

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Kateřina Vaverková

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Kateřina Vaverková

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví B0914P360004

**REFERENČNÍ MEZE PARAMETRŮ MOZKOMÍŠNÍHO
MOKU V DĚTSKÉM VĚKU**

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Pavel Brož, Ph.D

PLZEŇ 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl/a v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31.3.2024.

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Vaverková Kateřina

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Referenční meze parametrů mozkomíšního moku v dětském věku

Vedoucí práce: MUDr. Pavel Brož, Ph.D

Počet stran – číslované: 38

Počet stran – nečíslované: 17

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 11

Klíčová slova: mozkomíšní mok, likvor, referenční mez, celková bílkovina

Souhrn:

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou referenčních mezí mozkomíšního moku u novorozenecké populace. Práce se skládá ze dvou částí, z části teoretické a části praktické. Teoretická část se zabývá především obecným popisem mozkomíšního moku, základními vyšetřeními mozkomíšního moku, stanovením referenčních mezí a v poslední řadě také souhrnem studií, které se této problematice věnovaly. Pro část praktickou byla zpracována data z období mezi roky 2012 a 2023. Zpracování dat pro praktickou část bylo zejména statistické vyhodnocení. Výsledky jsou znázorněny v tabulkách a grafech.

Abstract

Surname and name: Vaverková Kateřina

Department: The Department of Paramedical science, Medical diagnostics studies and Public health

Title of thesis: Reference limits for cerebrospinal fluid parameters in childhood

Consultant: MUDr. Pavel Brož, Ph.D

Number of pages – numbered: 38

Number of pages – unnumbered: 17

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 11

Keywords: cerebrospinal fluid, liquor, reference limit, total protein

Summary:

This bachelor thesis deals with the issue of cerebrospinal fluid reference limits in the neonatal population. The thesis consists of two parts, a theoretical part and a practical part. The theoretical part deals mainly with a general description of cerebrospinal fluid, basic cerebrospinal fluid examinations, determination of reference limits and last but not least a summary of studies that have dealt with this issue. For the practical part, data from the period between 2012 and 2023 were processed. The data processing for the practical part was mainly a statistical evaluation. The results are shown in tables and graphs.

Předmluva

Mozkomíšni mok je klíčovým prvkem centrálního nervového systému a jeho analýza může poskytnout důležité informace o zdravotním stavu pacienta. V dětském věku je určení referenčních mezí obtížné z důvodu fyziologických rozdílů mezi dětmi a dospělými a postupným dozráváním hematoencefalické bariéry. Tato práce se zaměřuje na zhodnocení dostupných dat pro stanovení referenčních mezí.

Poděkování

Děkuji MUDr. Pavlu Brožovi za odborné vedení práce, vstřícnost, poskytování rad a materiálních podkladů.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ	12
SEZNAM OBRÁZKŮ	13
SEZNAM TABULEK	14
SEZNAM ZKRATEK	15
ÚVOD.....	16
TEORETICKÁ ČÁST	17
1 MOZKOMÍŠNÍ MOK	17
1.1 Tvorba a absorpce mozkomíšního moku.....	17
1.2 Cirkulace mozkomíšního moku.....	17
1.3 Funkce likvoru.....	18
2 VYŠETŘENÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU	18
2.1 Indikace k vyšetření.....	18
2.1.1 Statimová vyšetření	19
2.2 Vzhled mozkomíšního moku.....	19
2.3 Odběr mozkomíšního moku	20
2.4 Cytologické vyšetření.....	20
2.4.1 Stanovení počtu elementů.....	20
2.4.2 Kvalitativní cytologie	21
2.4.3 Počet bílých krvinek	21
2.4.4 Gramovo barvení	21
2.5 Základní biochemická vyšetření.....	22
2.5.1 Laktát.....	22
2.5.2 Glukóza.....	22
2.5.3 Celková bílkovina.....	23
2.6 Speciální biochemická vyšetření	23
2.6.1 Izoelektrická fokusace	23
2.6.2 Albumin.....	24
2.7 Další speciální biochemická vyšetření	25
2.7.1 Vyšetření lehkých řetězců	25
2.7.2 MRZ reakce	25
2.7.3 Myelinový bazický protein.....	25
2.7.4 Beta ₂ -mikroglobulin	25
2.7.5 Amyloid β.....	26
2.7.6 Tau protein.....	26
2.7.7 Paraneoplastické protilátky.....	26

2.8	Spektrofotometrie	26
3	REFERENČNÍ MEZE	27
3.1	Terminologie	27
3.2	Referenční osoby	27
3.3	Analýza dat	28
3.4	Referenční rozmezí	28
4	REFERENČNÍ MEZE U NOVOROZENCŮ	29
4.1	Studie, které zkoumaly hodnoty mozkomíšního moku	29
4.1.1	Počet bílých krvinek	30
4.1.2	Počet neutrofilů	31
4.1.3	Koncentrace celkové bílkoviny	31
4.1.4	Koncentrace glukózy	32
4.1.5	Shrnutí	32
4.2	Koncentrace celkové bílkoviny u dětí v jižní Číně	32
4.2.1	Kojenci do věku 56 dnů	33
4.2.2	Kojenci ve věku 2-36 měsíců	33
4.3	Studie z Philadelphie	33
4.4	Glukóza a laktát	34
4.4.1	Skupiny pacientů	34
4.4.2	Glukóza	34
4.4.3	Poměr glukózy v CSF a v plazmě	35
4.4.4	Laktát	35
	PRAKTICKÁ ČÁST	36
5	CÍL A ÚKOLY PRÁCE	36
5.1	Hlavní cíl	36
5.2	Dílčí cíle	36
6	VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY	37
6.1	Výzkumný problém 1	37
6.2	Výzkumný problém 2	37
7	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU	38
8	METODIKA PRÁCE	42
8.1	Sběr dat	42
9	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	43
9.1	Statistická analýza	43
9.2	Výsledky	44
	DISKUZE	51
	ZÁVĚR	53

SEZNAM LITERATURY.....	54
------------------------	----

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Proteinorachie všech pacientů.....	46
Graf 2 Proteinorachie u donošených novorozenců.....	47
Graf 3 Proteinorachie u nedonošených novorozenců.....	48
Graf 4 Srovnání hodnot proteinorachie u donošených a nedonošených novorozenců.....	49

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Tabulka studií..... 30

Obrázek 2 Schéma průběhu vyřazení vzorků (N = počet pacientů)..... 39

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Přehled pacientů	40
Tabulka 2 Základní parametry pacientů zařazených do analýzy.....	41
Tabulka 3 Proteinorachie u všech pacientů	44
Tabulka 4 Proteinorachie u donošených a nedonošených pacientů	44
Tabulka 5 Hodnoty upravené po vyřazení odlehlých hodnot.....	45
Tabulka 6 Referenční meze	50

SEZNAM ZKRATEK

CSF	Cerebrospinal fluid – mozkomíšní mok
CNS.....	Centrální nervová soustava
HEB.....	Hematoencefalická bariéra
MRZ reakce	Morbilli (spalničky), Rubeola (zarděnky), varicella zoster (plané neštovice) – reakce
AI	Protilátkový index
MBP.....	Myelinový bazický protein
CT	Počítačová tomografie
WBC	White blood cells – bílé krvinky

ÚVOD

Mozkomíšní mok je esenciální tekutinou, obklopující mozkomíšní tkáň a hraje klíčovou roli v udržení správné funkce centrálního nervového systému. Vyšetření mozkomíšního moku je důležité pro diagnostiku různých neurologických, infekčních, zánětlivých onemocnění anebo degenerativních stavů.

Referenční parametry jsou důležité pro interpretaci laboratorních výsledků a správné stanovení diagnózy. Tyto meze jsou určovány z populace zdravých jedinců a díky nim je možné odhalit patologické stavy.

Cílem této práce bude určit referenční meze pro koncentraci celkové bílkoviny v mozkomíšním moku u novorozenců a současně porovnat rozdíl mezi donošenými a nedonošenými novorozenci.

Teoretická část bude věnována popisu mozkomíšního moku a jak se mozkomíšní mok zpracovává. Popisuje běžné vyšetřovací metody i speciální vyšetřovací metody. Popisuje, jak se stanovují referenční meze. A v poslední kapitole jsou shrnuty výsledky jednotlivých studií.

Praktická část bude statisticky zpracovávat data a porovnávat mezi sebou populaci donošených a nedonošených novorozenců.

TEORETICKÁ ČÁST

1 MOZKOMÍŠNÍ MOK

Mozkomíšní mok je jednou z transcelulárních tekutin. V běžných případech se jedná o čirou a bezbarvou tekutinu, která je chudá na buňky, je hypoosmotická a izoosmolální. Oproti plazmě má nižší koncentraci Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , anorganických fosfátů a HCO_3^- . Naopak ionty Mg^{2+} a Cl^- jsou v mozkomíšním moku zastoupeny ve vyšší koncentraci. (Racek a Rajdl 2021)

Mozkomíšní mok (CSF) je obsažen v mozkomíšních komorách a v subarachnoidálním prostoru lebky a páteře. Objem CSF je v průměru 150 ml, z toho 25 ml se nachází v komorách a 125 ml v subarachnoidálních prostorech. Obnovuje se přibližně čtyřikrát během 24 hodin. Během stárnutí se obnova CSF zpomaluje, což vede k hromadění katabolitů, které mohou být důkazem některých neurodegenerativních onemocnění. (Sakka et al. 2011)

1.1 Tvorba a absorpce mozkomíšního moku

Zdravý dospělý člověk vyprodukuje denně přibližně 500 ml mozkomíšního moku. Asi sedmdesát procent je produkováno v cévním plexu třetí a čtvrté mozkové komory. Odtud se dostává do subarachnoidálního prostoru a proudí směrem k mozečku a mozgovým hemisférám a kaudálně směrem k míše. Je absorbován pavučnicovými klky v durálních dutinách a vrací se do žilního oběhu. (Jerrard et al. 2001)

Obecně vznik CSF probíhá intraventriculárně a subarachnoidálně. Mozkomíšní mok je v podstatě dialyzátem krve, protože asi polovina vzniká ultrafiltrací plazmy. Druhá polovina je tvořena sekrecí choroidální a extrachoroidální. (Racek a Rajdl 2021, Zima 2013)

CSF je absorbován do žilního nebo do lymfatického systému. Tvorba a absorpce mozkomíšního moku je v rovnováze. (Racek a Rajdl 2021, Zima 2013)

1.2 Cirkulace mozkomíšního moku

Cirkulace mozkomíšního moku z míst sekrece do míst absorpce závisí na mnoha faktorech. Jedním z hlavních ovlivňujících faktorů je arteriální pulzová vlna. Mezi další faktory řadíme dechové vlny, postoj pacienta, tlak v krční žíle a také fyzická námaha. (Sakka et al. 2011)

1.3 Funkce likvoru

Jednou z hlavních funkcí CSF je hydrodynamická ochrana centrální nervové soustavy. Kromě toho také napomáhá k vývoji mozku a regulaci homeostázy mozkové intersticiální tekutiny, která ovlivňuje fungování neuronů. Další funkcí mozkomíšního moku je ochrana mozku před otřesy a udržování konstantního intrakraniálního tlaku. (Jerrard et al. 2001, Sakka et al. 2011)

Mezi funkce mozkomíšního moku řadíme:

- Mechanická ochrana centrálního nervového systému (mozek a mícha)
- Ochrana před napadením patogeny (viry, bakterie)
- Drenážní funkce (nahrazuje lymfatický oběh centrálního nervového systému)
- Zásobení živinami, hormony a neurotransmitery
- Udržování homeostázy (Racek a Rajdl 2021)

2 VYŠETŘENÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU

2.1 Indikace k vyšetření

Vyšetření mozkomíšního moku může mít hned několik důvodů. Patří mezi ně diagnostika akutních infekcí, chronická infekční i neinfekční zánětlivá onemocnění CNS, diagnostika a staging nádorových onemocnění, akutní i chronické polyneuropatie, cévní mozkové příhody a degenerativní onemocnění. (Racek a Rajdl 2021)

Vyšetření, která jsou prováděna v biochemických laboratořích, můžeme rozdělit na statimová a nestatimová. Statimová by měla být prováděna vždy do hodiny od převzetí materiálu v laboratoři. Díky nim je možné diagnostikovat akutní, či životu nebezpečné stavy. (Racek a Rajdl 2021)

2.1.1 Statimová vyšetření

Po přijetí materiálu v laboratoři se posuzuje vzhled likvoru před i po centrifugaci. Dále pomocí statimového vyšetření zjišťujeme počet erytrocytů a leukocytů zahrnující diferenciaci na polynukleáry a mononukleáry. Zhotovuje se také trvalý cytologický preparát v základním barvení. Stanovuje se glukóza, laktát a celková bílkovina. Může se také provádět spektrofotometrické vyšetření, které se využívá k zjištění subarachnoidálního krvácení. (Racek a Rajdl 2021)

2.2 Vzhled mozkomíšního moku

U dospělého člověka je mozkomíšní mok bezbarvá a čirá tekutina. U novorozenců je xantochromní, má nažloutlou barvu kvůli obsahu bilirubinu. (Racek a Rajdl 2021)

Pokud je CSF zakalený, jedná se o patologický stav. Míra zákalu závisí na množství elementů obsažených v mozkomíšním moku. Při probíhajícím purulentním zánětu může být i nazelenalé barvy. Krvavé zabarvení má, když dojde ke krvácení do CSF. Pokud jde o starší krvácení, má supernatant po centrifugaci žlutou barvu (je přítomen bilirubin). Supernatant může být i hnědě zabarvený, jestliže je přítomno vyšší množství methemoglobinu. Při vysokém množství krve může dojít ke sražení odebraného vzorku likvoru. (Racek a Rajdl 2021)

Rozpadem erytrocytů a následně pigmentů jako je oxyhemoglobin, methemoglobin a bilirubin dojde ke změně barvy supernatantu. Červené krvinky podléhají v mozkomíšním moku lýze za 2-4 hodiny. Oxyhemoglobin může být přítomen v mozkomíšním moku několik dní. Bilirubin může přetrvávat až celý měsíc. (Jerrard et al. 2001)

Červené krvinky se do mozkomíšního moku mohou dostat buď při subarachnoidálním krvácení nebo při traumatické lumbální punkci. Původ přítomných červených krvinek lze rozlišit tak, že při arteficiální příměsi erytrocytů je jejich množství mezi první a poslední odebranou zkumavkou výrazně nižší. Supernatant je většinou bez xantochromního zabarvení, pokud je vzorek do jedné hodiny odstředěn. (Jerrard et al. 2001)

Falešná xantochromie se může vyskytnout při hyperbilirubinémii. V tomto stavu může dojít k přestupu sérového bilirubinu do mozkomíšního moku, zejména při porušení hematoencefalické bariéry. K falešně pozitivní xantochromii může docházet u jedinců s hyperkarotenémií nebo pacientů užívajících rifampicin. (Jerrard et al. 2001)

2.3 Odběr mozkomíšního moku

Mozkomíšní mok se většinou odebírá pomocí lumbální punkce ze subarachnoidálního prostoru. Mícha u dospělých končí v úrovni L1/L2 (u dětí L2/L3). Aby nedošlo k poškození míchy se jehla pro lumbální punkci zavádí v oblasti L4/L5. Pokud je třeba opakovat odběr, je možné odebrat vzorek výše, bez poškození míchy. Běžně se odebírá po 1,5 ml mozkomíšního moku do každé ze čtyř zkumavek. Během odběru se hledí na tlak, pod kterým mozkomíšní mok vytéká a jestli se vzorek ve zkumavce postupně čerí. (Racek a Rajdl 2021, Kala a Mareš 2008, Jerrard et al. 2001)

Vzorky se poté odesílají na jednotlivá vyšetření. Nejčastěji na vyšetření koncentrace glukózy, celkové bílkoviny, laktátu, počet leukocytů, barvení podle Grama a kultivaci. Doplňující vyšetření mohou být na kultivaci plísní a mykobakterií. Také se může využívat test latexové aglutinace (LA), kterým se zjišťují specifické bakteriální a kryptokokové antigeny. LA se provádí podle okolností případu pacienta. (Jerrard et al. 2001)

2.4 Cytologické vyšetření

Vždy se provádí stanovení počtu jednotlivých buněk, vyhodnocuje se jejich morfologie. Stanovuje se počet leukocytů a erytrocytů s diferenciací leukocytů na polynukleáry a mononukleáry, tedy elementy se segmentovaným a nesegmentovaným jádrem. Trvalý cytologický preparát by měl být vytvořen maximálně do dvou hodin od odběru. (Racek a Rajdl 2021)

Nedostatečný objem nabraňého vzorku mozkomíšního moku, ale i místo odběru vzorku na těle pacienta, může zapříčinit falešně negativní cytologii. (Jerrard et al. 2001)

2.4.1 Stanovení počtu elementů

Pro stanovení počtu elementů v mozkomíšním moku se používá komůrka dle Fuchs-Rosenthala. Počet jaderných elementů, včetně diferenciaci na polynukleáry a mononukleáry, se nejčastěji stanovuje po obarvení kyselým fuchsinem. Diferenciaci je možno provádět v komůrce dle Fuchs-Rosenthala anebo v trvalém cytologickém preparátu provedeném v základním barvení. Stanovení počtu erytrocytů se provádí v nativním, tedy nebarveném mozkomíšním moku. (Racek a Rajdl 2021)

2.4.2 Kvalitativní cytologie

Kvalitativní cytologie mozkomíšního moku se provádí po zahuštění vzorku cytocentrifugací. K hodnocení se používá trvalý preparát v základním barvení, obvykle dle Pappenheima. Toto barvení se používá v hematologii k barvení nátěrů periferní krve a punktátů kostní dřeně. (Racek a Rajdl 2021)

U dospělého člověka se v mozkomíšním moku vyskytují za fyziologického stavu pouze mononukleáry (lymfocyty). Pokud se v likvoru vyskytují plazmocyty nebo makrofágy, jedná se o patologický stav. Oproti dospělým mohou mít novorozenci v mozkomíšním moku obsaženu až polovinu aktivovaných elementů. (Racek a Rajdl 2021)

Nejčastěji obsažené elementy granulocytární řady, jsou neutrofilní granulocyty (typické pro purulentní záněty). Eozinofilní granulocyty se mohou v mozkomíšním moku vyskytovat po neurochirurgických výkonech nebo při parazitárních či mykotických infekcích. Bazofilní granulocyty jsou v CSF velkou vzácností. (Racek a Rajdl 2021)

2.4.3 Počet bílých krvinek

V akutní fázi onemocnění se zjišťuje množství bílých krvinek. Podle množství bílých krvinek se určuje přítomnost nebo nepřítomnost meningitidy. V prvním týdnu života osahuje mozkomíšní mok přibližně 8 leukocytů/cm³. U zdravého dospělého člověka se počet pohybuje v rozmezí 0-5 leukocytů/cm³. Pokud má dítě febrilní záchvat i přesto, že není přítomna žádná infekce CNS, může vznikat pleocytóza neboli výskyt velkého množství buněk v mozkomíšním moku. (Jerrard et al. 2001)

Mezi neinfekční příčiny zvýšeného počtu leukocytů patří hemoragický infarkt, intracerebrální hematoma, subarachnoidální krvácení nebo opakovaná lumbální punkce. Zvýšený počet leukocytů mohou také ovlivnit léky, zejména sulfonamidy a nesteroidní protizánětlivé léky. (Jerrard et al. 2001)

2.4.4 Gramovo barvení

Pomocí mikroskopického vyšetření mozkomíšního moku nabarveného podle barvení dle Grama lze vyšetřit přítomnost infekce nebo typ přítomného mikroorganismu. V případě bakteriální meningitidy je Gramovo barvení pozitivní zhruba v 80 %. Cytocentrifugací lze zvýšit schopnost detekovat bakterie ve vzorku. Jedná se o techniku, která je účinnější než běžná centrifugace. Falešně negativní výsledky se vyskytují u pacientů s částečně léčenou meningitidou nebo u pacientů léčených antibiotiky. (Jerrard et al. 2001)

2.5 Základní biochemická vyšetření

2.5.1 Laktát

Produktem anaerobního metabolismu je laktát a jeho koncentrace v mozkomíšním moku není závislá na plazmatické koncentraci. Zvýšená koncentrace laktátu v mozkomíšním moku může být klinicky významná a může být pozorována u některých onemocnění, jako je například ischemický iktus, subarachnoidální krvácení nebo maligní infiltrace centrálního nervového systému. Vyšetření koncentrace laktátu v mozkomíšním moku je také důležité pro rozlišení purulentního a serózního zánětu. Referenční meze jsou stanoveny v rozmezí 1,2-2,2 mmol/l. Pokud je překročena mez 3,9 mmol/l, s největší pravděpodobností se jedná o purulentní zánět. Hladina laktátu je nejvíce specifická pro určení přítomnosti purulentního zánětu oproti glykorachii a proteinorachii. (Racek a Rajdl 2021)

2.5.2 Glukóza

Koncentrace glukózy v mozkomíšním moku se označuje glykorachie. Glukóza se pomocí difuze dostává do mozkomíšního moku přes hematoencefalickou bariéru. Hodnota fyziologické koncentrace v mozkomíšním moku je přibližně dvě třetiny oproti koncentraci v krevní plazmě. Hematoencefalická bariéra společně s difuzí není plně funkční do 4-8 týdnů po narození, proto je v tomto období koncentrace glukózy závislá na věku. (Jerrard et al. 2001, Racek a Rajdl 2021)

Vyšší koncentrace není příliš významná. Klinicky významnější je snížená koncentrace. Typická je pro záněty, nádorová onemocnění CNS, či subarachnoidální krvácení. U encefalitid a většiny virových meningitid jsou obvykle hodnoty glukózy normální. Některé virové infekce centrálního nervového systému, jako je herpes, příušnice, cytomegalovirus a lymfocytární choriomeningitida, jsou spojovány se sníženou koncentrací glukózy. Hypoglykorachie je u bakteriálních meningitid způsobena anaerobním metabolismem glukózy množících se bakterií, fagocytujícími leukocyty nebo poruchami transportního systému glukózy. (Jerrard et al. 2001, Racek a Rajdl 2021)

2.5.3 Celková bílkovina

Proteinorachie je koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku, která je asi 150krát nižší než koncentrace v krevní plazmě. U novorozenců je koncentrace mnohem vyšší, protože nemají dostatečně dovyvinutou HEB. Horní referenční mez je stanovena na 0,6 g/l. (Racek a Rajdl 2021)

Normální rozmezí bílkovin v mozkomíšním moku u dospělého člověka je 0,15-0,45 g/l. Mezi základní bílkoviny mozkomíšního moku řadíme albumin, transferin, imunoglobulin a další globuliny a enzymy. Zvýšenou hladinu bílkovin můžeme pozorovat při zánětlivých procesech v CNS. Hladina celkové bílkoviny překračující 1,5 g/l je často pozorovatelná při bakteriální meningitidě. Zvýšená hladina může být též u virové meningitidy. Pokud je pacient postižen kryptokokovou nebo mykobakteriální meningitidou hodnoty celkové bílkoviny se mohou pohybovat od 0,3 g/l do 15 g/l. (Jerrard et al. 2001)

Další příčinou zvýšené celkové bílkoviny v mozkomíšním moku může být subarachnoidální krvácení, vaskulitida centrálního nervového systému, syfilis, novotvary, abscesy nebo syndromy demyelinizace. Hladinu bílkovin mohou také zvýšit některé léky nebo etanol. (Jerrard et al. 2001)

2.6 Speciální biochemická vyšetření

Speciální biochemická vyšetření se nejčastěji používají k diagnostice roztroušené sklerózy nebo neurodegenerativních onemocnění. (Racek a Rajdl 2021)

2.6.1 Izoelektrická fokusace

Elektroforetické vyšetření je vyšetření, které podle izoelektrických bodů dělí bílkoviny podle gradientu pH. Tento proces umožňuje oddělit bílkoviny podle jejich náboje a velikosti. Vyšetření izoelektrickou fokusací se používá jako diagnostický nástroj při podezření na roztroušenou sklerózu a může být použito jako doplňkové vyšetření k potvrzení diagnózy. Při vyšetřování můžeme naměřit 5 základních typů nálezů. (Racek a Rajdl 2021)

- „Typ 1 – fyziologický nále, v likvoru ani v séru nejsou žádné pásy“ (Racek a Rajdl 2021)
- „Typ 2 – v likvoru se vyskytují pásy, které nejsou přítomny v séru, tedy není přítomen sérový korelát (nále, typický u pacientů s roztroušenou sklerózou)“ (Racek a Rajdl 2021)
- „Typ 3 – v likvoru i v séru jsou přítomny pásy, některé z likvorových se vyskytují též v séru, některé však ne (nále, u pacientů s roztroušenou sklerózou, ale též u pacientů s infekcemi CNS, popř. systémovými infekcemi)“ (Racek a Rajdl 2021)
- „Typ 4 – v likvoru i v séru jsou přítomny souhlasné, korelující pásy (např. u systémových zánětů)“ (Racek a Rajdl 2021)
- „Typ 5 – v likvoru i séru jsou přítomny souhlasné, korelující pásy, ale jsou nahuštěny blízko u sebe (jedná se o nále, typický pro pacienty s monoklonální gamapatií)“ (Racek a Rajdl 2021)

2.6.2 Albumin

Albumin vzniká v játrech a je jednou z nejvýznamnějších bílkovin, která se nachází v organismu. Jeho koncentrace v mozkomíšním moku je podstatně nižší než v séru, protože se do CSF dostává přes hematoencefalickou bariéru. Při poruše HEB může být zvýšená koncentrace bílkovin včetně albuminu. (Racek a Rajdl 2021)

Míru poruchy hematoencefalické bariéry můžeme rozdělit do tří úrovní. Mírné poškození může být v důsledku chronické infekce nebo roztroušené sklerózy. Střední poškození způsobují záněty (především serózního charakteru). Následkem purulentních zánětů nebo herpetické encefalidity dochází většinou k těžkému poškození hematoencefalické bariéry. (Racek a Rajdl 2021)

Funkce HEB se určuje pomocí podílu změřeného albuminu v CSF a albuminu v séru, která se značí Q_{Alb} . Výsledná hodnota funkce HEB je závislá na věku pacienta. HEB je většinou po narození málo vyvinutá, proto je hodnota Q_{Alb} v tomto období poměrně vysoká. Poté tato hodnota klesá. (Racek a Rajdl 2021)

2.7 Další speciální biochemická vyšetření

2.7.1 Vyšetření lehkých řetězců

Mezi další vyšetření mozkomíšního moku patří posouzení volných lehkých řetězců. Ty se vyšetřují zejména při diagnostice roztroušené sklerózy. Tato vyšetření jsou rychlá, automatizovaná, kvantitativní, avšak nemají příliš velkou výpovědní hodnotu. (Racek a Rajdl 2021)

2.7.2 MRZ reakce

Roztroušenou sklerózu lze vyšetřit pomocí MRZ reakce. Protilátkový index (AI) vyjadřuje syntézu specifických protilátek IgG proti virům, které mají afinitu k nervové tkáni. Konkrétně se jedná o viry spalniček (M – morbilli), zarděnek (R – rubeola) a planých neštovic (Z – varicella zoster). Reakce MRZ se nazývá podle latinských názvů jednotlivých virů. Pacienti s roztroušenou sklerózou mají zvýšenou hodnotu protilátkového indexu. Na základě tvorby specifických protilátek proti vyvolávajícímu agens, se vytváří také protilátky s afinitou k nervové tkáni a protilátky proti strukturám centrální nervové soustavy. (Racek a Rajdl 2021)

2.7.3 Myelinový bazický protein

Jedná se o bílkovinu, která je obsažena v myelinu. V publikovaných studiích byla podrobně analyzována existence protilátek proti MBP u jedinců s roztroušenou sklerózou, a to v kontextu jejich spojení s úrovní neurologického poškození a fází onemocnění. Studie ukázaly, že největší koncentrace protilátek proti MBP byla ve stádiu akutní exacerbace onemocnění. (Racek a Rajdl 2021)

2.7.4 Beta₂-mikroglobulin

Jedním z proteinů hlavního histokompatibilního komplexu I. třídy je mikroprotein beta₂-mikroglobulin. Významné je pro něj stanovení v séru, ale i v mozkomíšním moku. Prezentuje se především na buňkách lymfocytární řady, ale můžeme ho najít i na ostatních buňkách lidského těla. Pokud je jeho hladina zvýšená, pravděpodobně se může jednat o zánět serózního charakteru nebo o nádory bílé krevní řady. Může být zvýšen i u dalších onemocnění. (Racek a Rajdl 2021)

2.7.5 Amyloid β

Amyloid β tvoří hlavní složku plaků u pacientů s Alzheimerovou chorobou. Amyloidové plaky se vyskytují ve dvou formách, amyloid β 1-42 a amyloid β 1-40. Několik výzkumů prokázalo, že může být snížena koncentrace amyloidu β 1-42 v mozkomíšním moku u pacientů s Alzheimerovou chorobou. Často se také zjišťuje poměr amyloidů β 1-42 a β 1-40. (Racek a Rajdl 2021)

2.7.6 Tau protein

Protein, který se běžně vyskytuje v nervové tkáni. Pokud dochází k destrukci nervové tkáně, zvyšuje se jeho koncentrace v mozkomíšním moku. Vyšetřuje se většinou v kombinaci τ -protein a $A\beta$ 1-42. Zvýšené koncentrace těchto markerů se mohou vyskytovat ještě před klinickou manifestací Alzheimerovy choroby. (Racek a Rajdl 2021)

2.7.7 Paraneoplastické protilátky

Nádorové buňky produkují proteiny, proti kterým tvoří organismus paraneoplastické protilátky, které patří mezi IgG protilátky. Protilátky se mohou tvořit také proti nervovým strukturám, a to vede ke vzniku paraneoplastických syndromů, které jsou spojovány s určitými nádory. Protilátky anti-Hu jsou typické pro malobuněčný karcinom plic. Protilátky anti-Yo zase pro karcinomy prsu, vaječníku nebo dělohy. (Racek a Rajdl 2021)

2.8 Spektrofotometrie

Vyšetření mozkomíšního moku se postupně zdokonaluje. K velkému rozvoji došlo u zobrazovacích metod, proto se již spektrofotometrie používá velmi málo. Nejčastěji se spektrofotometrie používá při podezření na subarachnoidální krvácení. Běžně se provádí CT hlavy, ale pokud vyjde negativní výsledek a je stále podezření na krvácení, používá se právě spektrofotometrie. Vyšetření je relativně náročné na preanalytické podmínky, vzorek by měl být doručen rychle do laboratoře. Provádí se u nativního vzorku, který je často třeba stočit v centrifuze. Zhotovuje se křivka absorbance mezi vlnovými délkami 350-700 nm. Spektrofotometrická křivka je za fyziologických podmínek plochá. (Racek a Rajdl 2021)

Pokud jde o časně krvácení, určuje se přítomnost oxyhemoglobinu, který má absorpční maximum při 415 nm a při 540 a 580 nm je možné pozorovat další vychýlení od fyziologické spektrofotometrické křivky. Dále je posuzována přítomnost bilirubinu. Bilirubin tvoří plochý vrchol při 430-460 nm. Bilirubin je přítomen při starším krvácení, které nastalo před dobou delší než 10 hodin. Bilirubin je vhodnější odečítat při 476 nm vzhledem k tomu, že může být přítomen právě bilirubin s již zmíněným oxyhemoglobinem.

Dalším produktem, který se může určovat spektrofotometricky je methemoglobin. Pokud je jeho koncentrace výrazně zvýšena, způsobuje hnědé zbarvení mozkomíšního moku. (Racek a Rajdl 2021)

3 REFERENČNÍ MEZE

3.1 Terminologie

Pro určování referenčních mezí, je dobré znát určité termíny, které byly schváleny a standardizovány organizacemi, jako jsou Mezinárodní rada pro standardizaci v hematologii a Světová zdravotnická organizace.

- Referenční hodnota – hodnota analytu, která byla získána během měření pro určování referenčního rozmezí
- Referenční rozdělení – rozdělení referenčních hodnot
- Referenční osoba – osoba, která byla vybrána na základě určitých kritérií
- Referenční populace – skupina obsahující soubor referenčních osob
- Referenční interval – rozmezí mezi dolním a horním referenčním limitem
- Referenční limity – odvozená z referenčního rozdělení
- Referenční hodnoty – hodnota získaná pozorováním nebo měřením na referenčním jedinci (Henny et al. 2016)

3.2 Referenční osoby

Vybírají se „zdraví“ jedinci. Ovšem pojem zdravý jedinec se nedá jednoznačně určit, proto se spíše využívá označení referenční populace. Mezi „zdravé“ jedince můžeme počítat hospitalizované pacienty, kteří ale nemají chorobu, která by ovlivňovala parametr, u kterého chceme určit referenční rozmezí. Dále sem můžeme řadit dobrovolné dárce krve, u kterých se počítá s tím, že jsou zdraví. Tato skupina je ale limitována věkem, a tedy zahrnuje pouze jedince ve věku 18-60 let. Uvádí se, že pro přesnější výsledky výpočtu referenčních limitů je potřeba dosáhnout minimálně 120 výsledkových hodnot. Počet hodnot ovlivňuje přesnost výpočtu limitů. (Henny et al. 2016, Racek a Rajdl 2021)

Při výběru jedince pro zařazení do analýzy, je nutné vzít v úvahu vše, co může ovlivnit koncentraci analytu. Mezi takovéto proměnné musíme zařadit věk, pohlaví, prostředí, životní styl, etnický původ. Například při určení množství hemoglobinu je kromě věku a pohlaví důležitá také nadmořská výška nebo kuřácké návyky. (Ceriotti et al. 2009)

3.3 Analýza dat

Pro stanovení referenčních limitů se využívají tři různé statistické metody, které jsou mezinárodně uznávané a to parametrická, neparametrická a robustní metoda. V různých zdrojích je popsáno mnohem více statistických metod, ale ty se spíše nepoužívají a při jejich sestavování je potřeba asistence zkušených statistiků. (Henny et al. 2016)

Parametrická metoda se používá pro populace, které mají Gaussovské rozložení. Pokud rozložení není Gaussovské, musí se výsledky normalizovat a posléze ověřit, zda odpovídají normálnímu rozdělení. U parametrické metody se určuje průměr a směrodatná odchylka. Dnes se tato metoda spíše nepoužívá. Pro neparametrickou metodu je důležitý počet referenčních jedinců. Ten by se měl pohybovat nad 120 jedinci. Důležitý je také jejich výběr. Poslední mezinárodně uznávanou metodou je robustní metoda. Využívá se, když je počet pacientů omezený a není potřeba Gaussovské rozložení. Na rozdíl od parametrické metody se u této metody měří poloha a rozptyl. (Henny et al. 2016)

3.4 Referenční rozmezí

Jedná se o interval mezi dolní referenční mezí a horní referenční mezí. Pokud máme hodnoty zdravé populace (100 %), vždy je 5 % hodnot mimo referenční rozmezí. Tedy 2,5 % je pod dolní referenční mezí a 2,5 % nad horní referenční mezí. Je-li rozložení zdravé populace Gaussovské, používáme parametrickou metodu. Referenční rozmezí je značené jako průměr, plus mínus dvě směrodatné odchylky. Pokud je rozložení „nenormální“ používá se metoda neparametrická. Výsledné hodnoty se seřadí vzestupně a oddělíme 2,5 % dole a nahoře. (Racek a Rajdl 2021)

4 REFERENČNÍ MEZE U NOVOROZENCŮ

Pokud je na pohotovosti přijato malé dítě nebo febrilní novorozenec, musí být provedeno několik základních vyšetření. K diagnostice meningitidy nebo encefalitidy patří základní vyšetření jako je lumbální punkce a následná analýza mozkomíšního moku. Kliničtí lékaři vždy vyžadují barvení dle Grama, kultivaci, zprávu o počtu buněk CSF, koncentraci glukózy a koncentraci celkové bílkoviny. Pokud chce lékař správně interpretovat výsledek, měl by znát referenční hodnoty. U dospělých je referenční hodnota pro koncentraci celkové bílkoviny stanovena na 0,15-0,45 g/l. Koncentrace celkové bílkoviny u novorozence je obvykle dvakrát až třikrát vyšší než u dospělého člověka a s rostoucím věkem koncentrace celkové bílkoviny klesá. Nejrychlejší pokles nastává v prvních šesti měsících života, kdy dochází k dozrávání hemtoencefalické bariéry. (Shah et al. 2011)

4.1 Studie, které zkoumaly hodnoty mozkomíšního moku

Neexistují přesné hodnoty, které by určovaly přesné referenční meze pro dané parametry mozkomíšního moku, proto již bylo provedeno několik studií, aby se daly spolehlivěji definovat normální hodnoty mozkomíšního moku u novorozenců. (Zimmermann a Curtis 2021)

Bylo prováděno několik studií. V roce 2020 byly prohledány databáze, jako MEDLINE a EMBASE, v rozpětí let 1946 až 2020. Postupně byly vyhledány a vyloučeny ty studie, které nezahrnovaly molekulární diagnostiku k vyloučení enterovirové infekce. Dále byly vyřazeny ty, které zahrnovaly novorozence, kterým byla před lumbální punkcí podána antibiotika nebo jejichž součástí byli novorozenci se základními onemocněními nebo s mozkomíšními zkraty. Vyřazeny byly také studie, kde byl mozkomíšní mok odebrán jinak než lumbální punkcí. Z celkového počtu nalezených studií (1500), splňovalo pouze devět daná kritéria, pro zařazení do konečné analýzy. Z devíti uvedených studií byly dvě se stejnou skupinou novorozenců a dvě uváděly stejné nálezy v jiných jazycích. Proto je tedy počítáno se sedmi studiemi. Studie dohromady zahrnují 270 donošených a 96 předčasně narozených dětí. Počet pacientů v jednotlivých studiích se pohyboval od 19 do 108 (průměr 52, medián 43). Čtyři studie byly prováděny v Brazílii, dvě v USA a jedna ve Španělsku. Shrnutí a výsledky jsou v následující tabulce. (Zimmermann a Curtis 2021)

Obrázek 1 Tabulka studií

Author Country Publication year	Neonates, n Sex	Characteristics Inclusion criteria	WBC count in cells/ μ L Mean \pm SD 95% CI Range Median IQR	Neutrophil count in cells/ μ L Mean \pm SD 95% CI Range Median IQR	Protein concentration in mg/dL Mean \pm SD 95% CI Range Median IQR	Glucose concentration in mg/dL (CSF/blood glucose) Mean \pm SD 95% CI Range Median IQR	Other findings
<i>Preterm neonates</i>							
Diniz et al. [8] De Albuquerque et al. [9] Brazil, 1982	43 40% male	Asymptomatic preterm neonates <37 wk (mean 33.2 \pm 2.0)	<i>Day 7 of life</i> (n = 43) 7.6 \pm 5.0 ns 1.0–23.0 ns ns <i>Day 28 of life</i> (n = 30) 3.9 \pm 2.4 ns 1.0–13.0 ns ns	<i>Day 7 of life</i> (n = 43) 2.1 \pm 4.7 ns ns ns <i>Day 28 of life</i> (n = 30) 1.9 \pm 2.45 ns ns ns	ns ns ns	<i>Day 7 of life</i> (n = 43) 57.5 \pm 14.3 ns 35.0–88.0 ns ns <i>Day 28 of life</i> (n = 30) 54.2 \pm 10.3 ns 42.0–75.0 ns ns	
Vaz et al. [10, 11] Brazil, 1977	53 ¹ 43% male	Asymptomatic preterm neonates <37 wk (mean 33.8 \pm 2.3)	<i>Day 2 of life</i> 4.0 \pm 3.6 3.0–5.0 0–16.0 2.7 3.3	<i>Day 2 of life</i> 0.3 \pm 0.4 0.2–0.4 0–1.4 0.1 4.0	<i>Day 2 of life</i> 144.6 \pm 48.1 131.3–157.9 52.0–300.0 144.0 72.5	<i>Day 2 of life</i> 51.6 \pm 18.3 46.6–56.6 17.0–162.0 49.0 10.0	No correlation between RBC and protein concentration (p = 0.21) ²
<i>Term neonates</i>							
Martin-Ancel et al. [12] Spain, 2006	19 40% male	Asymptomatic neonates in whom toxoplasmosis was excluded Atraumatic LP (<1,000 RBC/ μ L)	<i>Day 0 to 8 of life</i> 1.5 \pm 1.7 0.6–2.3 0–5.0 1.0 2.0	ns	ns	ns	
Wong et al. [13] USA, 2000	43 ² Sex ns	Evaluation for neurological disease including meningitis Atraumatic LP (<200 RBC/ μ L) Viral and bacterial CSF cultures negative Enterovirus CSF PCR negative No neurological or system illness	ns	ns	ns	ns	
Ahmed et al. [14] USA, 1996	108 56% male	Evaluation for possible meningitis Atraumatic LP (<1,000 RBC/ μ L) No AB before LP Blood, CSF, and urine cultures negative CSF viral culture negative CSF PCR for enteroviruses negative	<i>Day 0 to 30 of life</i> 7.3 \pm 13.9 6.6–8.0 0–130.0 4.0 ns	<i>Day 0 to 30 of life</i> 0.8 \pm 6.2 ns 0–65.0 0 ns	ns	<i>Day 0 to 30 of life</i> 51.2 \pm 12.9 (62%) ns ns ns ns	No difference in WBC or glucose concentration between week 1 and 4 (p > 0.05) Neutrophil counts and protein concentration were higher in weeks 1 and 2 than weeks 3 and 4 (p < 0.05)
Luz et al. [15] Brazil, 1975	79 67% male	Healthy term neonates	<i>Day 2 of life</i> (n = 79) 4.4 \pm 3.8 3.5–5.3 0–22.0 3.7 3.3 <i>Day 7 of life</i> (n = 40) 4.4 \pm 3.3 3.3–5.5 1.0–15.0 3.2 3.4	ns ns	ns ns	ns ns	No difference between means of WBC and protein concentration at day 2 and day 7 (p = 0.96, p = 0.66) ³ Mean RBC higher on day 2 than day 7 (p = 0.01) ³
Livramento et al. [16] Brazil, 1974	21 Sex ns	Healthy term neonates (screened for bilirubin concentration in CSF)	<i>Day 2 to 7 of life</i> 5.4 \pm 2.4 4.3–6.5 1.0–11.0 5.0 3.0	<i>Day 2 to 7 of life</i> 2.9 \pm 4.1 1.0–4.8 0–17.0 2.0 4.0	ns	ns	

AB, antibiotics; ns, not specified; CI, confidence interval; RBC, red blood cell; IQR, interquartile range; SD, standard deviation; LP, lumbar puncture; WBC, white blood cell; CSF, cerebrospinal fluid; PCR, polymerase chain reaction; wk, week. ¹One neonate was excluded because RBC >1,000/ μ L. ²Included neonates up to the age of 2 months. ³Calculated from reported data.

Zdroj: (Zimmermann a Curtis 2021)

4.1.1 Počet bílých krvinek

Dvě studie se zabývaly počtem bílých krvinek v CSF u předčasně narozených dětí. Uváděly rozmezí 0-23 buněk/ μ L v prvním týdnu života a 1-13 buněk/ μ L v jednom měsíci života. V jedné studii se uvádí, že z průměrné hodnoty 7,6 buněk/ μ L klesl počet bílých krvinek na hodnotu 3,9 buněk/ μ L během jednoho měsíce. Z druhé studie vyplývá, že průměrný počet bílých krvinek je 4,0 buněk/ μ L již ve druhém dni života. (Zimmermann a Curtis 2021)

Čtyři studie se věnovaly počtu bílých krvinek u donošených dětí. Rozmezí bylo stanoveno na 0-130 buněk/ μ l, přičemž průměrné rozmezí bylo 1,5-7,3 buněk/ μ l. Mezi druhým a sedmým dnem života nebyl zjištěn žádný rozdíl v počtu WBC. V jedné studii byly zahrnuti 2 novorozenci s velmi vysokou hodnotou WBC (130,0 a 62,0 buněk/ μ l), u ostatních jedinců byl nejvyšší počet 28,0 buněk/ μ l. (Zimmermann a Curtis 2021)

Průměrný počet bílých krvinek v mozkomíšním moku u předčasně narozených dětí byl 4,0 buněk/ μ l a 4,2 buněk/ μ l u donošených novorozenců. 95. percentil pro předčasně narozené novorozence byl 12,0 buněk/ μ l a u donošených dětí 10,0 buněk/ μ l. (Zimmermann a Curtis 2021)

4.1.2 Počet neutrofilů

Pro zjištění počtu neutrofilů byly použity čtyři studie, z toho dvě zahrnovaly předčasně narozené novorozence a dvě donošené novorozence. První dvě studie zahrnovaly 96 předčasně narozených dětí. Průměrný počet neutrofilů byl stanoven na 5,0 buněk/ μ l. Naměřené výsledky se pohybovaly v rozmezí 0-34,0 buněk/ μ l. Zbylé dvě studie zahrnovaly 129 donošených novorozenců. Průměrná hodnota byla 2,9 buněk/ μ l. Výsledky se pohybovaly v rozmezí 0-65,0 buněk/ μ l. Pacient s hodnotou neutrofilů 65 buněk/ μ l měl také vysoký počet WBC 130 buněk/ μ l, proto byl ze studie vyloučen. Ve statistice se poté počítá s rozmezím neutrofilů 0-17,0 buněk/ μ l. V prvním a druhém týdnu byly hodnoty počtu neutrofilů v mozkomíšním moku vyšší než v třetím a čtvrtém týdnu. 95. percentil pro počet neutrofilů v CSF byl 16,0 buněk/ μ l u nedonošených novorozenců a 8,0 buněk/ μ l u donošených novorozenců. (Zimmermann a Curtis 2021)

4.1.3 Koncentrace celkové bílkoviny

Pro zkoumání koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku byly využity opět čtyři studie, ale pouze jedna zahrnovala předčasně narozené novorozence. Koncentrace celkové bílkoviny byla u donošených novorozenců oproti předčasně narozených novorozenců nižší. U donošených dětí byla průměrná hodnota koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku 71,4 mg/dl. Hodnoty proteinorachie se pohybovaly v rozmezí 19,0-140,0 mg/dl. U předčasně narozených novorozenců byla průměrná hodnota proteinorachie 144,6 mg/dl a pohybovaly se v rozmezí 52,0-300,0 mg/dl. 95. percentil pro koncentraci celkové bílkoviny v mozkomíšním moku byl 210,0 mg/dl u nedonošených novorozenců a 110,2 mg/dl u donošených novorozenců. (Zimmermann a Curtis 2021)

4.1.4 Koncentrace glukózy

Při výzkumu byly porovnávány tři studie. Z toho dvě zahrnovaly předčasně narozené děti. Nebyl zjištěn žádný rozdíl koncentrací mezi předčasně narozenými a donošenými novorozenci. Studie zahrnující nedonošené novorozence uváděly průměrné hodnoty 57,5 a 51,6 mg/dl glukózy. U donošených dětí vyšla průměrná koncentrace glukózy 51,2 mg/dl. Hodnoty koncentrace glukózy u nedonošených novorozenců se pohybovaly v rozmezí 35,0-162,0 mg/dl. U donošených dětí nebyl zjištěn žádný rozdíl mezi koncentracemi glukózy mezi prvním a čtvrtým týdnem života. Pátý percentil pro koncentraci glukózy v CSF byl stanoven na 32,0 mg/dl. (Zimmermann a Curtis 2021)

4.1.5 Shrnutí

Pokud bychom chtěli nějakým způsobem vyjádřit přesné referenční meze mozkomíšního moku u novorozenců, bylo by to velmi náročné. Normální rozmezí parametrů mozkomíšního moku u novorozenců je jiné než u starších dětí. Pokud vezmeme v potaz gestační a chronologický věk, dochází jen k malým rozdílům v koncentraci bílých krvinek a glukózy. Oproti tomu velký rozdíl mezi koncentracemi nastává u koncentrace celkové bílkoviny, počtu neutrofilů a počtu červených krvinek. Samotné parametry vyšetřované v mozkomíšním moku nejsou spolehlivé. Aby bylo možné vyloučit meningitidu, je potřebné provést virovou molekulární diagnostiku a kultivaci. (Zimmermann a Curtis 2021)

4.2 Koncentrace celkové bílkoviny u dětí v jižní Číně

V důsledku dozrávání hematoencefalické bariéry klesají hodnoty koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšního moku během několika prvních měsíců života. (Liu et al. 2019)

Studie byla prováděna retrospektivně na oddělení pediatrie Foshan Women and Children Hospital, která je přidružená k Southern Medical University, China. Do studie byly zařazeny děti z období od 1. ledna 2008 do 31. května 2018, u kterých byla provedena lumbální punkce. Následně byla data pacientů retrospektivně přezkoumána a postupně byli vyřazeni pacienti, kterým chyběla jakákoliv složka profilu CSF. Následně bylo potřeba vyloučit pacienty s traumatickou lumbální punkcí, dále u kterých byla přítomna pinocytóza a nedonošení novorozenci. Dále byli vyřazeni pacienti s diagnózou spojenou s vyšší hladinou celkové bílkoviny (bakteriální infekce, hydrocefalus, vrozená infekce, mrtvice...). Vyloučit bylo potřeba i pacienty s akutním nebo chronickým systémovým onemocněním. CSF byl analyzován na dvou přístrojích Beckman AU640 a AU5821. Pacienti byli rozřazeni

do několika věkových skupin, které byly následně rozděleny do dvou skupin. Celková počet pacientů splňující podmínky byl 1043 (28,1 % všech pacientů). (Liu et al. 2019)

4.2.1 Kojenci do věku 56 dnů

Střední hodnota koncentrace celkové bílkoviny pro celou skupinu byla 62 mg/dl. Koncentrace celkové bílkoviny byla u novorozenců do 28. dne života vyšší, než u kojenců od 29. do 60. dne života. Střední koncentrace celkové bílkoviny v CSF klesla během osmi týdnů z hodnoty 75 mg/dl na 47,0 mg/dl. Ve věku do 28. dne byla střední hodnota 68 mg/dl a 95. percentil byl stanoven na 116 mg/dl. Pro kojence ve věku 29-56 dnů byla střední hodnota 50 mg/dl a 95. percentil byl 80 mg/dl. (Liu et al. 2019)

4.2.2 Kojenci ve věku 2-36 měsíců

Pro druhou skupinu byla střední hodnota koncentrace celkové bílkoviny 21 mg/dl. Pokud vezmeme v potaz celou věkovou skupinu, k nerychlejšímu poklesu koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku došlo během 2.-6. měsíce života. Ve věkovém rozmezí 6-18 měsíců byl pokles méně výrazný a v následujících měsících bylo dosaženo plato. Hodnoty 95. percentilu pro věk 2-6 měsíců byly 57 mg/dl a pro kojence staré 6-24 měsíců byly 34 mg/dl. Během prvních šesti měsíců života velmi rychle klesaly průměrné hodnoty koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku a dosáhly minimální hodnoty pod 26 mg/dl. (Liu et al. 2019)

4.3 Studie z Philadelphie

V období od 1. ledna 2005 do 30. června 2007 byla prováděna studie na The Children's Hospital of Philadelphia. Děti byly ve věku do 56 dnů. Opět byli vybráni pacienti podle určitých parametrů. Lumbální punkci podstoupilo dohromady 1064 kojenců, z toho 689 nesplňovalo daná kritéria, a tak byli ze studie vyloučeni. Celkem 375 pacientů bylo zařazeno do analýzy. Jejich střední věk byl 36 dní a byli zařazeni do čtyř věkových skupin (0-14 dní, 15-28 dní, 29-42 dní, 43-56 dní). Střední hodnota proteinorachie v mozkomíšním moku byla 58 mg/dl. (Shah et al. 2011)

Pokud porovnáme věkovou skupinu 0-14 dní (skupina 1) a skupinu 43-56 dní (skupina 2), hodnota koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku u skupiny 2 výrazně poklesla. Průměrná hodnota 1. skupiny byla 79 mg/dl a pro druhou skupinu 53 mg/dl. 95. percentil pro skupinu 1 byl 132 mg/dl a pro druhou skupinu 83 mg/dl. (Shah et al. 2011)

Proteinorachie závisí na koncentraci celkové bílkoviny v pacientově séru a na permeabilitě hematoencefalické bariéry. Koncentrace celkové bílkoviny je také závislá na metodě a technice, kterou daná laboratoř používá. (Shah et al. 2011)

4.4 Glukóza a laktát

Byla provedena dlouhodobá studie na téma glukóza a laktát. Prováděla se v nizozemské nemocnici Radboud University Nijmegen Medical Center. Výsledky byly ukládány do počítačové databáze. Vzorky byly sbírány od září roku 1993 do prosince 2008. Celkem jich bylo 23618 a zahrnovaly všechny věkové kategorie. Statistická analýza byla provedena pomocí SPSS. Referenční hodnoty pro glukózu v CSF, pro poměr glukózy v CSF a glukózy v plazmě a pro koncentraci laktátu v CSF byly stanoveny pro 5.-95. percentil. (Leen et al. 2012)

4.4.1 Skupiny pacientů

Výsledky byly rozděleny do několika skupin podle věku. Pro nás jsou zajímavé pouze skupiny dětského věku. Pro popis jsem vybrala první tři. Jedná se o skupiny ve věku 0-4 týdny života (skupina 1), 4-8 týdnů (skupina 2) a poslední skupina 8-12 týdnů (skupina 3). V jednotlivých skupinách byl určitý počet pacientů. Ve skupině 1 bylo 195 pacientů, skupina 2 měla 142 a 3. skupina 56 pacientů. (Leen et al. 2012)

4.4.2 Glukóza

Koncentrace glukózy v mozkomíšním moku byla měřena hexokinázovou metodou. Průměrná hodnota koncentrace glukózy u 1. skupiny byla 3,40 mmol/l. Výsledky se pohybovaly v rozmezí 1,3-8,6 mmol/l. 5. percentil byl pro skupinu jedna určen na hodnotě 1,90 mmol/l a 95. percentil na hodnotě 5,60 mmol/l. Koncentrace glukózy v mozkomíšním moku se postupně snižovala. U 2. skupiny (věk 4-8 týdnů) byla průměrná hodnota koncentrace glukózy v mozkomíšním moku 2,93 mmol/l. Výsledky se pohybovaly v rozmezí 1,0-7,8 mmol/l. 5. percentil byl stanovený na 1,68 mmol/l a 95. percentil na 5,10 mmol/l. Z tří vybraných skupin měla právě skupina 3 nejnižší hodnoty. Průměrná hodnota byla 2,83 mmol/l. Naměřené výsledky se pohybovaly v rozmezí 1,4-4,1 mmol/l. Referenční rozmezí pro 5. až 95. percentil bylo stanoveno 1,79-4,00 mmol/l. (Leen et al. 2012)

4.4.3 Poměr glukózy v CSF a v plazmě

Mezi jednotlivými odběry vzorků mozkomíšního moku a plazmy bylo vždy časové rozmezí do 30 minut. Koncentrace glukózy v plazmě byla měřena stejně, jako koncentrace glukózy v mozkomíšním moku, pomocí hexokinázové metody. Poměr mezi koncentrací glukózy v mozkomíšním moku a koncentrací glukózy v plazmě se u první skupiny pohyboval v rozmezí 0,37-1,62. Referenční interval pro 5. až 95. percentil byl stanoven na 0,42-1,38. Skupina 2 měla výsledky v rozmezí 0,24-1,77. 5. percentil byl stanoven na 0,36 a 95. percentil na 1,19. Pro třetí skupinu bylo naměřeno rozmezí 0,40-1,03 a 5. až 95. percentil byl stanoven na stejných hodnotách jako rozmezí, ve kterém byly naměřeny hodnoty. (Leen et al. 2012)

4.4.4 Laktát

Koncentrace laktátu v mozkomíšním moku byla stanovena pomocí enzymové reakce přeměnou NAD na NADH. Reakce byla měřena při vlnové délce 340 nm za přítomnosti laktátdehydrogenázy. Hodnoty koncentrace laktátu v mozkomíšním moku pro 1. skupinu byly naměřeny v rozmezí 0,763-6,550 mmol/l. Průměrná hodnota byla 1,750 mmol/l. 5. percentil byl určen pro hodnotu 0,882 mmol/l a 95. percentil byl pro hodnotu 3,379 mmol/l. Druhá skupina měla o něco nižší koncentrace laktátu v mozkomíšním moku. Naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 0,695-3,094 mmol/l. Průměrná hodnota byla vypočtena na 1,511 mmol/l. Referenční rozmezí pro 5. až 95. percentil bylo 0,916-2,164 mmol/l. Pro skupinu 3 bylo referenční rozmezí (5.-95. percentil) stanoveno 0,861-2,352 mmol/l. Průměrná hodnota koncentrace laktátu v mozkomíšním moku byla 1,473 mmol/l a naměřené hodnoty se pohybovaly v intervalu 0,817-3,825 mmol/l. (Leen et al. 2012)

PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

5.1 Hlavní cíl

Cílem této bakalářské práce je provést retrospektivní analýzu dat cytobiochemického vyšetření mozkomíšního moku novorozenecké populace, která byla narozena nebo hospitalizována ve FN Plzeň. U vybraných parametrů stanovit referenční rozmezí.

5.2 Dílčí cíle

1. Stanovit referenční rozmezí pro proteinorachii u donošených novorozenců.
2. Stanovit referenční rozmezí pro proteinorachii u nedonošených novorozenců.
3. Porovnat výsledky populace donošených a nedonošených novorozenců.

6 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY

6.1 Výzkumný problém 1

Stanovit referenční rozmezí proteinorachie u novorozenecké populace.

6.2 Výzkumný problém 2

Jaké jsou rozdíly mezi donošenými a nedonošenými novorozenci z hlediska referenčních mezí pro proteinorachii?

7 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

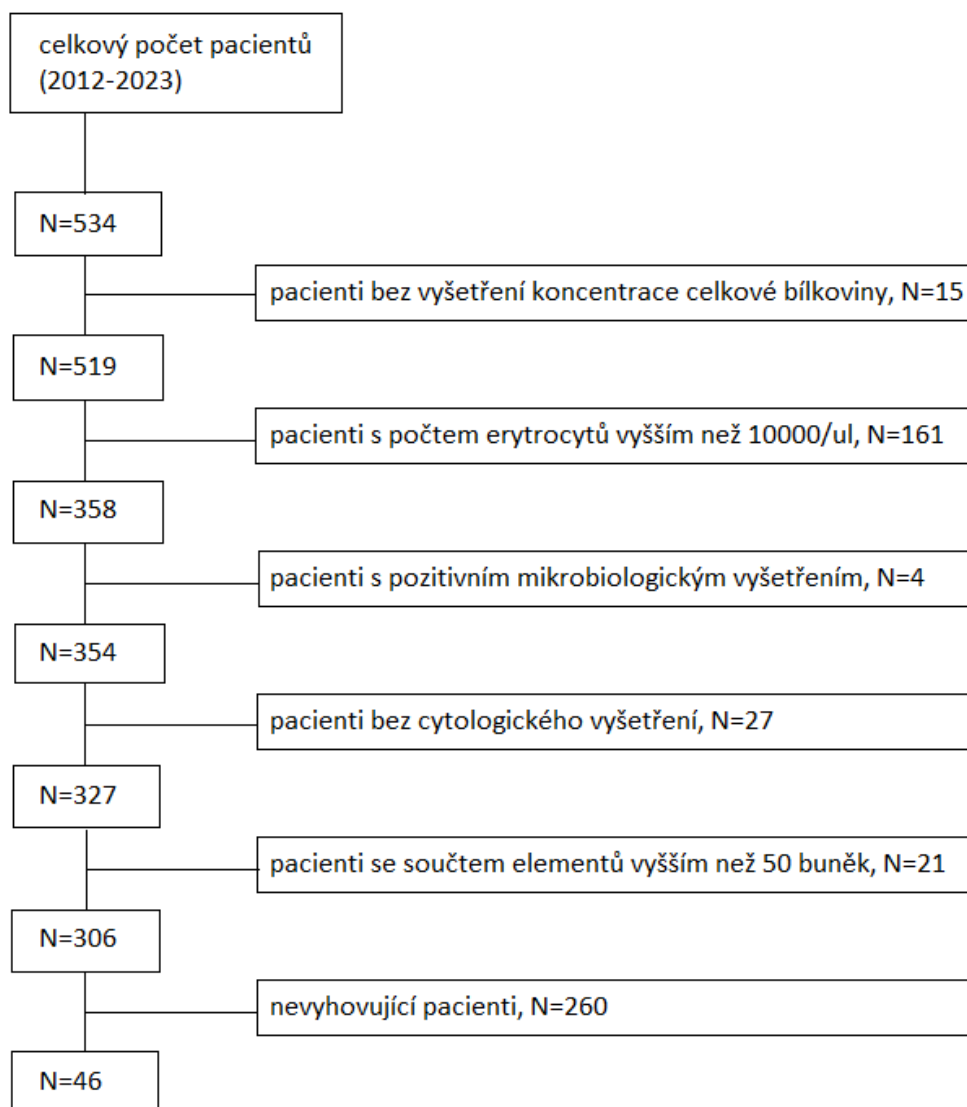
Zaměření praktické části spočívalo v zjištění referenčních mezí koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku u novorozenců. Koncentrace celkové bílkoviny se s postupným vývojem hematoencefalické bariéry snižuje. Jednou z komplikací pro přesnou analýzu je vysoký počet nedonošených dětí.

Praktická část bakalářské práce byla vypracována z dat poskytnutých Ústavem klinické biochemie a hematologie ve FN Plzeň.

Byli vybráni pacienti, kteří se narodili v perinatologickém centru FN Plzeň nebo mimo toto zdravotnické zařízení. Celkový počet pacientů byl 534 za období 2012-2023. U všech byla provedena lumbální punkce do věku 30 dnů od narození. Byli vyřazeni ti, kteří neměli vyšetřenou koncentraci celkové bílkoviny a u nichž byl počet erytrocytů v mozkomíšním moku vyšší než 10000/ μ l. Z 358 pacientů byli následně vybráni ti, kteří měli negativní mikrobiologické vyšetření a bylo u nich provedeno cytologické vyšetření. Zbylo 327 pacientů, u kterých jsem vyfiltrovala součet počtu mononukleárů a polynukleárů na počet nižší než 50 buněk. Počet pacientů se snížil na 306.

Těchto zbylých 306 pacientů jsem postupně prošla a nejdříve protřídila diagnózy, se kterými byli jednotliví pacienti propuštěni. Vyřazovala jsem veškeré infekce, sepse, záněty, pneumonie, hydrocefalie, virová onemocnění, hematologické poruchy, krvácení do likvorových cest. U těch, které bylo možné použít, jsem následně zhodnotila cytologické vyšetření, zda je možné daného pacienta zařadit do analýzy. Ze zbylých 48 pacientů, jsem vyřadila 2, kteří měli počet erytrocytů vyšší než 5000/ μ l. Zbylo mi 46 vhodných pacientů ke konečné analýze (obrázek 2).

Obrázek 2 Schéma průběhu vyřazení vzorků (N = počet pacientů)



Zdroj: vlastní

Přehled pacientů, kteří byli zařazeni do analýzy, popisuje tabulka 1. Za donošené novorozence byli považováni novorozenci narození po 37. týdnu těhotenství. Naopak nedonošení novorozenci byli narozeni před 37. týdnem těhotenství.

Tabulka 1 Přehled pacientů

Pacienti	Počet
Celkový počet pacientů	534
Počet pacientů k analýze	46
Donošení pacienti	24
Nedonošení pacienti	22
Počet mužů	23
Počet žen	23

Zdroj: vlastní

Základní parametry vybraných pacientů jsou popsány a zpracovány v tabulce 2.

Tabulka 2 Základní parametry pacientů zařazených do analýzy

Základní parametry	Rozmezí (min.-max.)	Medián
Porodní hmotnost (g)	460-4150	2730
Porodní hmotnost donošených pacientů (g)	246-4150	3320
Porodní hmotnost nedonošených pacientů (g)	460-3170	1600
Porodní délka (cm)	25-54	48
Porodní délka donošených pacientů (cm)	46-54	50
Porodní délka nedonošených pacientů (cm)	25-49	41
Stáří v den odběru likvoru (den)	0-29	4

Zdroj: vlastní

8 METODIKA PRÁCE

Tato práce se zabývá retrospektivní analýzou dat u novorozenců narozených nebo hospitalizovaných na neonatální klinice ve FN Plzeň. Jednalo se o pacienty narozené v časovém období 2012-2023. Data ke zpracování mi byla poskytnuta Ústavem klinické biochemie a hematologie Fakultní nemocnice Plzeň.

8.1 Sběr dat

Ústav klinické biochemie a hematologie ve FN Plzeň mi poskytl data pro praktickou část této bakalářské práce. Základní data byla vyhledána v systému Medicalc4 a následně byla zpracována v Microsoft Excel. Hodnoty glykorachie, laktátu a koncentrace celkové bílkoviny, byly stanoveny na rutinním analyzátoru Cobas 8000 ve FN Plzeň. Počet mononukleárů, polynukleárů, erytrocytů a jednotlivých elementů byl hodnocen kvalitativně i kvantitativně. Kvantitativní stanovení bylo provedeno ve Fuchs-Rosenthalově komůrce a počet elementů byl interpretován jako počet buněk v 1 μ l mozkomíšního moku.

Mým úkolem bylo naučit se vyhledávat v nemocničním systému WinMedicalc. Za pomoci identifikačních dat pacienta a datumu laboratorního vyšetření jsem měla za úkol doplnit následující informace. Patřily mezi ně, popis cytologického preparátu, zda bylo pozitivní nebo negativní mikrobiologické vyšetření mozkomíšního moku a diagnózy, se kterými byli pacienti propouštěni.

Se získanými údaji jsem následně mohla pracovat. Data byla zpracována pomocí programu Microsoft Excel. Vypočítala jsem medián u koncentrace celkové bílkoviny, porodní hmotnosti a porodní délky.

9 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

9.1 Statistická analýza

Základní zpracování dat bylo provedeno v programu Microsoft Excel. Pomocí softwaru MedCalc byla provedena statistická analýza. Vzhledem k tomu, že populace nebyla normálního rozložení, musela jsem použít neparametrickou metodu pro určení referenčních mezí. Tato metoda je vhodná pro nestejně, nenormální, rozložení populace nebo pro nízký počet analyzovaných jedinců. Pomocí této metody jsem stanovila referenční meze proteinorachie, pro skupinu všech novorozenců a následně zvlášť pro skupinu donošených a nedonošených novorozenců. Pomocí krabicových grafů, vytvořených v programu Microsoft Excel, jsou znázorněny jednotlivé hodnoty a medián.

9.2 Výsledky

Pro praktickou část byly důležité hodnoty proteinorachie. V tabulce 3 je znázorněno v jakém rozmezí se jednotlivé hodnoty proteinorachie pohybovaly u všech pacientů. Je zde také hodnota mediánu.

Tabulka 3 Proteinorachie u všech pacientů

PROTEINORACHIE	Rozmezí (g/l)	Medián (g/l)	Počet pacientů
Všichni pacienti	0,46-2,65	0,94	46

Zdroj: vlastní

Tabulka 4 ukazuje rozdíly mezi donošenými a nedonošenými pacienty. Stejně jako předchozí tabulka ukazuje rozmezí hodnot proteinorachie, medián jednotlivých skupin a počet pacientů ve skupinách donošených a nedonošených pacientů.

Tabulka 4 Proteinorachie u donošených a nedonošených pacientů

PROTEINORACHIE	Rozmezí (g/l)	Medián (g/l)	Počet pacientů
Donošení pacienti	0,56-1,93	0,87	24
Nedonošení pacienti	0,46-2,65	1,06	22

Zdroj: vlastní

Po zadání hodnot do grafů jsem zjistila, že hodnoty proteinorachie u dvou pacientů jsou výrazně vyšší, a proto jsem je z analýzy vyřadila. V tabulce číslo 5 jsou upravená data s ohledem na vyřazené hodnoty.

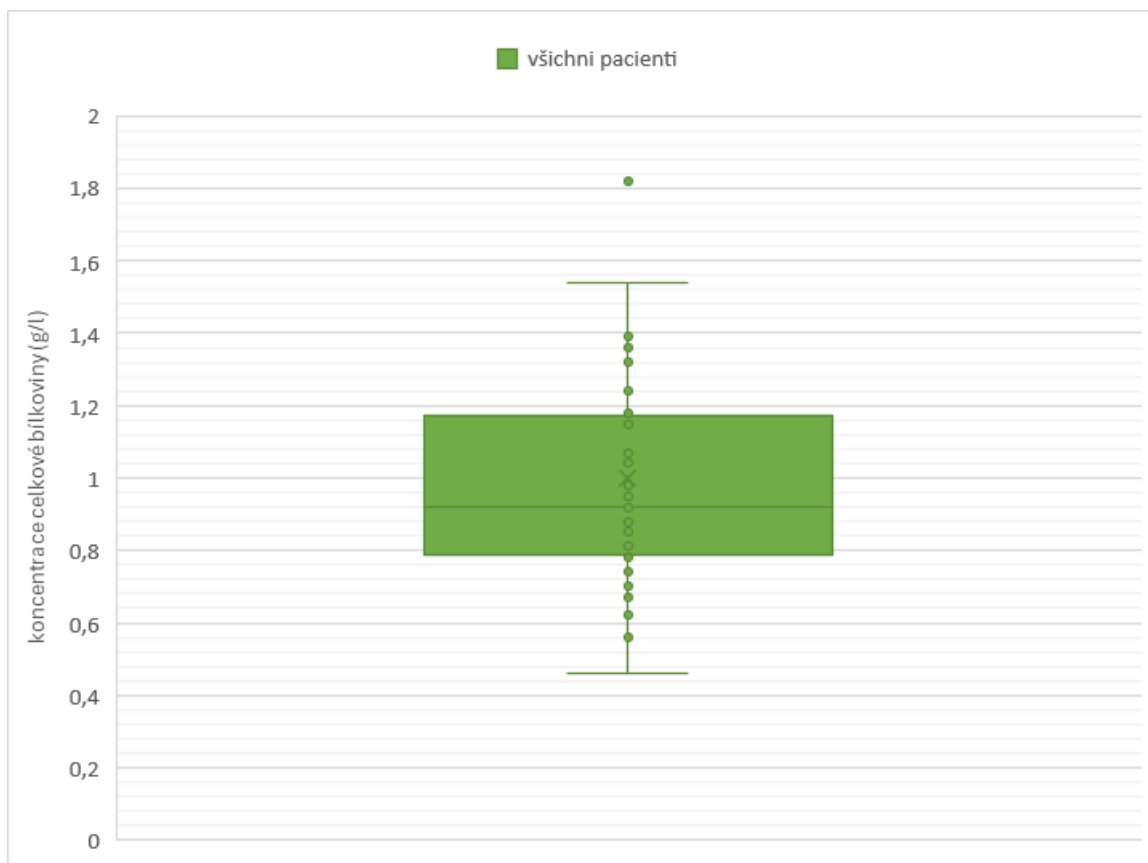
Tabulka 5 Hodnoty upravené po vyřazení odlehlých hodnot

PROTEINORACHIE	Rozmezí (g/l)	Medián (g/l)	Počet pacientů
Všichni pacienti	0,46-1,83	0,92	44
Donošení pacienti	0,56-1,36	0,86	23
Nedonošení pacienti	0,46-1,83	1,04	21

Zdroj: vlastní

Následující graf 1 ukazuje rozložení jednotlivých naměřených hodnot proteinorachie.

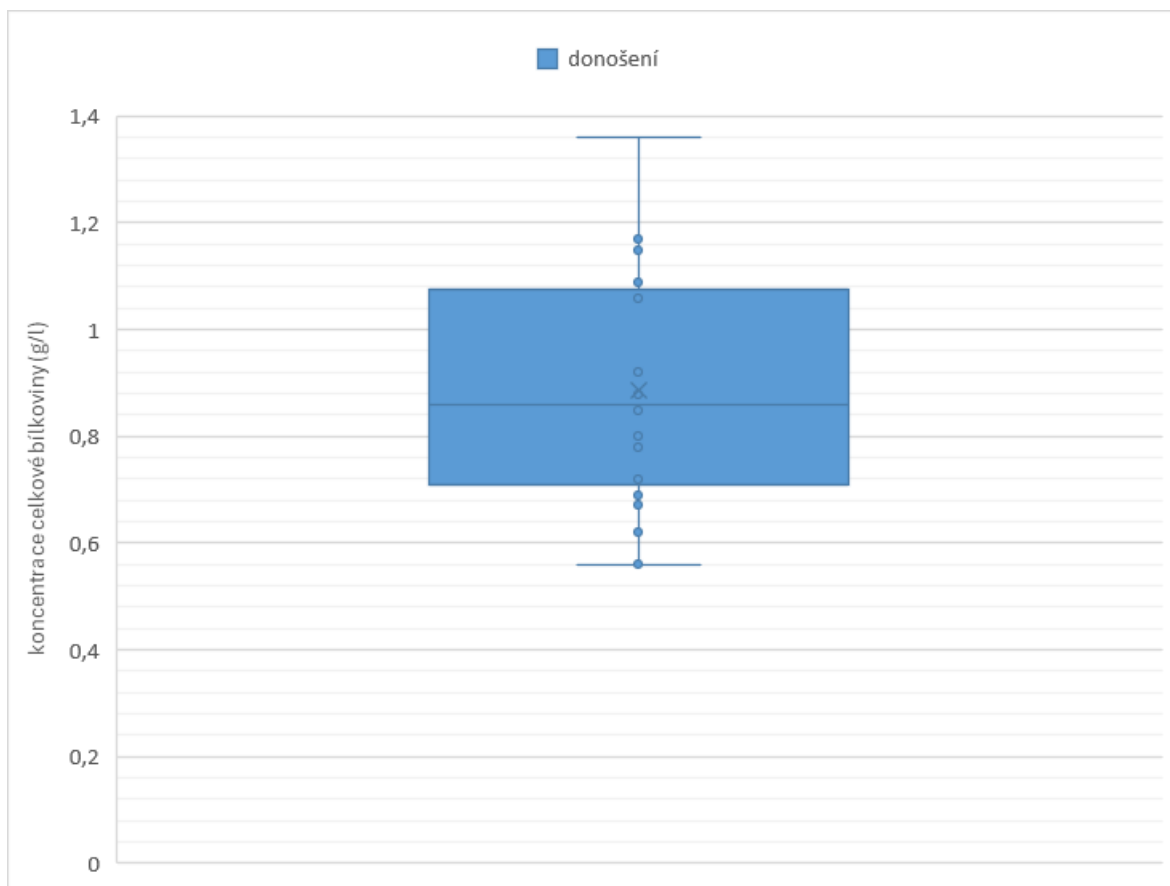
Graf 1 Proteinorachie všech pacientů



Zdroj: vlastní

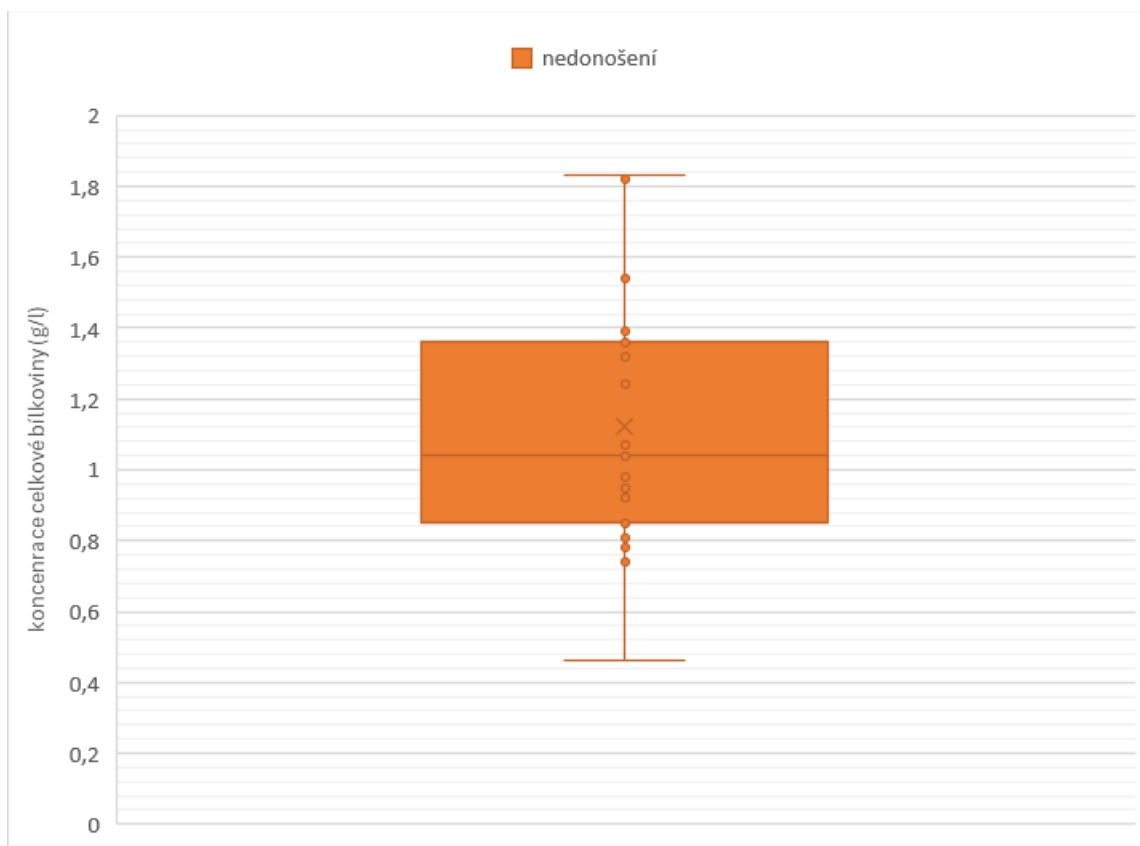
Grafy číslo 2 a 3 ukazují samostatné skupiny, skupinu donošených a nedonošených novorozenců.

Graf 2 Proteinurie u donošených novorozenců



Zdroj: vlastní

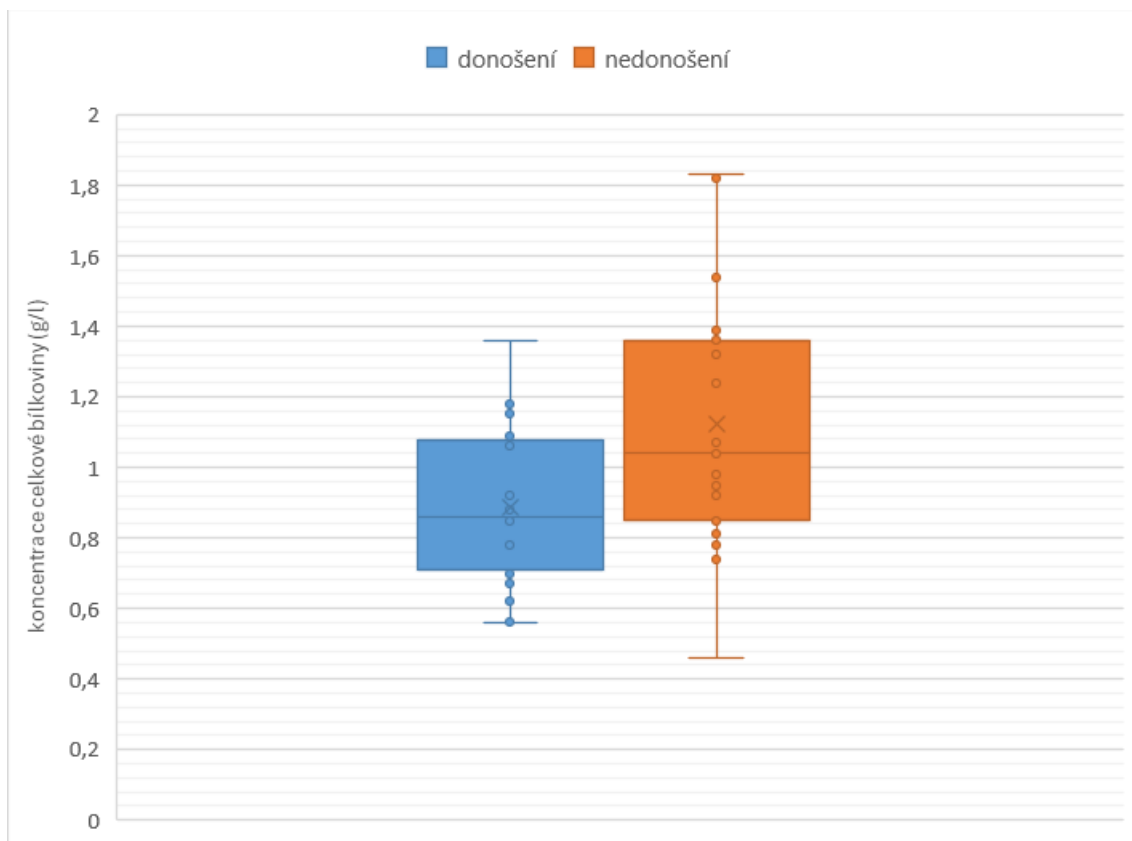
Graf 3 Proteinorachie u nedonošených novorozenců



Zdroj: vlastní

Porovnání mezi skupinami donošených a nedonošených novorozenců je v grafu 4. Z grafu je patrné, že donošení novorozenci mají nižší hodnoty proteinurie než nedonošení novorozenci.

Graf 4 Srovnání hodnot proteinurie u donošených a nedonošených novorozenců



Zdroj: vlastní

Tabulka 5 popisuje výsledky stanovení referenčních mezí pro jednotlivé skupiny. Z tabulky je patrné, že u donošených novorozenců je horní referenční mez nižší než u nedonošených pacientů. Dolní referenční mez není až tak významná.

Tabulka 6 Referenční meze

	Horní referenční mez (g/l)	Dolní referenční mez (g/l)
Všichni pacienti	1,83	0,47
Donošení novorozenci	1,36	0,56
Nedonošení novorozenci	1,83	0,46

Zdroj: vlastní

DISKUZE

Teoretická část této bakalářské práce se věnuje a popisuje především mozkomíšní mok jako takový. Seznamuje nás s metodami, kterými je možné mozkomíšní mok vyšetřit a s parametry, které se běžně vyšetřují. Dále nás seznamuje s problematikou stanovování referenčních mezí obecně. Popisuje metody, kterými se referenční rozmezí stanovuje. V závěru teoretické části je popisováno několik studií, které se zabývaly stanovováním referenčních mezí pro jednotlivé parametry mozkomíšního moku.

Praktická část byla vypracována ve formě retrospektivní analýzy novorozenců narozených ve FN Plzeň. Data pro praktickou část mi byla poskytnuta Ústavem klinické biochemie a hematologie ve FN Plzeň.

Mým úkolem bylo určit referenční meze některých parametrů mozkomíšního moku. Rozhodla jsem se tedy pro určení referenčního rozmezí pro koncentraci celkové bílkoviny v mozkomíšním moku. Většina referenčních intervalů parametrů mozkomíšního moku se s věkem velmi málo mění nebo jsou změny velmi málo patrné. Naopak u proteinorachie dochází k velké změně v důsledku dozrávání hematoencefalické bariéry. Jak hematoencefalická bariéra s postupem věku dozrává, mění se i koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku. Koncentrace postupně klesá, a tak se propustnost hematoencefalické bariéry pro bílkoviny snižuje. Jak píše Shah et al. (2011), nejrychlejší pokles proteinorachie nastává v prvních šesti měsících života.

Pomocí neparametrické statistické metody jsem určila referenční mez proteinorachie pro novorozence narozené mezi léty 2012-2023 ve FN Plzeň. Byla použita neparametrická statistická metoda, protože k závěrečné analýze bylo málo vhodných pacientů. Populace nebyla normálního, tedy Gaussovského rozložení, proto nebylo možné použít parametrickou metodu ke stanovení referenčních mezí. Počet pacientů, kteří splňovali daná kritéria, byl 46.

Vzhledem k postupnému dozrávání hematoencefalické bariéry jsem musela těchto 46 pacientů rozdělit do 2 skupin, na nedonošené (22 pacientů) a donošené pacienty (24 pacientů). Mezi donošené jsem zařadila ty, kteří se narodili po 37. týdnu těhotenství a mezi nedonošené jsem zařadila narozené před 37. týdnem těhotenství. Mezi těmito dvěma skupinami byl po statistickém zhodnocení patrný rozdíl v proteinorachii. Nedonošení novorozenci měli výrazně vyšší koncentraci celkové bílkoviny v mozkomíšním moku, než donošení novorozenci. Důvodem je nedostatečně vyvinutá hematoencefalická bariéra u

nedonošených novorozenců. Referenční rozmezí pro donošené novorozence bylo stanoveno na 0,56-1,36 g/l, pro nedonošené novorozence na 0,46-1,83 g/l. Z hlediska diagnostiky onemocnění, jako je například purulentní nebo serózní meningitida, je důležitější horní referenční mez. Pokud je hodnota proteinorachie příliš vysoká, může to značit přítomnost meningitidy nebo jiného onemocnění. Tato onemocnění mají za následek zvýšení koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku. Z výsledků je tedy patrné, že horní referenční mez u nedonošených novorozenců je vyšší, a tedy hematoencefalická bariéra je méně vyvinutější.

ZÁVĚR

Vzhledem k malému počtu pacientů zařazených do analýzy, mohu pouze zhodnotit, že jsou patrné rozdíly referenčního rozmezí mezi jednotlivými skupinami. Z výsledků je možné vyčíst, že nedonošení pacienti mají vyšší hodnoty koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku oproti donošeným pacientům. Je to zapříčiněno dozráváním hematoencefalické bariéry a snížením propustnosti pro bílkoviny.

Pro lepší a přesnější výsledky této práce by bylo vhodné rozšířit soubor vyšetřované skupiny. Práce může být vhodná jako inspirace pro vytvoření obdobných prací.

SEZNAM LITERATURY

SAKKA, L., G. COLL a J. CHAZAL, 2011. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases* [online]. **128**(6), 309–316 [vid. 2023-09-20]. Dostupné z: doi:10.1016/j.anorl.2011.03.002

RACEK, Jaroslav a Daniel RAJDL, 2021. *Klinická biochemie*. Třetí, přepracované a rozšířené vydání. Praha: Galén. ISBN 9788074925450.

KALA, Miroslav a Jan MAREŠ, 2008. *Lumbální punkce a mozkomíšní mok*. 1. vyd. Praha: Galén. ISBN 9788072625680.

ZIMA, Tomáš, ed., 2013. *Laboratorní diagnostika*. 3., dopl.přeprac. vyd. Praha: Galén. ISBN 9788074920622.

JERRARD, David A, Jeahan R HANNA a Gina L SCHINDELHEIM, 2001. Cerebrospinal fluid. *The Journal of Emergency Medicine* [online]. **21**(2), 171–178 [vid. 2023-05-09]. Dostupné z: doi:10.1016/S0736-4679(01)00360-2

SHAH, Samir S., Jessica EBBERSON, Lori A. KESTENBAUM, Richard L. HODINKA a Joseph J. ZORC, 2011. Age-specific reference values for cerebrospinal fluid protein concentration in neonates and young infants. *Journal of Hospital Medicine* [online]. **6**(1), 22–27 [vid. 2023-12-09]. Dostupné z: doi:10.1002/jhm.711

ZIMMERMANN, Petra a Nigel CURTIS, 2021. Normal Values for Cerebrospinal Fluid in Neonates: A Systematic Review. *Neonatology* [online]. **118**(6), 629–638 [vid. 2023-04-25]. Dostupné z: doi:10.1159/000517630

LIU, Zhigang, Deqin JIA, Jieming DAI, Xing ZHOU, Zhoulian QIN, Liang CHEN, Jieyan ZHANG, Guohua CHEN, Xiaocheng HE, Ruipin WAN a Xingguang YE, 2019. Age-specific reference values for cerebrospinal fluid protein concentrations in children in southern China. *Medicine* [online]. **98**(41), e17500 [vid. 2024-01-30]. Dostupné z: doi:10.1097/MD.00000000000017500

HENNY, Joseph, Anne VASSAULT, Guilaine BOURSIER, Ines VUKASOVIC, Pika MESKO BRGULJAN, Maria LOHMANDER, Irina GHITA, Francisco A. Bernabeu ANDREU, Christos KROUPIS, Ludek SPRONGL, Marc H.M. THELEN, Florent J.L.A. VANSTAPEL, Tatjana VODNIK, Willem HUISMAN a Michel VAUBOURDOLLE, 2016. Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. **54**(12), 1893–1900 [vid. 2024-02-16]. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2016-0793

CERIOTTI, Ferruccio, Rolf HINZMANN a Mauro PANTEGHINI, 2009. Reference intervals: the way forward. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* [online]. **46**(1), 8–17 [vid. 2024-02-16]. Dostupné z: doi:10.1258/acb.2008.008170

LEEN, Wilhelmina G., Michèl A. WILLEMSSEN, Ron A. WEVERs a Marcel M. VERBEEK, 2012. Cerebrospinal Fluid Glucose and Lactate: Age-Specific Reference Values

and Implications for Clinical Practice. *PLoS ONE* [online]. 7(8), e42745 [vid. 2024-02-23].
Dostupné z: [doi:10.1371/journal.pone.0042745](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042745)