen på 1,3 mg/l.

Tabell I illustrerar att analyser av  $\beta$ -TP efter tillsats av 10 procent (mätt värde 2,11 mg/l; förväntat värde 2,21 mg/l), 25 procent (mätt värde 4,53 mg/l; förväntat värde 4,39 mg/l) och 50 procent (mätt värde 8,94 mg/l; förväntat värde 8,03 mg/l) csv till ett serumprov i samtliga fall visade förhöjda nivåer och god överensstämmelse med förväntat värde.

## II Diskussion

Det är viktigt att med säkerhet kunna påvisa läckage av csv. Problemet är att det inte har funnits bra rutinmetoder för att påvisa sådant läckage. Glukos har använts och används fortfarande som markör för csv-läckage [11]. Skillnaden i glukosnivåer mellan serum och csv är relativt liten, och prov från traumapatienter innehåller ofta blod eller serum, vilket försvårar tolkningen. Det gör att analysen inte bör rekommenderas då det kliniska värdet är tveksamt [12].  $\beta_2$ -transferrin är sannolikt den metod som är vanligast idag [13, 14].  $\beta_2$ -transferrin finns inte i plasma hos friska individer. Däremot kan det påvisas i plasma hos individer med högt alkoholin-tag. Individer med höga nivåer av kolhydratfattigt transferrin (CDT) har i regel också ökade nivåer av  $\beta_2$ -transferrin. Förekomst av plasma- $\beta_2$ -transferrin hos alkoholister är ett problem, då dessa patienter är överrepresenterade när det gäller skallskador.

### Komplicerad analys

Analysen av  $\beta_2$ -transferrin är också komplicerad eftersom den kräver isoelektrisk fokusering, överföring av proteinerna till nitrocellulosamembran och immunologisk detektion för att uppnå en tillräcklig känslighet om proven även innehåller transsudat av plasmaproteiner. Det gör att metoden blir tidskrävande och förhållandevis dyr. Nefelometrisk detektion av proteiner är snabb och förhållandevis billig. Det gör att man kan hålla nere både svarstider och kostnader.

Tillsammans med prealbumin, albumin och IgG är  $\beta$ -TP ett av de proteiner som finns i högst koncentration i csv. Nyligen har Dade Behring utvecklat en kommersiellt tillgäng-

lig nefelometrisk metod för bestämning av  $\beta$ -TP. Bachmanns och medarbetares studie var en retrospektiv studie av 98 individer [8]. Deras resultat visar att analys av  $\beta$ -TP i sekret är en bra markör för likvorläckage. Retrospektiva studier kan ju alltid ifrågasättas eftersom de kan medföra en bias i patientinklusionen. Läckage av csv är dock sällsynt, vilket gör att det är svårt att få ihop tillräckligt många patienter i en prospektiv studie. En sådan studie skulle också ta flera år att genomföra.

### Låga värden i vår studie

Vår studie visade låga värden av  $\beta$ -TP i nässekret och serum, värden som i allt väsentligt överensstämde med de resultat som redovisades av Arrer och medarbetare [9]. De använde sig av en brytpunktgräns på 1,31 mg/l. Även i denna studie hade man hög specificitet och sensitivitet. Stegrade  $\beta$ -TP-nivåer i serum ses vid kraftigt nedsatt njurfunktion [15]. Hemodialyspatienter hade ett medelvärde på 11,15 mg/l i serum, vilket är signifikant högre än för njurfriska kontroller [9]. Vid analys av prov från patienter med stegade kreatininnivåer eller känd njurskada bör man även analysera  $\beta$ -TP i serum för att bättre kunna bedöma nivåerna i sekret.

Vi fann några patienter med  $\beta$ -TP i csv under 10 mg/l, även om de var klart över beslutsgränsen på 1,3. En möjlig förklaring till detta är att det rörde sig om patienter med tumörer i centrala nervsystemet. Man har tidigare visat att sådana patienter ligger ungefär 50 procent under det  $\beta$ -TP-värde som ses hos andra patientgrupper [16]. Vi fann en patient med  $\beta$ -TP i serum som låg något över beslutsgränsen. Denna patient hade också förhöjda S-kreatininnivåer.

### Sammanfattning

Det finns nu en kommersiellt tillgänglig metod för att mäta  $\beta$ -trace-protein i sekret. Vi anser att metoden är ett klart framsteg vid utredning i rutinsjukvården av eventuell läckage av cerebrospinalvätska.

\*

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

### Referenser

- Har-El G. What is »spontaneous« cerebrospinal fluid rhinorrhea? Classification of cerebrospinal fluid leaks. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999;108:323-6.
- Weider DJ, Geurkink NA, Saunders RL. Spontaneous cerebrospinal fluid otorhinorrhea. *Am J Otol* 1985;5:416-22.
- Park TS, Hoffman HJ, Humphreys RP, Chuang SH. Spontaneous cerebrospinal fluid otorrhea in association with a congenital defect of the cochlear aqueduct and Mondini dysplasia. *Neurosurgery* 1982;11:356-62.
- Choi D, Spann R. Traumatic cerebrospinal fluid leakage. Risk factors and the use of prophylactic antibiotics. *Br J Neurosurg* 1996;10:571-5.
- McCormack B, Cooper PR, Persky M, Rothstein S. Extracranial repair of cerebrospinal fluid fistulas: Technique and results in 37 patients. *Neurosurgery* 1990;27:412-7.
- Bachmann G, Nekic M, Michel O. Clinical experience with beta-trace protein as a marker for cerebrospinal fluid. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109:1099-102.
- Watanabe K, Urade Y, Mader M, Murphy C, Hayaishi O. Identification of beta-trace as prostaglandin D synthase. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;203:1110-6.
- Bachmann G, Petereit H, Djenabi U, Michel O. Predictive values of beta-trace protein (prostaglandin D synthase) by use of laser-nephelometry assay for the identification of cerebrospinal fluid. *Neurosurgery* 2002;50:571-7.
- Arrer E, Meco C, Oberascher G, Piotrowski W, Albegger K, Patsch W. Beta-trace protein as a marker for cerebrospinal fluid rhinorrhea. *Clin Chem* 2002;48:939-41.
- Linder A, Ronquist G, Deuschl H. Random distribution of exoge-

- nous lithium in nasal secretion and its application in substance determination. *Acta Otolaryngol* 1983;96:287-93.
11. Bracewell A. Glucose oxidase test strips in the detection of CSF fistula. *J Laryngol Otol* 1965;79:1001-4.
  12. Jones NS, Becker DG. Advances in the management of CSF leaks. *BMJ* 2001;322:122-3.
  13. Normansell DE, Stacy EK, Booker CF, Butler TZ. Detection of beta-2 transferrin in otorrhea and rhinorrhea in a routine clinical laboratory setting. *Clin Diagn Lab Immunol* 1994;1:68-70.
  14. Blennow K, Fredman P. Detection of cerebrospinal fluid leakage by isoelectric focusing on polyacrylamide gels with silver staining using the PhastSystem. *Acta Neurochir (Wien)* 1995;136:135-9.
  15. Priem F, Althaus H, Birnbaum M, Sinha P, Conradt HS, Jung K. Beta-trace protein in serum: a new marker of glomerular filtration rate in the creatinine-blind range. *Clin Chem* 1999;45:567-8.
  16. Saso L, Leone MG, Sorrentino C, Giacomelli S, Silvestrini B, Grima J, et al. Quantification of prostaglandin D synthetase in cerebrospinal fluid: a potential marker for brain tumor. *Biochem Mol Biol Int* 1998;46:643-56.

## SUMMARY

Analysis of  $\beta$ -trace-protein detects leakage of cerebrospinal fluid – quickly, safely and cheaply

**Anders Larsson, Hans Deuschl, Mats Flodin, Gunnar Ronquist**

*Läkartidningen* 2003;100:943-5

$\beta$ -trace protein is an immunological marker for the detection of cerebrospinal fluid leakage to the nose or ear. Analysis of  $\beta$ -trace protein via a nephelometric assay is a valuable test for the identification of cerebrospinal fluid in rhinorrhea or otorrhea.

*Correspondence: Anders Larsson, Dept of Clinical Chemistry and Pharmacology, Akademiska sjukhuset, SE-751 85 Uppsala (anders.larsson@clm.uas.lul.se)*