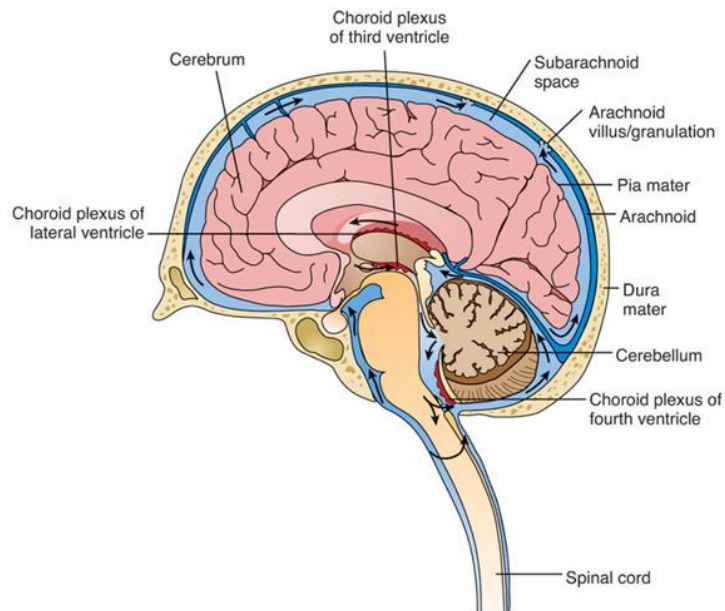




In the name of God

مایع مغزی نخاعی

(Cerebrospinal Fluid - CSF)



Prof.Fatemeh Fallah

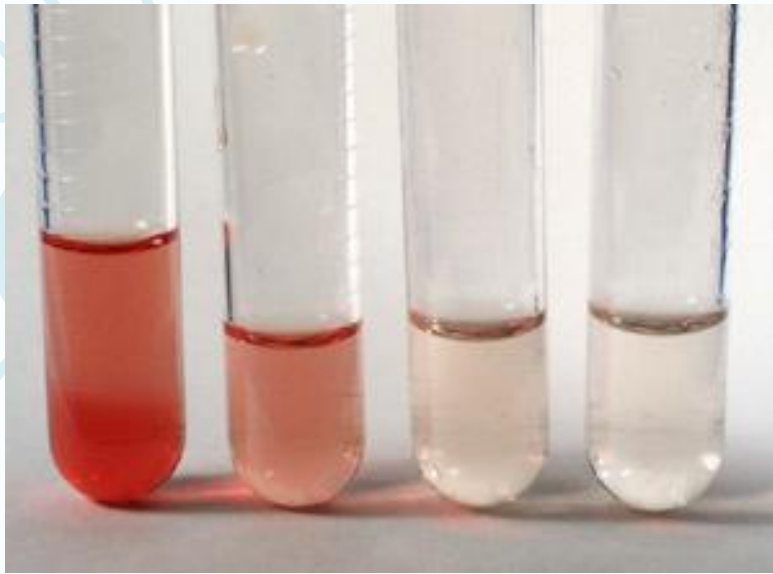
Microbiology Dep.faculty
medicine,

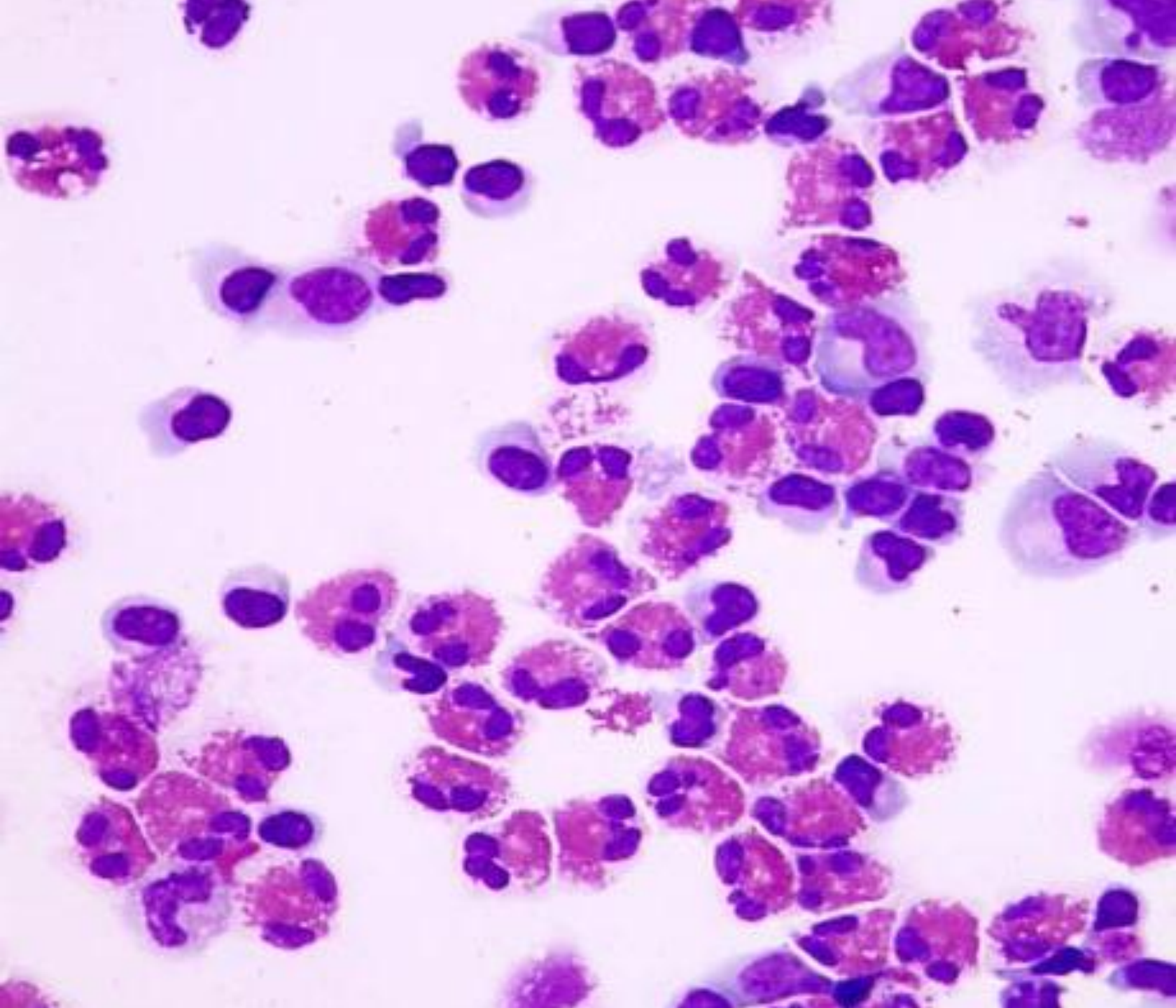
Pediatric Infection Research
Center of Shahid Beheshti
Univ.M.S

پیش تست !!؟؟

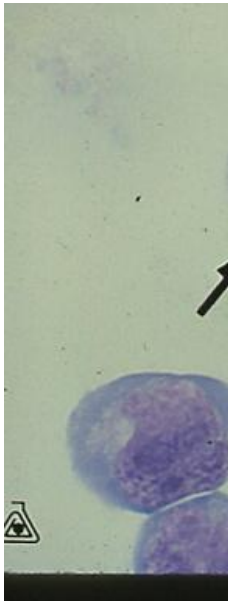
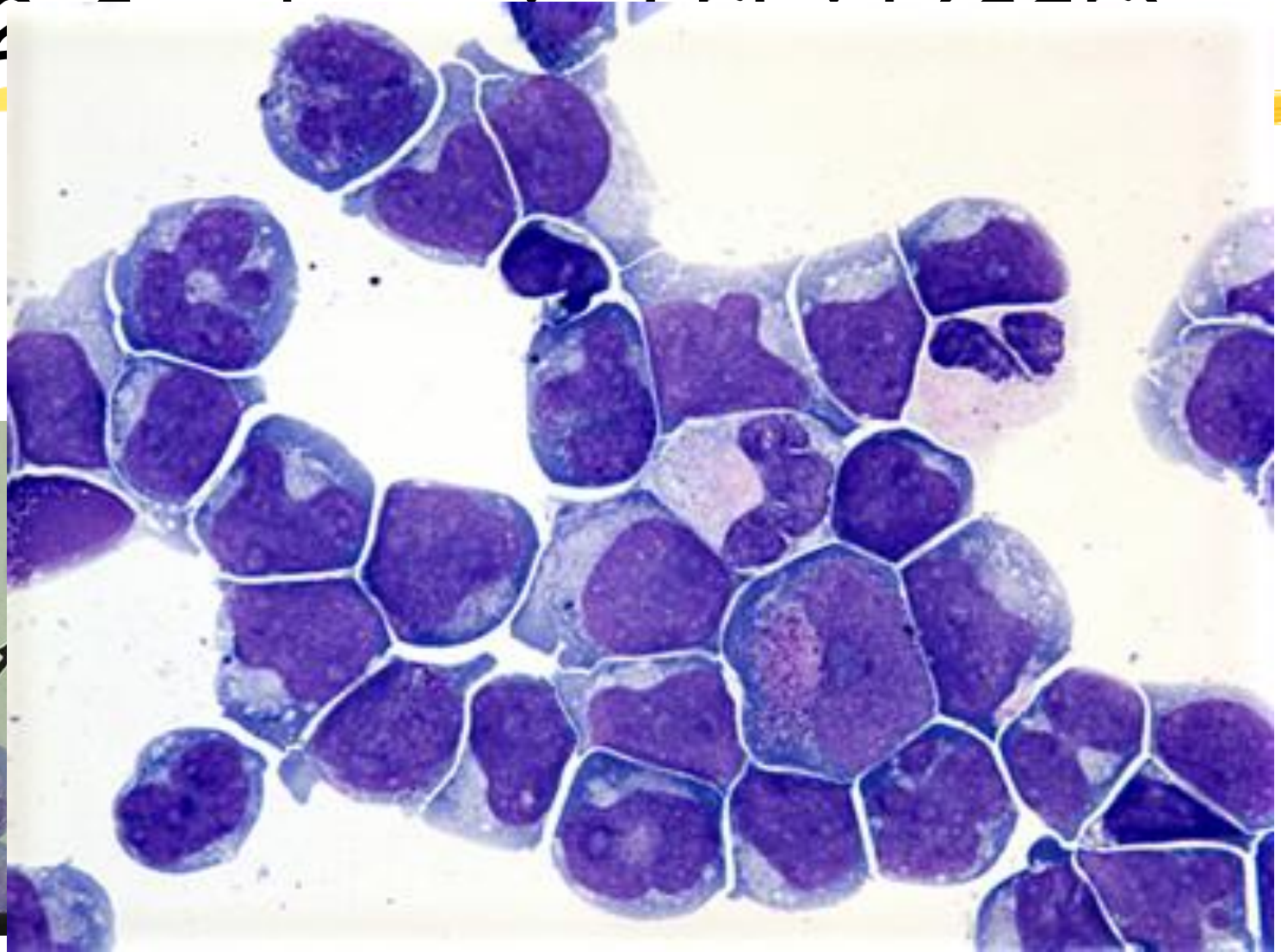
۱. فعالیت (function) مایع نخاع چیست ؟
۲. کدام مهره ها برای **Lumber puncture** مناسب است؟
۳. لزوم یا کاربرد نمونه گیری از مایع نخاع چیست ؟
۴. علت تفاوت نسبت البومین به گلوبولین در مایع نخاع و پلاسما خون بالغین در چیست ؟
۵. چه تست هایی در مورد مایع نخاع انجام می گیرد ؟
۶. علت (زانتوکرومیا) **xanthochromic** بودن مایع نخاع چیست؟
۷. دلیل سرعت عمل در شمارش سلولی مایع نخاع چیست ؟
۸. بعد از دو ساعت ماندن **CSF** در حرارت اتاق تعداد **PMN** چه تغییری میکند؟
۹. نوتروفیلی ناشی از مننژیت ویروسی بعد از ۲ تا ۳ روز در نمونه **CSF** چه تغییری می کند؟.

10- مایع رویی CSF

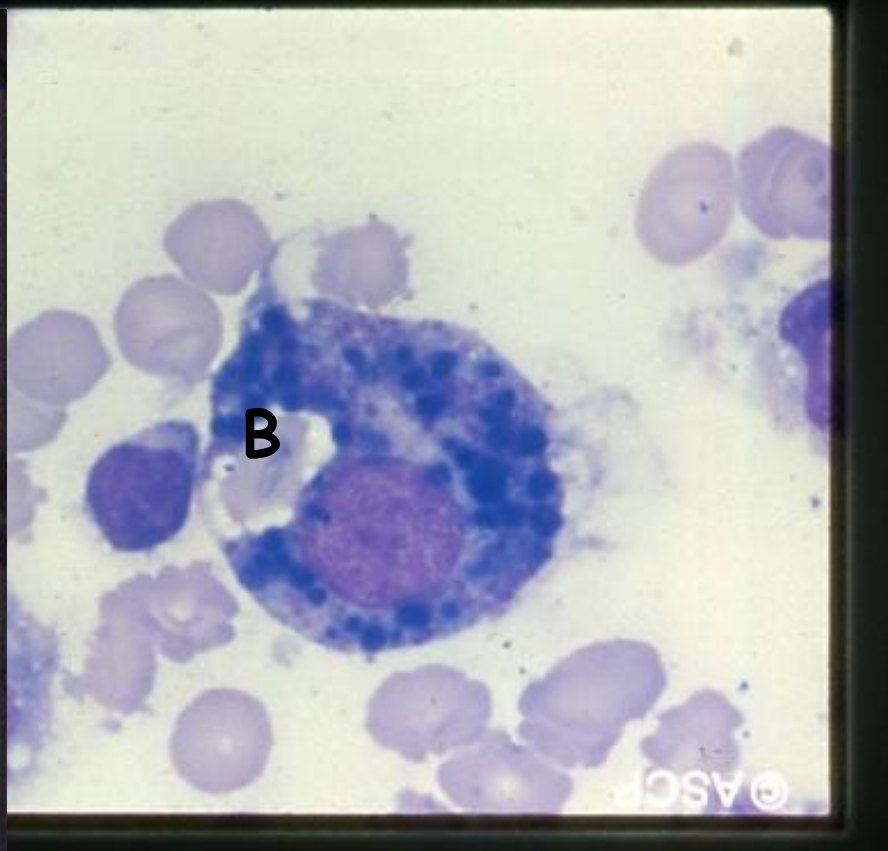
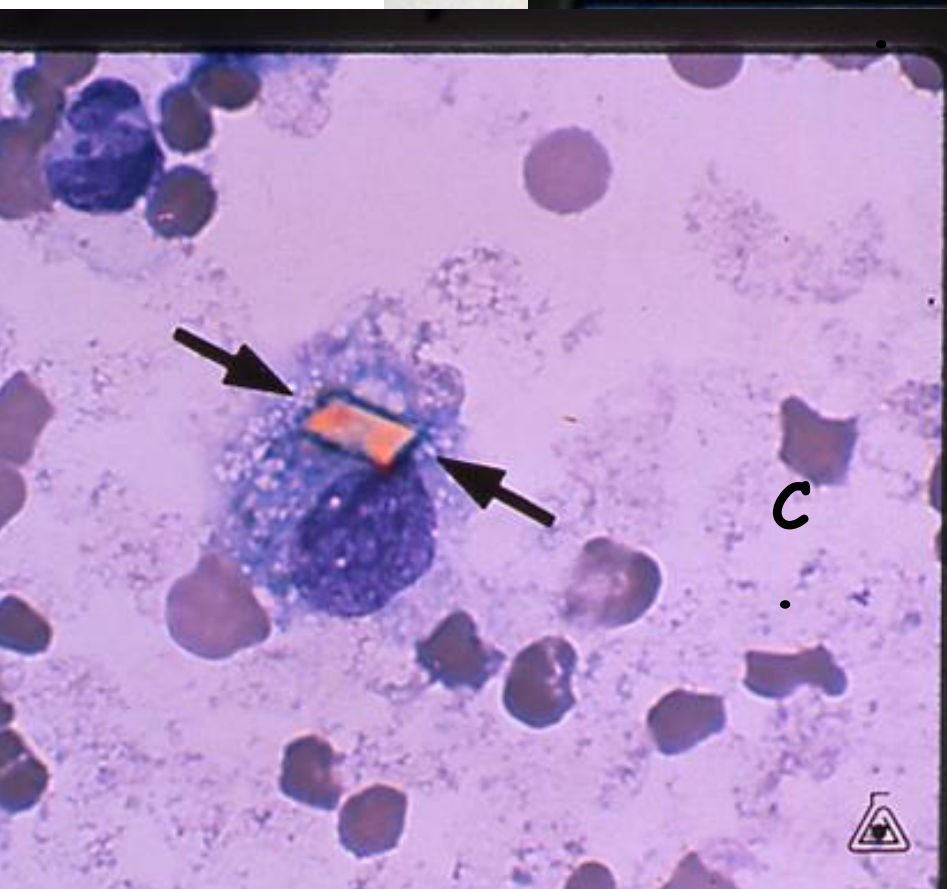
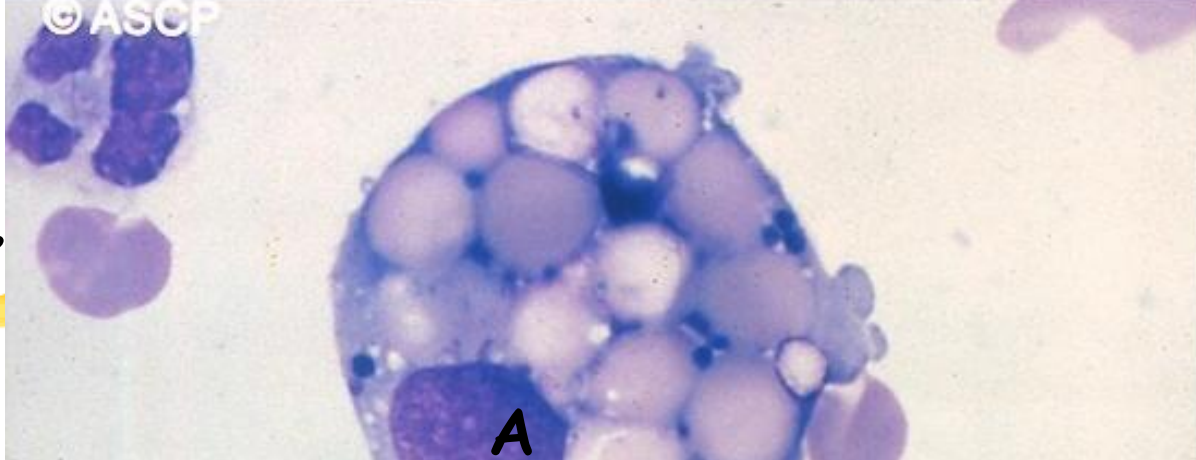




12



13-Ce



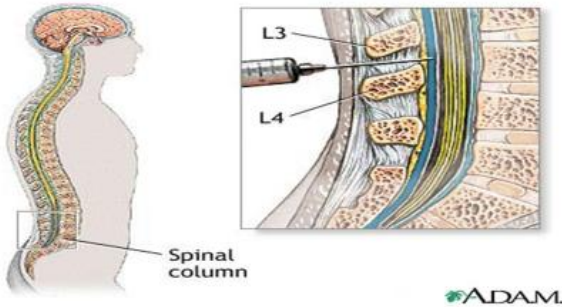
Routine Lab Tests

- ***Required***
- Opening CSF pressure
- Macroscopic Examination
- Total cell count and differential (stained)
- Glucose (CSF/plasma ratio)
- Protein
- ***Optional***
- Cultures, gram stain, antigens, cytology
- Protein electrophoresis, VDRL, D-dimers

Cerebrospinal Fluid (CSF)

- CSF functions
 - Supplies nutrients to nervous tissues
 - Removes metabolic wastes
 - Protects / cushions against trauma

Cerebrospinal Fluid (CSF)



در پایان این کارگاه شرکت کننده باید :

اندیکاسیون های انجام آزمایش مایع مغزی نخاعی را بیان کند.

مراحل انجام بزل مایع نخاعی را بیان کند.

عوارض انجام بزل مایع نخاعی را بیان کند.

مراحل انجام آزمایش مایع مغزی نخاعی را در آزمایشگاه بیان کند.

قادر به شناسایی گلبول قرمز ، سفید و میکروارگانیسم های پنوکوک هموفیلوس و

مننگوکوک در اسمیر مایع مغزی نخاعی باشد.

قادر به تفسیر جواب آنالیز مایع مغزی نخاعی و تشخیص مننژیت باکتریال و ویرال

باشد.

(LP) lumbar puncture

- در پزشکی (LP) lumbar puncture یا spinal tap)

بزل مایع مغزی نخاعی (یک کار تشخیصی است که با جمع آوری

نمونه ای از مایع مغزی نخاعی (CSF) صورت میگیرد .

- نمونه جمع آوری شده جهت بررسی های بیوشیمیایی ،

میکروبیولوژی و سیتولوژی به آزمایشگاه فرستاده می شود.

اندیکاسیون انجام LP :

- *جهت اثبات یا رد بیماری هایی چون مننژیت ،

- خونریزی ساب اراکنوئید و

- هیپرتانسیون خوش خیم مغزی

- در بیشتر موارد LP می تواند وجود یا عدم وجود مننژیت را اثبات کند.

- به ندرت احتمال دارد که آزمایش تجزیه مایع مغزی نخاعی در حد طبیعی باشد

و عامل میکروبی از کشت مایع مغزی نخاعی بدست آید

- (این حالت در مننژیت مننگوکوکی تا ۸٪ موارد می تواند اتفاق بیافتد)

• از آنجایی که علائم کلاسیک مننژیت در **شیر خواران** تپیک نیست انجام آزمایش مایع مغزی نخاعی (LP) به عنوان یک تست تشخیصی مهم برای کودکانی که حالت خواب آلوده دارد، یا مشکوک به مننژیت است حتی بدون بروز علائم تحریک مننژ پیشنهاد می شود.

• گاهی اوقات بزل مایع نخاعی ممکن است جهت انجام **تزریق دارو** به داخل مایع مغزی نخاعی انجام شود مثل شیمی درمانی یا بی حسی نخاعی.



Lumbar Puncture

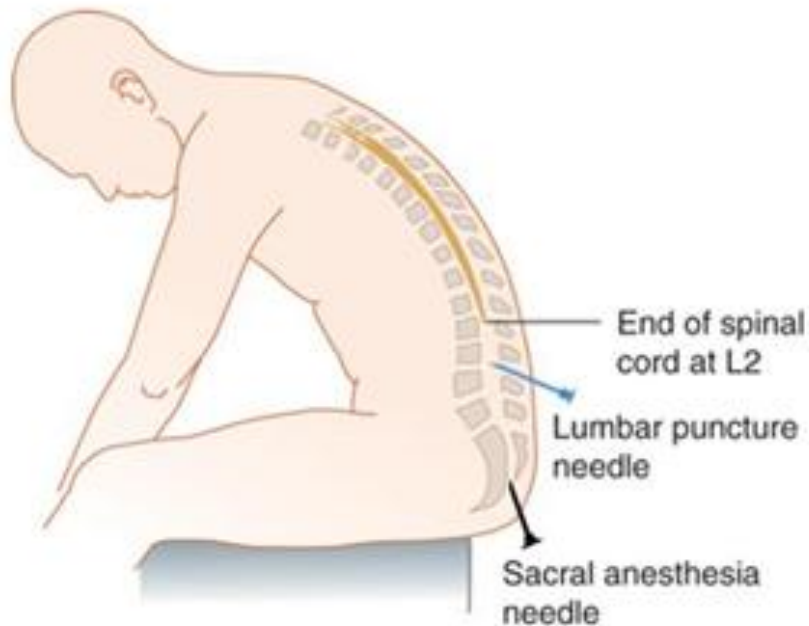


Figure 6-11. Lumbar puncture site with patient in sitting position. The approach to the sacral hiatus for saddle-back anesthesia is also indicated. In: Waxman SG. *Clinical Neuroanatomy*, 26th ed. <http://www.accessphysiotherapy.com>. Accessed October 20, 2009.

- Positions
 - Lateral decubitus (L4-5)
 - Sitting
- CSF samples
 - Cell count
 - Protein
 - Glucose
 - Microbiology
- CSF pressure
- CSF removal
- Drug introduction

مراحل انجام بزل مایع نخاعی :

- ۱- توصیه می شود علت و اهمیت و چگونگی انجام آزمایش برای بیمار یا والدین وی شرح داد.
- در این مرحله باید عوارض انجام آزمایش مانند:
 - سردرد
 - (شایعترین عارضه می باشد. در ۳۰-۱۰٪ موارد و برای مدت ۱-۳ روز و گاهی ممکن است تا ۲ هفته هم طول بکشد) و
 - درد کمر
 - عفونت محل، خونریزی و آسیب به نخاع بسیار نادر هستند.
- **- پس از آن بیمار به اتاق مخصوص جهت انجام آزمایش هدایت شود .
- انجام آزمایش نیاز به رعایت موازین آسپتیک دارد .
- **مشخص شده که کودکان بزل مایع نخاعی را بهتر از بالغین تحمل می کنند.**

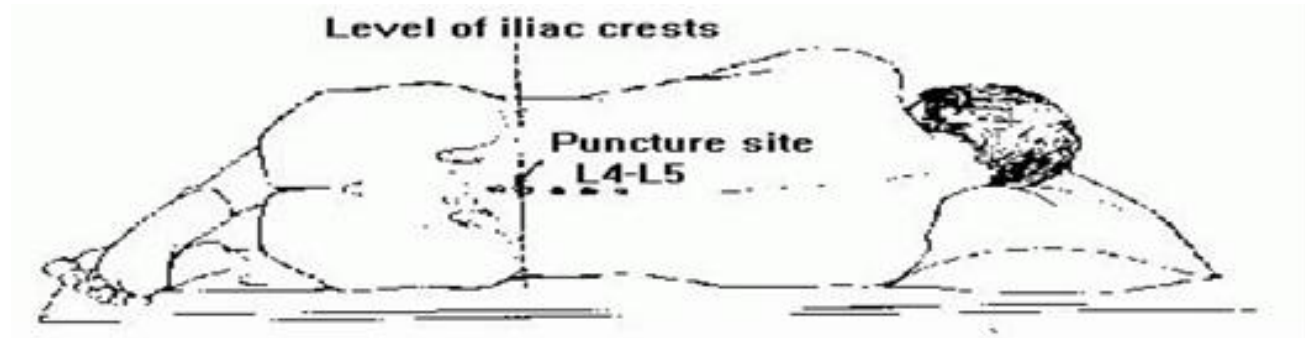
مهمترین قسمت انجام یک LP موفق دادن وضعیت مناسب به بیمار می باشد

و بهتر است بیمار را در وضعیت جنینی قرار داده و پس از اطمینان از کامل شدن این وضعیت انجام نمونه گیری شروع شود

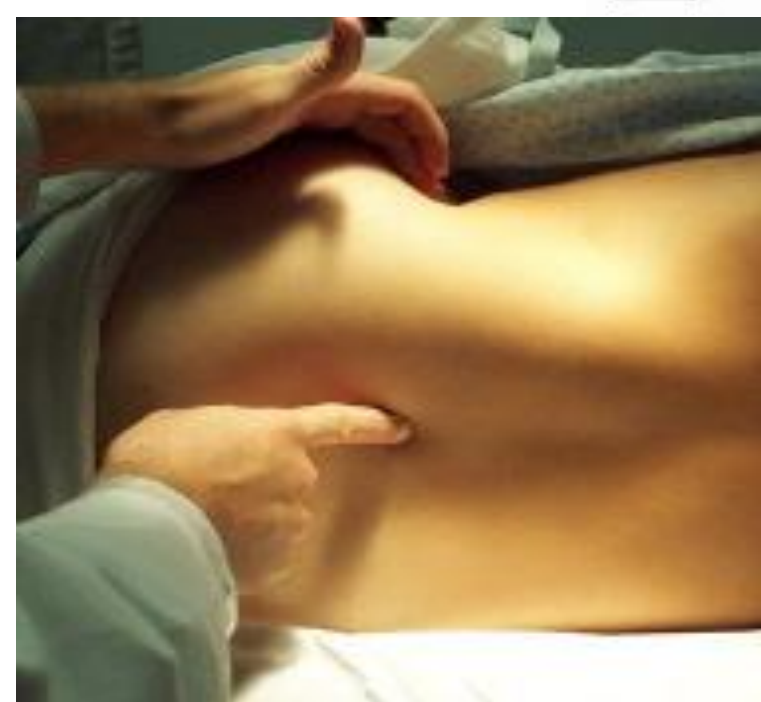
- دستکش و ماسک ، سوزن جهت انجام بزل مایع نخاعی ، مانومتري در بیمار ان بالای ۲ سال، Stop – Stack سه راهی، پارچه استریل ، ماده بی حسی لیدوکائین ۱% بدون اپی نفرین در سرنگ ۵ سی سی با سوزن ۲۲ – ۲۰ ، محلول برای استریل کردن پوست، باند و چسب برای پانسمان محل آزمایش و پرسنلی جهت دادن وضعیت مناسب به بیمار برای انجام بزل مایع نخاعی کمک می کنند.

گاهی می توان آزمایش را در وضعیت نشسته بر روی بیمار انجام داد اگر چه وضعیت خوابیده به یکطرف برای اندازه گیری فشار مناسب تر می باشد

- پس از دادن وضعیت مناسب به بیمار محل مناسب بزل مایع مغزی باید مشخص شود. بدین منظور باید خار ایلپاک در قسمت خلفی مشخص گردد اگر این مسیر تا ستون فقرات امتداد داده شود خار مهره کمری چهارم زیر دست حس می گردد.
- فضای بین L4-5 و L3-4 بهترین محل برای انجام بزل مایع مغزی می باشد که بهتر است . با فشار ناخن روی پوست علامتگذاری شود.



بی حسی پوستی معمولاً برای شیرخواران
ضرورتی ندارد و می توان با خوردن یک
محلول آب قند خوراکی در طی انجام آزمایش
کودکان را آرام نمود.



بزل مایع مغزی

- - ایجاد وضعیت مناسب
- - استریل نمودن محل انجام بزل مایع مغزی :
- بدین منظور پزشک باید دستکش پوشیده و با استفاده از محلول بتادین ناحیه L4 – L5 را استریل نماید روش استریل کردن بهتر است بصورت دایره ای باشد . فضایی به قطر ۲۰ سانتی متر باید استریل شود و بعد از اینکه بتادین خشک شد **برای جلوگیری از نفوذ بتادین به فضای ساب اراکنوئید با استفاده از الکل منطقه پاک گردد و**
- - پوشاندن ناحیه با شان استریل
- - با استفاده از سوزن مناسب در محل سوراخ ایجاد شود تا مایع مغزی نخاعی به بیرون راه یابد. سوزن بزل مایع مغزی باید از L4-5 یا L3-4 در خط وسط وارد شود و مستقیم در مسیر ناف به جلو هدایت شود برای بدست آوردن نمونه مناسب سوزن بهتر است به موازات زمین نگهداشته شود



- و حرکت سوزن به جلو ادامه یابد تا زمانیکه یک POP احساس شود این بدان معنی است که سوزن از دورا گذشته و وارد فضای ساب اراکنوئید شده است . اگر مایع مغزی نخاعی خارج نشد بهتر است سوزن را ۲-۳ میلی متر عقب کشیده و مجدداً ماندرن را چک کرد، و زمانیکه مایع مغزی نخاعی در سوزن جریان یافت stop-cock سه راهی را برای اندازه گیری فشار به سوزن وصل نمود.

چند نکته

- اگر در طی مسیر ورود سوزن به فضای ساب اراکنوئید ، سوزن به استخوان مهره برخورد نمود بهتر است آنرا تا زیر پوست به عقب کشیده و مجدداً به فضای بین مهره ای هدایت نمود
- اگر خون از سوزن خارج شد باید سوزن را خارج نموده و از یک سوزن دیگر جهت انجام آزمایش مجدداً استفاده کرد.
- هرگز مایع مغزی نخاعی را با سرنگ اسپیره نکنید زیرا امکان دارد یک ریشه عصبی بطرف سوزن کشیده شود و آسیب ببیند.


اگر نتوانستید به فضای ساب اراکتوئید راه یابید این سه سؤال را برای خود مطرح کنید:

- آیا سوزن بطرف ناف هدایت شده؟
- آیا سوزن در خط وسط است؟
- آیا سوزن موازی با سطح زمین قرار گرفته است؟

.

اندازه گیری فشار

۱. برای اندازه گیری فشار از یک سه راهی استفاده می شود که یک طرف آن به ته سوزن و یک طرف آن به مانومتر وصل می شود. بهتر است پس از برقراری اتصال مانومتر به آرامی بیمار را از وضعیت جنینی خارج نموده تا پاهای بیمار و گردن وی به حالت اکستانسیون درآید.



- باید مطمئن بود که بیمار آرام است در این صورت با انجام دم و بازدم مایع مانومتر حرکت می کند و می توان فشار مایع را اندازه گیری نمود، پس از ثبت فشار، مانومتر را جدا نمایند.

- برای اینکه جریان مایع مغزی نخاعی بیشتر شود **مالش فونتانل بچه** می تواند کمک کننده باشد.

افزایش فشار مایع مغزی نخاعی میتواند بیانگر :

- نارسایی قلبی ،
- خونریزی ساب آراکنوئید.
- هیپواسمولالیتی ناشی از همودیالیز ،
- التهاب مننژ ، مننژیت چرکی و مننژیت TB باشد.

کاهش فشار مایع مغزی نخاعی می تواند بیانگر :

- انسداد کامل فضای ساب اراکنوئید ،
- نشت مایع مغزی نخاعی ،
- دهیدراتاسیون شدید،
- هیپراسمولاریتی و
- کلاپس عروقی باشد.
- تغییرات فاحش فشار در طی انجام LP می تواند نشانه تومور یا بلوک نخاع در نتیجه افزایش زیاد مایع مغزی نخاعی، هیدروسفالی با حجم زیاد مایع مغزی نخاعی باشد.

جمع آوری نمونه

- مایع مغزی نخاعی جهت انجام آزمایش باید در سه لوله استریل جمع آوری شود. استفاده از **لوله های پلاستیکی** مناسب تر است.

- ۱ تا ۲ سی سی مایع مغزی نخاعی را در هر لوله بریزید.

- لوله اول برای قند و پروتئین و

- لوله دوم برای رنگ آمیزی گرم و کشت و

- لوله سوم برای شمارش سلول و هماتولوژی

- لوله چهارم (در صورت لزوم) برای سایر موارد مثل بررسی ویروس ،

- رنگ آمیزی جوهر هندی, VDRL, سیتولوژی و بررسی آنتی ژن کریپتوکوکوس .



• ثبت اطلاعات :

- ثبت اطلاعات گام اولیه و جزء مهمترین مراحل انجام آزمایش می باشد و بسیاری از خطاهای انسانی در مرحله قبل از آنالیز مایع مغزی نخاعی رخ می دهند، بنابراین باید توجه کافی به این مرحله به ظاهر ساده معطوف گردد .
- لازم است پزشک اطلاعات مربوط به آزمایش را در پرونده درج نماید .

• ۱ - مشخصات ظاهری مایع مغزی نخاعی : شفاف بودن ، کدر بودن و خونی بودن مایع ذکر شود، مایع مغزی نخاعی نرمال شفاف است. کدورت های خفیف می توانند به نفع مننژیت حاد یا مننژیت مزمن باشند . **در مننژیت باکتریال مایع مغزی نخاعی می تواند کدر باشد .**

• ۲- در صورتیکه مایع مغزی نخاعی خونی باشد ذکر شود که بتدریج مایع روشن شد یا میزان خونی بودن در تمام ۴ لوله یکسان بود.

• ۳- فشار مایع مغزی نخاعی.

• ۴- وضعیت عمومی بیمار در طی انجام آزمایش گزارش شود.

• فرم درخواست انجام آزمایش ، شامل حداقل اطلاعات ذیل باشد:

• - نام بیمار

• - سن و جنس بیمار

• - بخش بستری / شماره تخت

• - کد پذیرش

• - محل جمع آوری نمونه (نخاع کمری، شانته ،...)

• - تشخیص بالینی

• - آزمایشات مورد درخواست به تفکیک ذکر شود. (از ذکر جملاتی چون

نمونه مایع مغزی نخاعی آزمایش شود باید خودداری نمود)



- برجسب لوله نمونه گیری شامل حداقل اطلاعات ذیل باشد:

- - نام بیمار

- - بخش بستری

- - تاریخ نمونه گیری

- - نوع نمونه

- پزشک باید لوله ها را برجسب زده و مشخصات مریض ، تاریخ و ساعت

انجام آزمایش را بر روی لوله ها یادداشت نماید.

نکته

- نحوه نمونه گیری و میزان نمونه در نتایج بدست آمده تأثیر بسزایی دارد.
میزان نمونه مورد نیاز بر حسب شرایط متغیر بوده ولی حداقل ۱۰-۵ میلی لیتر
مورد نیاز است . چنانچه حجم نمونه کمتر از میزان استاندارد باشد حساسیت
آزمون ها پایین می آید و مضرات این مساله برای بیمار از خطرات انجام
پونکسیون مجدد برای بدست آوردن نمونه کافی بیشتر به نظر می رسد.
در صورتی که میزان مایع مغزی نخاعی کم بوده و تنها در یک لوله به
آزمایشگاه ارسال شود . ابتدا با سرسمپلر استریل مقداری از مایع مغزی نخاعی
برای شمارش سلول جدا شده ، مابقی سانتریفوژ شده و جهت انجام کشت و
آزمایش های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار می گیرد .

• نکته مهم

• مایع مغزی نخاعی باید سریعاً به آزمایشگاه منتقل شود:

• * زیرا سلول های پلی مورفونو کلئر در طی ۲ ساعت تا ۶۸٪ کاهش می یابند

• **و میزان قند مایع نیز تغییر می کند.

• چنانچه به هر دلیل ارسال سریع نمونه مقدور نباشد نمونه باید در دمای ۳۵

درجه سانتیگراد یا حرارت اتاق قرار گیرد (حداکثر یک ساعت)، اگر چه در

برخی مراجع ۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نیز ذکر شده است.

موارد منع بذل مایع نخاع:

۱- شواهدی به نفع وجود يك ضایعه تومورال یا آبسه داخل مغز وجود داشته

باشد.

۲- وجود علائم افزایش فشار داخل مغز مانند مردمک های غیر قرینه، فشار خون بالا، برادی کاردی، تنفس نامنظم علائم موضعی عصبی هستند که شواهدی از هرینه شدن مغز می باشد.


آنچه مسلم است اینکه علائم و نشانه های هر نیاسیون مغزی در ۶-۴٪ بچه ها با مننژیت باکتریال دیده می شود و این عارضه علت ۳۰٪ مرگ و میر های مننژیت محسوب می شود.

هر نیاسیون در طی مننژیت حتی بدون انجام LP هم اتفاق می افتد ولی تأخیر در انجام بزل مایع نخاعی زمانیکه علائم هر نیاسیون دیده شود می تواند نجات بخش باشد.

بیشتر کودکان با مننژیت باکتریال و علائم کلینیکی مشکوک به افزایش فشار داخل

مغزی ممکن است سی تی اسکن مغزی نرمال داشته باشند و **مرگ و میر در**

اثر هر نیاسیون بدنبال بزل مایع نخاعی حتی با اسکن نرمال نیز اتفاق می افتد.



طبیعی بودن سی تی اسکن در یک کودک با علائم
بالینی هر نیاسیون مغزی بدین معنی نیست که انجام
بزل مایع نخاعی بی خطر است.

ادامه منع بزل مایع نخاع

- ۳- عفونت در پوست محل انجام LP.
- ۴- بروز علائم اختلالات خونریزی دهنده
- ۵- نارسایی و اختلالات قلبی - ریوی.
- از آنجائی که برای انجام بزل مایع نخاعی فلکسیون گردن و تنه لازم می باشد ، این حالت می تواند باعث هیپوکسمی در کودک شود که بهتر است با تجویز اکسیژن قبل از بزل مایع نخاعی ، پیشگیری شود
- ۶- بیماران با سایکوز شدید یا نوروز با درد پشت

نکته

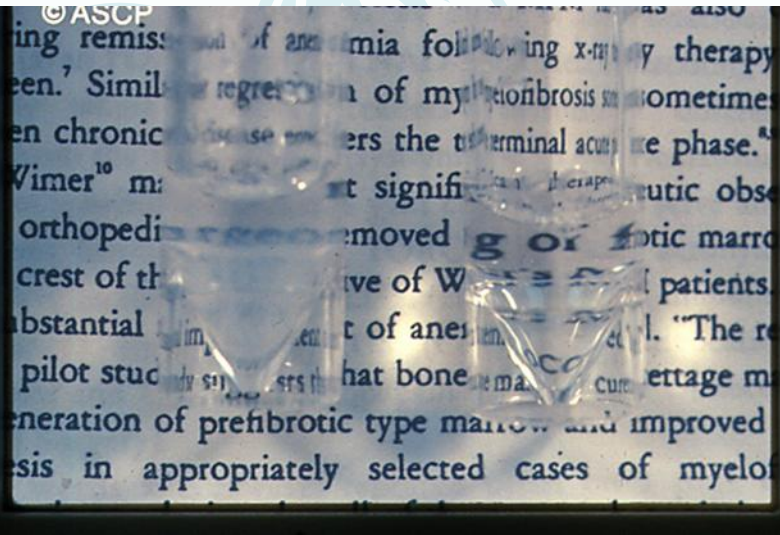
*****:فشار CSF به طور طبیعی ۷۰-۲۰۰ است.فشار بالاتر از ۲۰۰ غیر طبیعی در نظر گرفته میشود*****.

انجام این روش در موارد وجود توده های داخل جمجمه ای میتواند خطر ساز باشد چون فشار داخل جمجمه به دلیل خارج کردن مایع کاهش می یابد و مغز ممکن است از راه فورامن مگنوم یا چادرینه به طرف پایین بیرون زدگی پیدا کند.

موارد غیر طبیعی:

نئوپلاسم مغزی ، نئوپلاسم طناب نخاعی ، خونریزی مغزی ، تومور متاستاتیک ، انسفالوپاتی ، مننژیت ویروسی یا توبرکلوزیس ، ام اس ، خونریزی ساب آراکنوئید ، سندروم ری ، میلیت ، نورو سیفلیس ، اختلالات خودایمنی، آبسه مغزی

گزارش ماکروسکوپی:



– ظاهر (Appearance) :

– Crystal clear (زلال و شفاف)

– Cloudy or turbid (ابری یا کدر)

– milky (شیری)

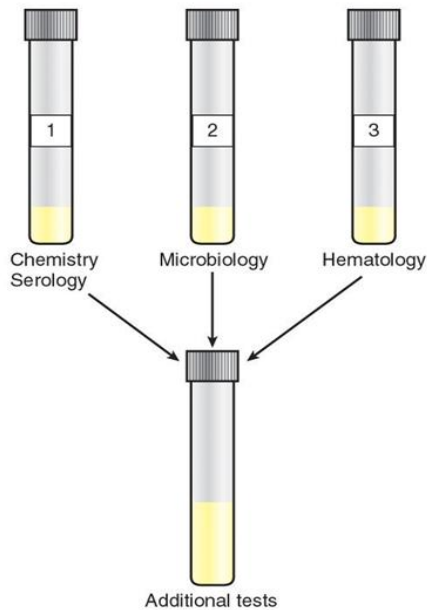
– xanthochromic (زرد فام-زانتو کرومیا)

– bloody (خونی)

– (لخته)-clot-فیبرینوژن در اثر تروما یا damage blood-brain barrier

اساس روش آزمایش:

بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی



Copyright © 2008 F.A. Davis Company www.fadavis.com

– نمونه مورد نیاز در بخش : مایع *CSF* ارسالی

– این نمونه در آزمایشگاه نمونه گیری نمی شود و از بیمارستان یا بخش ارسال میگردد

– نمونه استاندارد نمونه ای است که در سه لوله نمونه گیری شده باشد.

– لوله شماره ۱ برای آزمایشهای شیمیایی و سرولوژی *frozen*

– لوله شماره ۲ برای آزمایشهای میکروب شناسی *room temp*

– لوله شماره ۳ برای شمارش سلولی (هماتولوژی) *refrigerated*

مراحل انجام آزمایش مایع مغزی نخاعی در آزمایشگاه

- در آزمایشگاه در ابتدا نمونه مایع مغزی نخاعی از نظر ظاهر بررسی میشود . شفاف یا کدر بودن باید در جواب آزمایش ذکر شود. کدر بودن میتواند بدلیل:
 - حضور میکرو ارگانیسمها
 - گلبول های سفید با تعداد بیش از $200/ml$ ، و
 - افزایش میزان گلبول قرمز بیش از $400/ml$ باشد.
- **Tyndal's effect** عبارت است از مشاهده ذرات معلق در مایع مغزی نخاعی در مجاورت نور؛ که می تواند در ارزیابی شفافیت مایع کمک کند.
- وجود لخته میتواند حاکی از پونکسیون تروماتیک یا مننژیت سلوی و یا مننژیت چرکی باشد ، افزایش پروتئین در مایع مغزی نخاعی در بیمار می تواند مسئول ایجاد لخته باشد

تذکر : در خونریزی های ساب اراکتوئید مایع مغزی

نخاعی خونی است اما لخته ایجاد نمی شود.



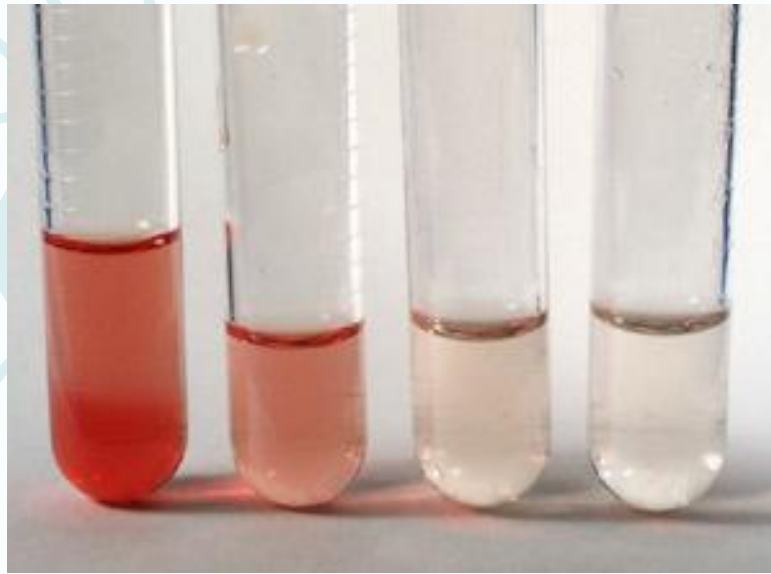
• - رنگ مایع مغزی نخاعی مهم است.

• رنگ صورتی قرمز می تواند حاکی از وجود بیش از ۶۰۰۰ گلبول قرمز باشد که این خود می تواند بدلیل بزل نخاعی تروماتیک ، خونریزی فضای زیر عنکبوتیه و خونریزی داخل مغزی و انفارکت باشد.

• گزانتوکرومی مایع مغزی نخاعی می تواند تا چند هفته بعد از خونریزی در فضای ساب اراکنوئید باقی بماند .

Xanthochromic : (زانتوکرومیا)

- در این حالت مایع رویی CSF با رنگ صورتی ، نارنجی یا زرد دیده می شود .
وجود محصولات حاصل از متلاشی شدن گلبولهای قرمز یکی از دلایل عمده تولید این نوع ظاهر است . بر حسب مقدار خون و مدت زمان حضور آن :
- رنگ CSF می تواند از صورتی (مقدار خیلی کم اکسی هموگلوبین)
- تا نارنجی (همولیز شدید) و
- سر انجام زرد (تبدیل اکسی هموگلوبین به بیلی روبین غیر کنژوگه) تغییر یابد .



نکات قابل توجه

– روش تشخیص :

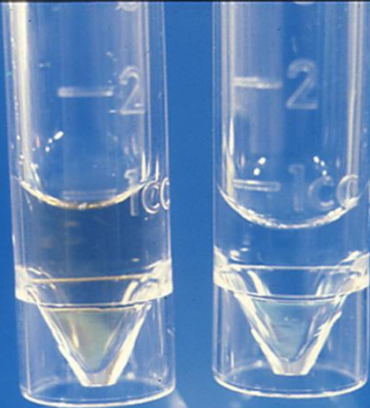
– چنانچه نمونه خونی CSF فوراً سانتریفیوژ گردد و رنگ صورتی تا قرمز مشاهده شود ، بیانگر خونریزی واقعی است و **تاخیر در سانتریفیوژ موجب گزارش کاذب مثبت می شود .**

– برای گزارش زانتوکرومیا لوله حاوی CSF بایستی بلافاصله سانتریفیوژ شده و رنگ لایه رویی با لوله آب مقطر مقایسه گردد .

– **حجم:** حجم مایع ارسالی قبل از هر کاری باید ثبت گردد . جهت مشخص شدن میزان حجم

لوله ارسالی باید با لوله درجه بندی هم سایز مقایسه گردد .

© ASCP



از علل زانتوکرومیا:



- خونریزی مغزی،
- تاخیر بیش از یکساعت در سانتریفیوژ کردن CSF خونی ،
- افزایش بیلی روبین سرم در بیمار مبتلا به ژاندریس (یرقان) ،
- درمان با ریفامپین ،
- مصرف ترکیبات کاروتینوئید (هیپرویتامینوز A) ،
- ملانوماى منتشره به سیستم اعصاب (رنگ قهوه ای) ،
- آلودگی لوله آزمایش با ماده ضد عفونی کننده (merthiolate) ،
- پروتئین بیشتر از ۱۵۰ میلی گرم درصد و همچنین بدلیل کارکرد ناقص کبد بویژه در شیر خواران نارس .

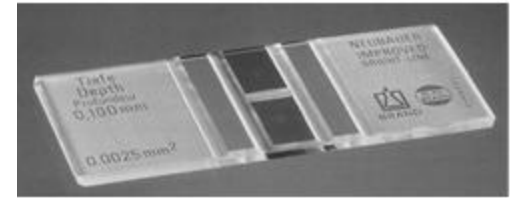
- **Appearance**
 - Pellicle formation in refrigerated specimen associated with tubercular meningitis.
 - Pellicle formation - picture at right (**pellicle in L. tube, R is normal**)



- مایع مغزی نخاعی گزانتوکروم می تواند بدلیل وجود **پروتئین** بیش از ۱۲۰ میلی گرم در دسی لیتر ایجاد شود و در مواردی که پروتئین مایع مغزی نخاعی به میزان زیادی بالا باشد مثل انسداد کامل نخاع مایع مغزی نخاعی نیز گزانتوکرومیا ایجاد می شود (حتی بدون حضور RBC)

Xanthochromic CSF

ظاهر	موارد
<p>بیرنگ و شفاف</p> <p>شفاف با اثر Tyndal</p> <p>شفاف و زرد رنگ</p> <p>شفاف و قرمز رنگ</p> <p>کدر و قرمز رنگ</p> <p>کدر و سفید رنگ</p>	<p>طبیعی</p> <p>پروتئین بالا</p> <p>همولیز قدیمی ، بیلی روبین بالا</p> <p>همولیز تازه</p> <p>خونریزی</p> <p>با پروتئین یا سلول بالا</p>



شمارش سلول بر روی لام نئوبار

- آماده سازی نمونه :
- - تمام نمونه های بیشتر از ۱ میلی لیتر باید حداقل به مدت ۵ دقیقه در ۵g سانتیفریژ شوند. بجز برای ارزیابی سلولی مایع مغزی نخاعی که از نمونه سانتیفریژ نشده استفاده می شود.
- - مایع رویی داخل لوله استریل ریخته شده و حدود ۵/۰ سی سی رسوب در ته لوله باقی می ماند که برای بررسی میکروسکوپی و کشت بکار می رود.
- - مخلوط کردن رسوب پس از جدا کردن مایع رویی بسیار ضروری است. می توان رسوب را چندین بار با سمپلر استریل اسپیره و خالی کرد تا تمام ارگانیزم هایی که بعد از سانتیفریژ به ته لوله چسبیده اند به طور همگن در رسوب پخش شوند.
- - از مایع رویی می توان برای بررسی آنتی ژنی و تست های بیوشیمیایی استفاده نمود.

سلول در مایع مغزی نخاعی

- وجود گلبول سفید در مایع مغزی نخاعی پلئوسیتوز نامیده می شود.
- تعداد کم مونوسیت می تواند نرمال باشد
- اما وجود گرانولوسیت همیشه غیر طبیعی است و تعداد گرانولوسیت زیاد می تواند بیانگر مننژیت باکتریال باشد.
- وجود WBC می تواند در نتیجه:
 - واکنش به انجام LP مکرر،
 - واکنش به تزریقات دارویی در محل ،
 - خونریزی CNS ،
 - لوسمی ، تشنج اخیر ،
 - تومور متاستاتیک ،
 - تروماتیزه شدن LP و
- مخلوط شدن مایع مغزی نخاعی با خون محیطی باشد که در این حالت وجود RBC در مایع مغزی نخاعی ضرورت دارد و نسبت آن همانند نسبت RBC به WBC در خون محیطی می باشد .

- در صورتیکه گلبول قرمز در CSF وجود داشته باشد باید مشخص گردد مربوط به وجود خون در CSF است یا در اثر انجام یک بزل مایع نخاعی ترومانیک ظاهر شده است.
- بهترین راه این است که نمونه مایع مغزی نخاعی سانتریفوژ شود . دیدن رنگ زرد مایع نشانه خونریزی در مغز می باشد اگر چه این رنگ زرد (گزانتوکرومی) با چشم هم قابل رویت هست اما می توان آن را در لابراتوار نیز اندازه گیری نمود.

• - شمارش سلولی : برای شمارش گلبول های سفید مایع مغزی نخاعی به هیچ

عنوان از سل کانتر استفاده نمی شود

• **شمارش باید به روش دستی و با لام نئوبار انجام شود.**

• یک قطره مایع مغزی نخاعی بین لام و لامل قرار میگیرد، به نحوی که

فضای زیر لامل پر شود و با بزرگنمایی ۴۰ گلبول های سفید در ۴ مربع

بزرگ کناری شمرده می شود .

• فاکتور رقت $\times 10 \times$ تعداد سلول شمارش شده = تعداد سلول در میلی متر مکعب

• تعداد مربع شمارش شده

- در صورتی که نمونه رقیق نشود و شمارش تنها در ۴ مربع فوق انجام شده باشد ، می توان فرمول فوق را ساده نمود و تعداد سلول های شمارش شده را در عدد ۵۰ ضرب کرده و تعداد RBC را در میلی متر معکب مایع مغزی نخاعی بدست آورد.

• در صورتی که مایع مغزی نخاعی به دلیل پونکسیون تروماتیک حاوی خون باشد باید تعداد گلبول های سفید را اصلاح نمود.

• WBC اضافه شده به مایع مغزی نخاعی ناشی از خونریزی - WBC
شمارش شده در مایع مغزی نخاعی = WBC واقعی مایع مغزی نخاعی

•
$$\text{مایع مغزی نخاعی RBC} = \text{WBC خون محیطی} \times \frac{\text{WBC مایع مغزی نخاعی}}{\text{RBC خون محیطی}}$$

• در صورتی که تعداد گلبول های سرخ خون محیطی در محدوده نرمال باشد

به طور متوسط به ازای هر ۷۰۰ گلبول سرخ ، ۱ گلبول سفید به مایع مغزی

نخاعی اضافه می شود .

• نسبت گلبول سفید مشاهده شده

• گلبول سفید مورد انتظار

• بالاتر از ۱۰ دارای حساسیت ۸۸% و اختصاصیت ۹۰% جهت تشخیص مننژیت باکتریال است .

•
•
•

گستره رنگ آمیزی شده

- جهت شمارش افتراقی گلبول های سفید بکار می رود.
- یک قطره از رسوب مایع مغزی نخاعی سانتریفوژ شده را روی لام قرار داده و پس از خشک شدن در هوای اتاق با استفاده از رنگ راییت رنگ نموده و با بزرگنمایی ۱۰۰ شمارش افتراقی انجام می شود. **در گستره های تهیه شده از سایتوسانتریفوژ ، سلول ها بهتر حفظ می شوند.**

- تعداد WBC در افراد بالغ / 5μ - ۰

- در نوزادان 1μ / ۳۰ - ۰ است

- به طور طبیعی مایع مغزی نخاعی حاوی تعداد کمی لنفوسیت و منوسیت است .

- نسبت لنفوسیت / منوسیت در بالغین معادل ۷۰ / ۳۰ می باشد .

- در کودکان ممکن است تعداد منوسیت ها بالاتر بوده و تا ۸۰ % سلول ها را تشکیل دهند .

- حد فوقانی طبیعی نوتروفیل در صورت شمارش گلبول سفید طبیعی ۷ % می باشد .

نوع سلول	نوزادان (%)	بالغين (%)
لنفوسیت	۲۰ ± ۱۸	۶۲ ± ۳۴
منوسیت	۷۲ ± ۲۲	۳۶ ± ۲۰
نوتروفیل	۵ ± ۳	۵ ± ۲
هیستیوسیت	۵ ± ۴	نادر
سلول اپاندیمال	نادر	نادر

مقادیر مرجع شمارش افتراقی مایع مغزی نخاعی
 بدست آمده با روش سانتریفوژ

قند :

- بصورت نرمال گلوکز در مایع مغزی نخاعی وجود دارد و میزان آن ۶۰٪ گلوکز خون محیطی می باشد .
- توصیه می گردد همزمان با LP یک نمونه خون محیطی بیمار جهت ارزیابی گلوکز گرفته شود.
- میزان قند مایع مغزی نخاعی بسیار مهم است بطوریکه در مننژیت های باکتریال میزان آن کاهش می یابد

• کاهش گلوکز در مایع مغزی نخاعی بیانگر

• وجود عفونت قارچی ، باکتری ، میکوباکتریال در مایع مغزی نخاعی است .

• لنفوم – کارسینوماتوز مننژ مغزی (حتی با سیتولوژی منفی) ،

لوسمی مننژ ، مننژیوم انسفالیت اوربونی ، هیپوگلیسمی میتواند با کاهش قند CSF همراه باشد .

• قند کمتر از ۳/۱ قند خون همراه با لاکتات پایین در مایع مغزی

نخاعی مشخصه hereditary glucose transporter deficiency

در مایع مغزی نخاعی می باشد

- اندازه گیری گلوکز مایع مغزی نخاعی مشابه اندازه گیری گلوکز سرم به روش دستی یا دستگاهی قابل انجام است . نتایج باید با سطوح سرمی گلوکز مقایسه شوند و بهتر است اندازه گیری بعد از ناشتایی ۴ ساعته انجام شود. در صورت تأخیر در انجام آزمایش سطح گلوکز سریعاً پایین می آید بنابراین باید اندازه گیری گلوکز به سرعت پس از نمونه گیری انجام شود.

میزان پروتئین مایع مغزی نخاعی

- در تشخیص بیماری های سیستم عصبی مرکزی کمک کننده است .
یادآوری این نکته مهم است که میزان پروتئین مایع مغزی نخاعی تحت تأثیر محل بدست آوردن آن از سیستم عصبی قرار می گیرد، بطوریکه **هر چه از بطن بطرف قسمت انتهایی نخاع جریان پیدا می کند میزان پروتئین کاهش میابد.**

- عواملی که باعث افزایش پروتئین مایع مغزی نخاعی می گردند

در واقع :

- باعث افزایش نفوذپذیری سد خون و مایع مغزی نخاعی می

گردند. مانند: انسداد در مسیر جریان مایع مغزی نخاعی ،

- مننژیت باکتریال ، مننژیت TB ، سیفلیس ،

- اَبسه مغزی ،

- خونریزی ساب اراکنوئید ،

- پولیو ،

- بیماریهای کلاژنی ؛

- سندرم گیلن باره ،

- Leakage ،

- افزایش فشار داخل مغزی و هیپروهپیو تیروئیدی ، بیماری های

دمیلینیزان، میزان Traumatic (به ازای هر ۷۵۰ عدد RBC یکی

میلی گرم پروتئین افزایش میابد.)

اندازه گیری پروتئین مایع مغزی نخاعی

- به روش کدورت سنجی انجام می شود . از تری کلرواستیک اسید (TCA) یا سولفوسا لیسلیک اسید . به دلیل سادگی ، ارزانی و سرعت بیشتر از سایر روشها ، استفاده می شوند .

نکته :

در صورت مصرف متوترکسات ممکن است افزایش کاذب پروتئین در مایع مغزی نخاعی در روش کدورت سنجی با TCA دیده شود .

- - روش رنگ سنجی (colorimetry) : که شامل روش بیوره Coomassie Brilliant Blue ، CBB ، Lowry assay می باشد و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر انجام می شود
- - روشهای ایمونوتوربیدومتری و ایمونونفلمتری

الکتروفورز پروتئین های مایع مغزی نخاعی

- - در الکتروفورز مایع مغزی نخاعی طبیعی ۲ باند متفاوت با سرم دیده می شود.

- یک باند مشخص ترانس تیرتین و

- یک باند اضافه ترانسفرین

- این روش در افتراق نشت مایع مغزی - نخاعی در شکستگی

های جمجمه از بینی یا گوش بسیار کمک کننده است (وجود ۲ باند

ایزوفورم ترانسفرین به نفع نشت مایع مغزی نخاعی است) در سایر

مایعات بدن تنها یک باند ترانسفرین وجود دارد .

- فرمولی مشابه WBC اصلاح شده جهت اصلاح میزان پروتئین در Tap تروماتیک وجود دارد .

- $$[\text{پروتئین اضافی شده} = \text{پروتئین سرم} \times \text{RBC CSF} \times (1 - \text{Hct})]$$

- **RBC خون**

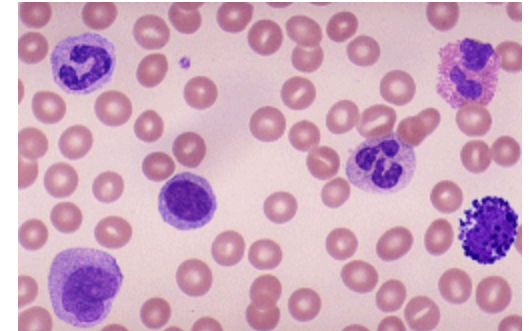
- اگر تعداد RBC خون محیطی در حد طبیعی باشد به ازاء هر RBC/ mL 10000 ، 8 mg/dl پروتئین به مایع مغزی نخاعی اضافه می شود..

رنگ آمیزی

- بعد از تجزیه و تحلیل بیوشیمیائی ، باید رنگ آمیزی گرم بر روی نمونه مایع مغزی نخاعی انجام شود. این آزمایش جهت اثبات وجود باکتری در مایع مغزی نخاعی کمک کننده می باشد. رنگ آمیزی گرم حساسیت حدود ۹۰ - ۶۰ % داشته و می تواند در مواردیکه بیمار آنتی بیوتیک مصرف کرده و کشت منفی است تا حدی کمک کند، گر چه خود این آزمایش می تواند تحت تأثیر مصرف آنتی بیوتیک منفی کاذب شود. در مواردی که به ارگانیزم های خاصی مانند قارچ ها یا مایکوباکتریوم مشکوک باشیم از رنگ آمیزی India-ink و اسیدفاست استفاده میکنیم. رنگ آمیزی India Ink هنوز به عنوان یک تست استاندارد در تشخیص مننژیت ناشی از کریپتوکوکوس نئوفورمنس بحساب می آید .

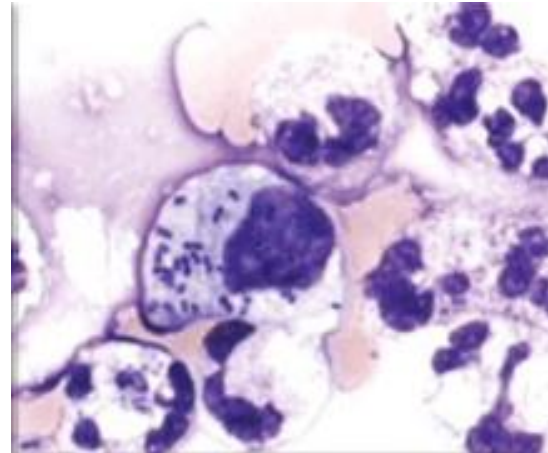
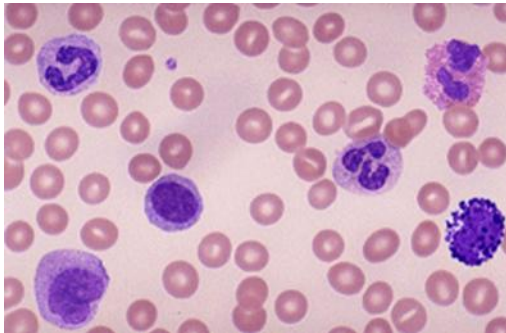
Cerebrospinal Fluid (CSF)

- Entire smear should be evaluated for
 - abnormal cells, inclusions within cells, Clusters, Presence of intracellular organisms
- Normal differential values
 - **Adults: 70% lymps, 30% monos.**
 - Children / newborns: monocyte



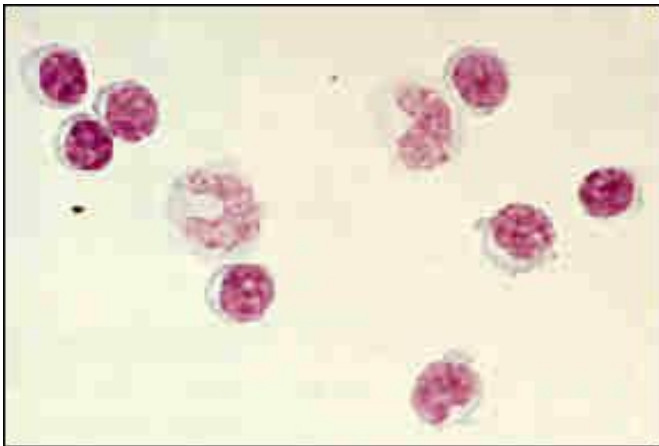
Cerebrospinal Fluid (CSF)

- Entire smear should be evaluated for
 - abnormal cells
 - inclusions within cells
 - Clusters
 - Presence of intracellular organisms

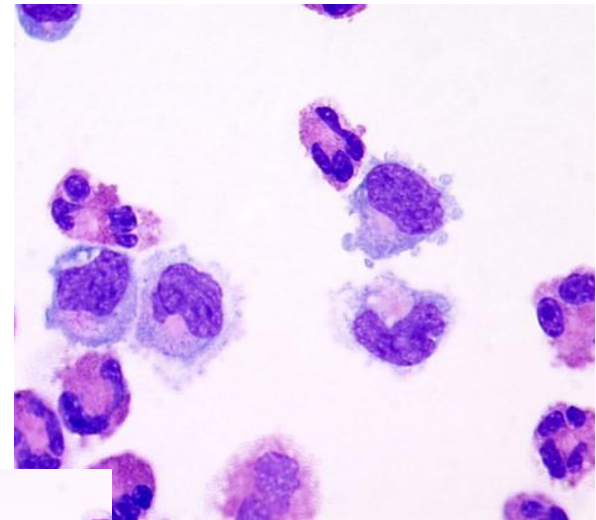


Cerebrospinal Fluid (CSF)

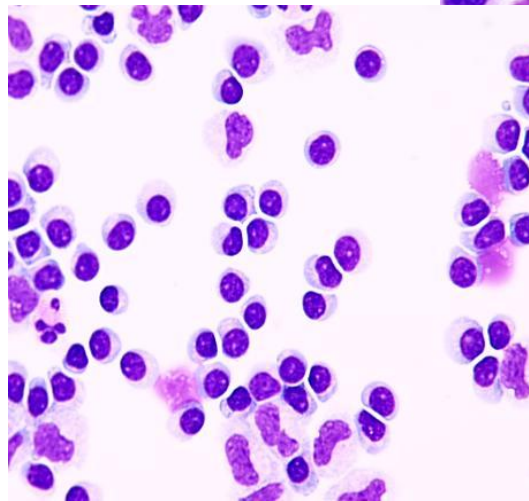
Lymphocytes & monocytes



Mono / macro, segs
and lymph

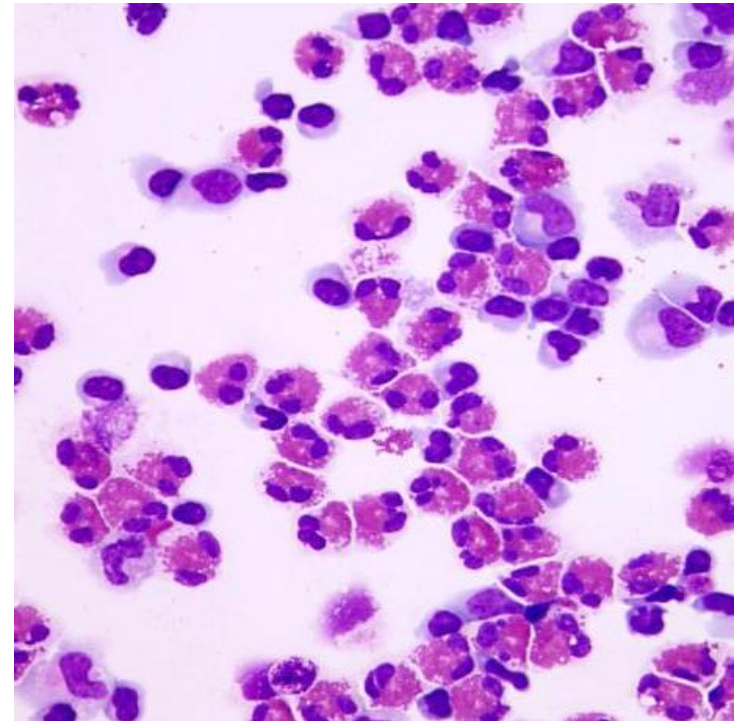
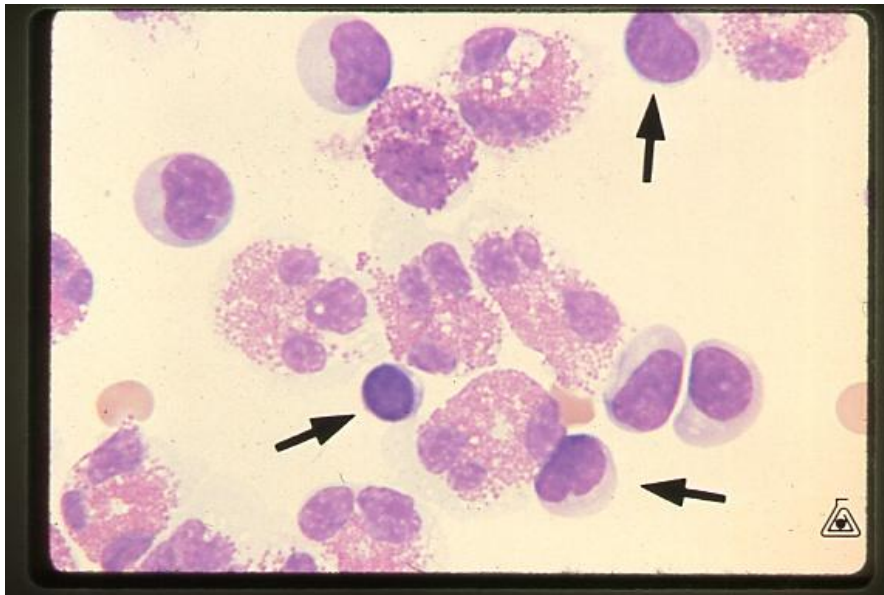


L - lymphocytes &
macrophages



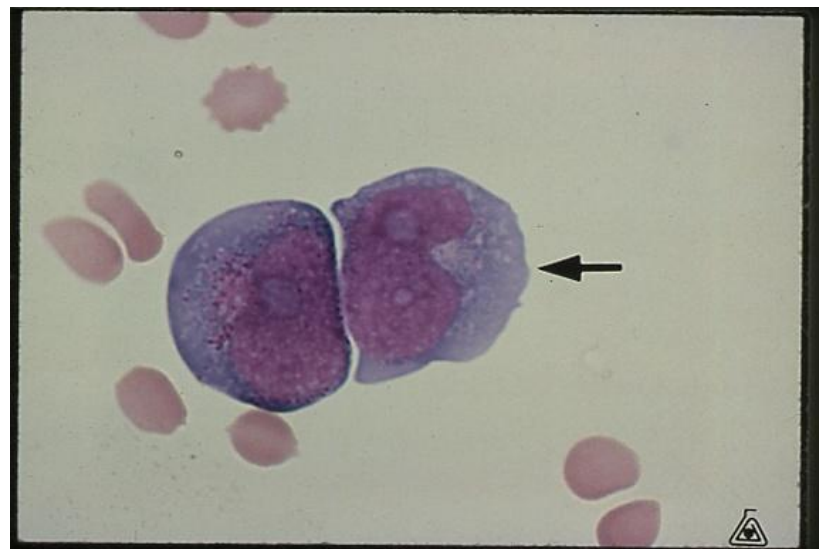
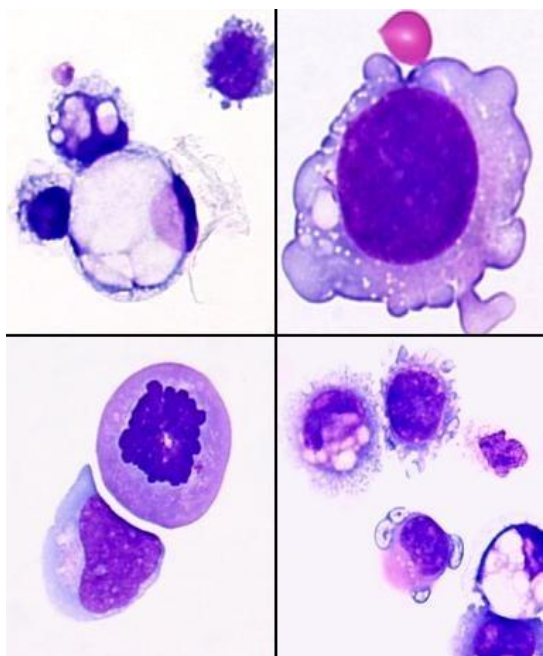
Cerebrospinal Fluid (CSF)

- Eosinophils
 - Often associated with parasitic / fungal infections, allergic reactions including reaction to shunts and other foreign objects.



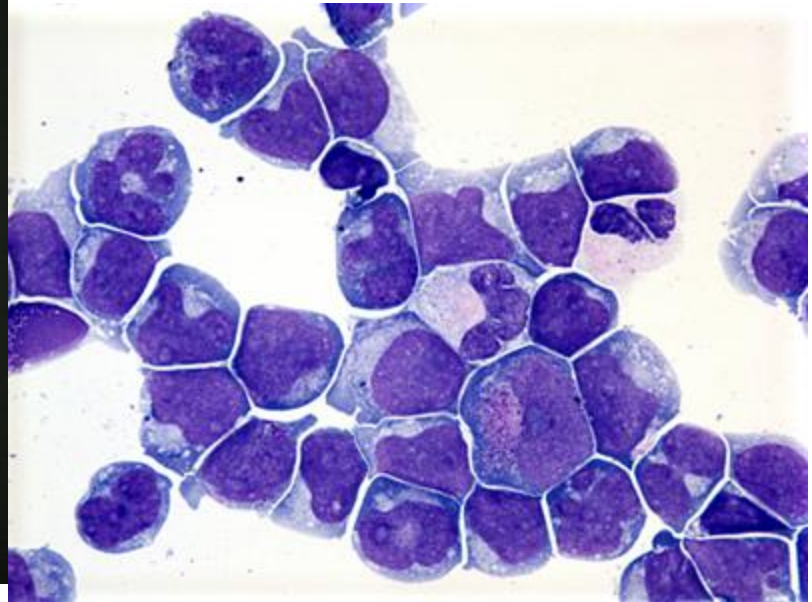
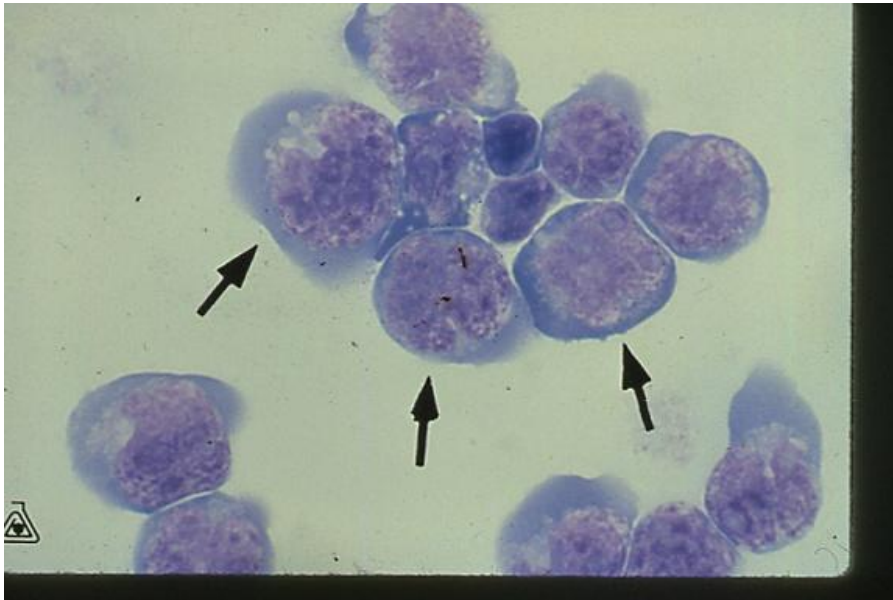
Cerebrospinal Fluid (CSF)

- Cytology - send unstained slide to cytology / pathology
- - **blasts (appearance similar to peripheral blood**, always consult with hematology specialist / pathologist) (see below right)

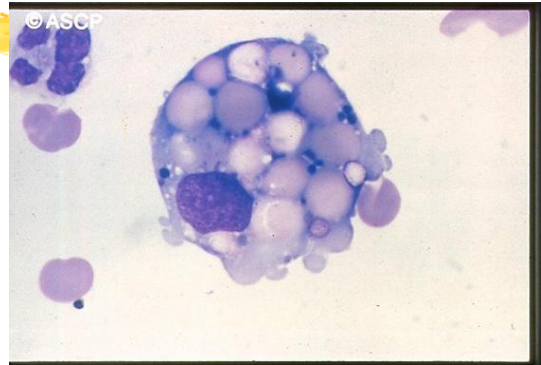


Cerebrospinal Fluid (CSF)

- - we classify them as 'other' or 'unclassified' and take the slide to the cytologist / pathologist
- Right is **leukemic cells found in CSF**

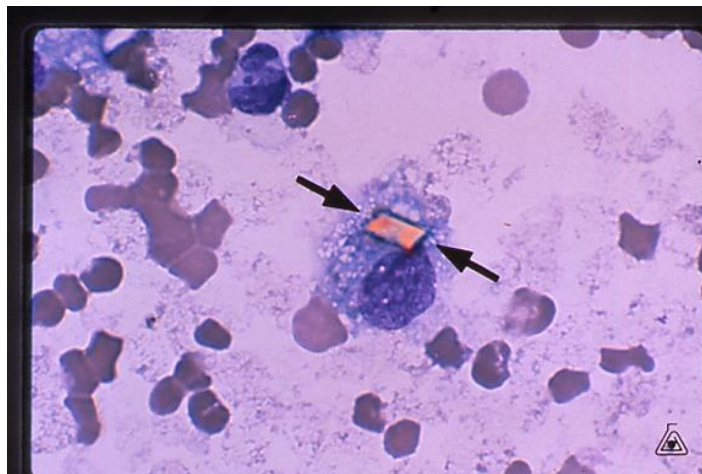


Cerebrospinal Fluid (CSF)

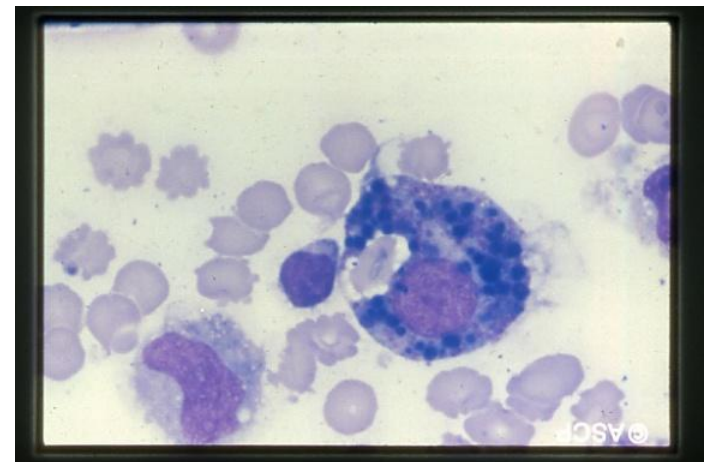


- erythrophage, with few iron granules forming

hematoidin crystal / bilirubin crystal



macrophage, lymphocyte, siderophage



اقدام بعدی در برخورد با نتایج غیر طبیعی:

– مداخله گرها و واکنش های تداخلی :

– استفاده از لوله آزمایش شیشه ای سبب چسبیدن سلولها به جدار لوله شود و در شمارش تعداد کلی سلولها و شمارش افتراقی تاثیر می گذارد .

– وجود لخته در مایع ارسالی به آزمایشگاه

– نکات ایمنی :

– مانند هر مایع یا خون انسانی باید نمونه آلوده تلقی شود و نکات ایمنی رعایت شود .

–

A close-up photograph of a bouquet of yellow lilies. The flowers are in various stages of bloom, with some fully open and others as buds. The petals are a vibrant yellow, and several have dark brown or black spots near the center. The background is slightly blurred, showing more of the bouquet and some green leaves. The overall lighting is warm and soft.

Thanks For Your Attention