مایع CSF

مایع مغزی نخاعی

مایع شفافی است که به صورت اولترا فیلتر از پلاسما تشکیل می شود. CSF در هر دو بخش داخل جمجمه و ستون فقرات وجود دارد، به طور مداوم توسط شبکه مشیمیه با سرعت ثابت در داخل بطن های مغز ترشح می شود و در فضای زیر عنکبوتیه مغز و نخاع از طریق مسیرهای CSF گردش می کند. حجم کل CSF در بزرگسالان تقریباً 140 میلی لیتر است و تولید روزانه آن به 500 mL می‌رسد یعنی در هر 7-5 ساعت مایع موجود تعویض شده و با مایع تازه جایگزین می گردد؛ درنتیجه نتایج آزمایشگاهی ممکن است درزمانهای مختلف کاملا متفاوت باشد. CSF مواد مغذی را تامین می کند و همچنین به حذف مواد مختلف مانند اسیدهای آمینه، انتقال دهنده های عصبی، محصولات جانبی متابولیک و سلول ها کمک می کند.

اندیکاسیون های جمع آوری CSF شامل چهار دسته اصلی بیماری است: بدخیمی سیستم عصبی مرکزی، بیماری دمیلینه کننده، عفونت مننژ و خونریزی زیر عنکبوتیه.

معمولاً CSF با پونکسیون کمری ودر 4-3 لوله ودر هر لوله 4-3 mL (برای 10mL TB) جمع آوری می شود. به طور کلی، لوله اول برای تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی یا سرولوژیکی، لوله دوم برای آزمایش میکروبی و لوله سوم برای شمارش سلولی و افتراقی استفاده می شود. لوله چهارم ممکن است برای سیتولوژی یا سایر آزمایشات تخصصی مورد استفاده قرار گیرد.

باید در نظر گرفت که به محض نمونه‌گیری، نمونه به آزمایشگاه انتقال داده شده و در سریع‌ترین زمان ممکن و حداکثر در عرض یکساعت آنالیز آن انجام شود. تاخیر درانجام آزمایش برروی مایع مغزی نخایی موجب کاهش درصد نوترفیل ها می شود (کاهش نوتروفیل تا 70 درصد در تاخیر بیش از دو ساعت). همچنین لوله مربوط به کشت به هیچ وجه نباید در یخچال قرار داده شود.

در حالت روتین آنالیز مایع CSF به 3 دسته بررسی مستقیم، کشت و تست‌های بیوشیمیایی تقسیم می‌شود. اما طبق دستور پزشک معالج علاوه برموارد فوق، از نظر سرولوژی، سیتولوژی، تشخیص مولکولی قابل بررسی می‌باشد.

بررسی مستقیم:

به دو حالت ماکروسکوپی و میکروسکوپی تقسیم می‌شود. در روش ماکروسکوپی رنگ، شفافیت و ویسکوزیته نمونه گزارش می‌شود و گزانتوکرومیا به معنی رنگی بودن مایع رویی پس ازسانتریفیوژ حالتی است که درصورت وجود حتما باید گزارش شود زیرا می‌تواند دلالت بر خونریزی مغزی داشته باشد. اما در روش میکروسکوپی شمارش RBC و WBC موجود در CSF انجام شده و در عین حال شمارش افتراقی WBC نیز گزارش می‌شود.

شمارش مایع CSF با استفاده از لام نئوبار انجام می‌شود. جهت انجام آن ابتدا باید مشخص شود که نمونه نیاز به رقیق‌سازی دارد یا خیر. با توجه به میزان کدورت و یا بررسی با لام معمولی می‌توان تصمیم گرفت که رقیق‌سازی با چه رقتی انجام شود. در مرحله بعد بر روی لام نئوبار، لامل سنگی قرارداده می‌شود و بعد از خوب مخلوط کردن نمونه، 10 µl از نمونه بین لام و لامل قرار داده می‌شود و 5 دقیقه زمان داده می‌شود تا سلول‌ها در کف لام مستقر شوند. در ادامه، زیر میکروسکوپ با عدسی 10 تراکم سلول‌ها در قسمت‌های مختلف بررسی می‌شود؛ در صورتی‌که توزیع یکسانی داشته باشند شمارش آن‌ها با عدسی 40 در یکی از مربع‌های 16 خانه‌ای کافی است اما اگر توزیع، یکسان نباشد بهتر است هر 4 مربع 16 خانه‌ای شمارش شود و میانگین آن‌ها محاسبه شود. عدد به دست آمده ضرب در ضریب ثابت 10 می‌شود. در صورت رقیق-سازی، عدد فوق باید به ضریب رقتی که انجام شده نیز ضرب شود.

درصورتی که نمونه حین نمونه‌گیری آلوده به خون شود عدد به دست آمده برای WBC صحیح نیست و باید با توجه به مقادیر CBC، طبق فرمول زیر اصلاح شود:

$$\text{WBC شمارش شده} = \text{WBC} - [(\text{CSF}_{\text{RBC}}/\text{Blood}_{\text{RBC}}) \times \text{Blood}_{\text{WBC}}]$$

مثال: فرض کنید یک بیمار به ازای هر میکرولیتر دارای 70 هزار RBC در CSF و 5 میلیون RBC در خون باشد. همچنین، تعداد گلبولهای سفید خون 100 عدد در CSF و 7000 عدد در خون باشد. با استفاده از فرمول بالا، می‌توان $WBC_{corrected}$ را به صورت زیر محاسبه کرد:

$$WBC_{corrected} = 100 - [(70000 / 5000000) \times 7000] = 2/\mu l$$

وجود گلبول های سفید در CSF، به استثنای تعداد بسیار کمی گلبول سفید تک‌هسته‌ای، غیر طبیعی می باشد. جهت شمارش افتراقی سلول ها نمونه را در دور کم (1200rpm) به مدت 15-10 دقیقه سانتریفیوژ نموده و از رسوب حاصله اسمیر تهیه می شود، سپس رنگ آمیزی رایت یا گیمسا به روی آن انجام می شود و سلول‌ها به صورت درصد گزارش می‌شود. جهت بررسی میکروسکوپی CSF از نظر میکروبی از رسوب مایع نخاعی اسمیر تهیه می شود و رنگ آمیزی گرم از آن به عمل می‌آید وجود لکوسیت‌های پلی‌مورفونوکلئر (مخصوصا نوتروفیل‌ها) نشان‌دهنده آبسه مغزی و یا مننژیت باکتریایی می‌باشد. در صورتی که لکوسیت‌های تک‌هسته‌ای موجود باشند، مشکوک به مننژیت ویروسی یا سلی و یا آنسفالیت است. لوسمی یا سایر تومورهای بدخیم اولیه یا متاستاتیک امکان دارد باعث افزایش WBC بشوند.

کشت CSF:

محیط‌های کشت باکتریولوژیک شامل یک محیط شکلات‌آگار، بلادآگار، EMB و یک محیط کشت مایع مغذی مانند تیوگلیکولات فاقد معرف است. محیط شکلات‌آگار جهت جداسازی ارگانیسم‌های

پرنیاز مثل هموفیلوس‌آنفلوانزا و نایسریا-منتژیتیدیس می‌باشد. بعد از مخلوط کردن رسوب و تهیه اسمیر، به هر یک از محیط‌های کشت از این رسوب به اندازه یک قطره اضافه می‌شود. محیط-های کشت جامد حداقل به مدت 72 ساعت در 37°C و در اتمسفر 10-5 ٪ CO2 (جار شمع‌دار) نگه‌داری می‌شوند.

اگر احتمال منتژیت قارچی برود، آزمایشگاه باید کشت‌ها را از نظر وجود قارچ بررسی نماید. برای کشت CSF از نظر عوامل قارچی لازم است که دو قطره از رسوب مایع به دو محیط سابرودکستروز-آگار و یا دو محیط عصاره مغز و قلب حاوی 5٪ خون گوسفند، اضافه شود. محیط‌های کشت قارچ می‌بایست در مجاورت هوا به مدت 4 هفته و در دمای 30 °C و 35 °C نگه‌داری و بررسی شوند.

تست‌های بیوشیمیایی:

جهت انجام تست‌های بیوشیمی مایع CSF باید با دور 2000 rpm و به مدت حداقل 5 دقیقه سانتریفیوژ شود و مایع رویی مورد بررسی قرار گیرد. در حالت معمول، اندازه‌گیری گلوکز و پروتئین مد نظر پزشک می‌باشد و حتی اگر توسط پزشک درخواست نشود بهتر است آزمایشگاه این دو مارکر را اندازه‌گیری نماید. اما، از دیگر تست-هایی که ممکن است درخواست شود می‌توان به اندازه‌گیری LDH، کلرید، لاکتیک اسید، گلیسین، گلوتامین، شاخص‌های توموری مثل آلفافیتوپروتئین، β-HCG و CEA اشاره کرد.

باید دقت شود که غلظت پروتئین CSF نسبت به خون و سایر مایعات کم می‌باشد و غلظت آن در حالت عادی در حد میلی‌گرم است و نباید با روش مشابه آن‌ها اندازه‌گیری شود. درصورت خونی بودن مایع می توان از فرمول زیر برای اصلاح پروتئین اندازه گیری شده استفاده کرد:

= پروتئینی که دراثرخونریزی اضافه شده

$[Serum_{protein} \times (1- HCT)] \times RBC_{CSF}/RBC_{Blood}$

	رنج نرمال
Color	Clear
Viscosity	like water
RBCs count	Nil
WBC count	0–5/µl (up to 30 in neonates)
CSF Proteins	بزرگسالان 15–40 mg/dL نوزادان Up to 150
CSF lactate	1–3 mmol/ L
CSF glucose	50–80 mg/dL (دوسوم گلوکز خون)
تست میکروبی	نبود میکروارگانیسم

شمارش افتراقی WBC در حالت نرمال

نوع سلول	بزرگسالان	نوزادان
لنفوسیت	60 ± 20%	20 ± 15 %
منوسیت	30 ±15 %	70 ± 20 %
نوتروفیل	2 ± 4 %	4 ± 4 %
سلولهای نورواکتودرمال	نادر	نادر