

آنالیز مایعات بدن در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی

ارائه کننده: دکتر رضا نوروزی راد

عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی دزفول

استادیار گروه بیوشیمی، تغذیه و ژنتیک

رشته تحصیلی: دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی (پژوهشی)

دیماه ۱۴۰۱

آنالیز مایع مغزی نخاعی

Cerebrospinal Fluid (CSF) analysis

- شرایط نمونه گیری:
 - ناشتایی یا مسکن نیاز ندارد.
 - عمل نمونه گیری بایستی قبل از تجویز آنتی بیوتیک انجام شود.
 - بیمار می بایست قبل از نمونه برداری مثانه و روده هایش را تخلیه نماید.
 - به علت تأخیر در تعادل سرم و CSF، بهترین زمان گرفتن قند سرم، دو تا چهار ساعت قبل از پونکسیون کمری است.
 - نمونه برداری از مایع مغزی نخاعی از فضای بین مهره های ۴ و ۵ کمری به وسیله سوزن LP (Lumbar puncture) و توسط پزشک صورت می گیرد.

- در بیماران دچار افزایش فشار داخل جمجمه LP انجام نمی‌شود، چون می‌تواند باعث فتق مغزی یا مخچه‌ای گردد. قبل از نمونه برداری، معاینات عصبی و حرکتی صورت می‌گیرد.
- بهتر است بیمار مقدار زیادی مایعات بنوشد تا مقدار CSF کشیده شده جایگزین گردد.
- 5-6 ml از مایع نخاع در سه لوله استریل جمع آوری می‌گردد که لازم است در آزمایشگاه از نظر رنگ و ویسکوزیته و شفافیت مورد بررسی قرار گیرد.
- طبقه ارجاع نمونه به آزمایشگاه در هر بیمارستان ممکن است متفاوت باشد.
- کلیه آزمایش‌های درخواستی باید فوراً انجام شوند تا احتمال نتایج کاذب ناشی از تجزیه سلولی و نظایر آن کاهش یابد.

شرایط نگهداری CSF پیش از انجام تست

- نمونه‌ها باید هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه ارسال گردند. پس از گذشت یک ساعت از جمع‌آوری نمونه، لیز سلولی آغاز می‌شود.
- در مورد کشت، نمونه‌ها هرگز نباید در یخچال نگهداری شوند زیرا هموفیلوس آنفلوآنزا و نایسریا مننژیتیدیس از بین می‌روند. بهترین زمان نگهداری پیش از کشت، ۶ ساعت در ۳۷ درجه می‌باشد.
- نمونه‌های مخصوص بررسی عوامل ویروسی را می‌توان تا ۳ روز در ۴ درجه نگهداری نمود. نگهداری نمونه در یخچال موجب تغییر نتایج می‌گردد. تأخیر میان زمان نمونه‌گیری و آزمایش ممکن است نتایج (بویژه شمارش سلولی) را فاقد ارزش سازد.

تولید: روزانه حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر مایع مغزی نخاعی تولید می‌شود (۰/۳ تا ۰/۴ میلی‌لیتر در دقیقه)

- حدود ۷۰٪ مایع توسط اولترافیلتراسیون و ترشح از طریق شبکه‌های مشیمیه (choroidal) و ۳۰٪ توسط پوشش اپاندیم بطنی (ventricular ependymal) و فضای عنکبوتیه (arachnoid) تولید می‌گردد.

حجم: ۹۰ تا ۱۵۰ میلی‌لیتر در بزرگسالان، ۱۰ تا ۶۰ میلی‌لیتر در نوزادان

نوسازی: هر ۵ تا ۷ ساعت یک‌بار تعویض می‌گردد

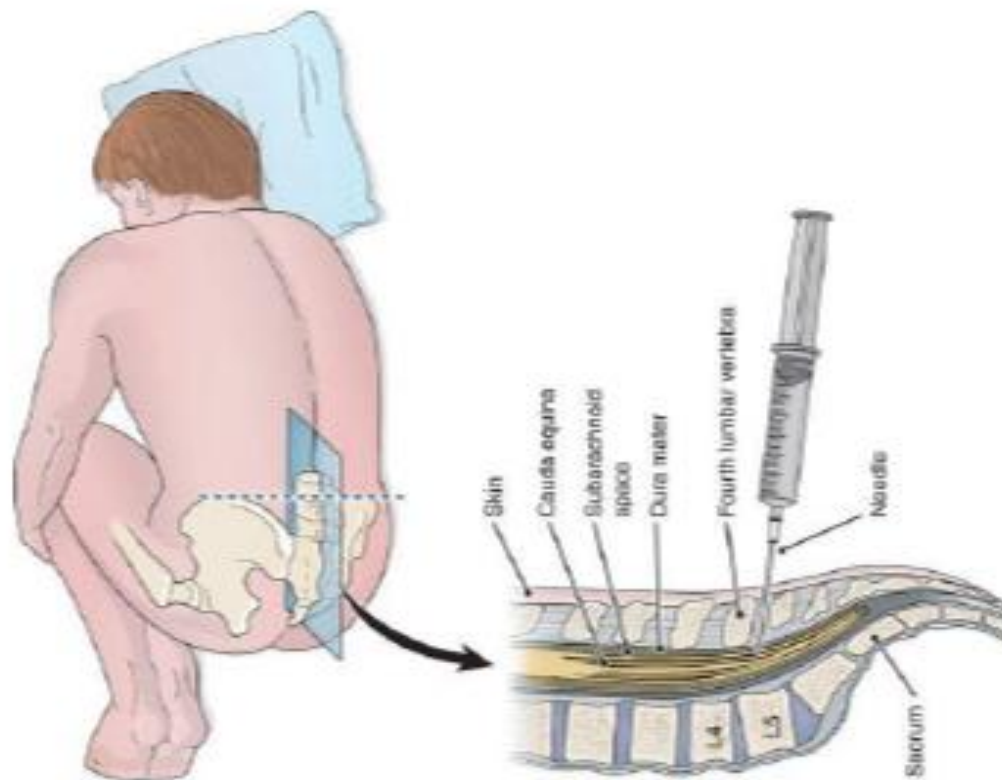
سد خونی - مغزی: به عنوان یک مانع محافظ و نیمه تراوا برای مغز عمل می‌کند.

- سد خونی مغزی تنها اجازه عبور برخی از مواد را می‌دهد. برای مثال سد خونی- مغزی اجازه ورود مولکول‌های بزرگ، سموم و اکثر سلول‌های خونی را به سیستم عصبی مرکزی نمی‌دهد. هر شرایطی که این مانع محافظتی را بر هم بزند، ممکن است منجر به تغییر در سطح طبیعی یا ترکیبات CSF گردد.

- **اهمیت بالینی آنالیز CSF:** CSF، مغز و نخاع را احاطه کرده است، لذا آنالیز آن می‌تواند در تشخیص انواع شرایط بیماری‌زا بر سیستم عصبی مرکزی بسیار ارزشمند باشد.

جمع آوری نمونه

مایع مغزی نخاعی با روش LP یا در مواردی از طریق پونکسیون سیسترنال و یا از کانول‌های شنت‌های مغزی، جمع آوری می‌گردد. در پونکسیون کمری از بین مهره‌های L3 و L4 و یا L4 و L5 تحت شرایط استریل اخذ می‌گردد.



Recommended CSF Laboratory Tests

Routine

- Opening CSF pressure
- Total cell count (WBC and RBC)
- Differential cell count (stained smear)
- Glucose (CSF/plasma ratio)
- Total protein

Useful under certain conditions

- Cultures (bacteria, fungi, viruses, *Mycobacterium tuberculosis*)
- Gram stain, acid-fast stain
- Fungal and bacterial antigens
- Enzymes (LD, ADA, CK-BB)
- Lactate
- Polymerase chain reaction (TB, viruses)
- Cytology
- Electrophoresis (protein, immunofixation)
- Proteins (C-reactive, 14-3-3, τ , β -amyloid, transferrin)
- VDRL test for syphilis
- Fibrin-derivative D-dimer
- Tuberculostearic acid

هدف از آنالیز مایع مغزی نخاعی

- آنالیز مایع مغزی نخاعی جهت کمک به تشخیص طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها و عوامل موثر بر سیستم عصبی مرکزی می‌باشد:
- تشخیص مننژیت (باکتریایی، قارچی، انگلی، و ویروسی)، آبسه مغزی و سیفلیس عصبی
- خونریزی مغزی و زیر عنکبوتیه
- آنسفالیت، میلیت و بیماری‌های دژنراتیو مغز، اختلالات خودایمنی که بر سیستم عصبی مرکزی تأثیر می‌گذارد، مانند سندرم گیلن - باره و اختلالات دمیلینه کننده (مانند مولتیپل اسکلروز، پلی نوروپاتی دمیلینه کننده حاد)
- تومورهای سیستم عصبی مرکزی (اولیه یا متاستاتیک)
- آنسفالوپاتی یا اغمای کبدی

جمع آوری و ارجاع نمونه CSF

در سه لوله: ترتیب لوله ها براساس ترتیب اخذ نمونه است.

- اولین لوله: بیوشیمی و ایمونوسرولوژی (پونکسیون تراماتیک اثر کمتری بر این آزمایشات دارد)، می توان پس از سانتریفیوژ، فریز کرد.
- دومین لوله: میکروشناسی، نگهداری در دمای اتاق
- سومین (آخرین) لوله: هماتولوژی (شمارش و افتراق سلولی)، نگهداری در یخچال
- اگر فقط یک لوله ارسال شود ...

آماده سازی نمونه

- تمام نمونه های بیشتر از ۱ میلی لیتر باید حداقل به مدت ۵ دقیقه در دور $1500g$ سانتریفوژ شوند.
- بجز برای ارزیابی سلولی مایع مغزی نخاعی که از نمونه سانتریفوژ نشده استفاده می شود.
- مایع رویی داخل لوله استریل ریخته شده و حدود ۵ / ۰ سی سی رسوب در ته لوله باقی بماند، که برای بررسی میکروسکوپی و کشت بکار میرود.
- مخلوط کردن رسوب پس از جدا کردن مایع رویی بسیار ضروری است.
- از مایع رویی می توان برای بررسی های سرولوژیک و بیوشیمیایی استفاده نمود.

انواع و سطوح آنالیزهای CSF

- بررسی ماکروسکوپی

- بررسی میکروسکوپی

- پارامترهای بیوشیمیایی

ماکروسکوپی

- ظاهر: مایع مغزی نخاعی طبیعی شفاف و بیرنگ است و ویسکوزیته آن مشابه آب است.
- علت کدورت:
 - گلبول سفید بیش از ۲۰۰ سلول در میکرولیتر
 - گلبول قرمز بیش از ۳۰۰ سلول در میکرولیتر. شماره گلبول قرمز بیش از ۶۰۰۰ در میکرولیتر باعث ایجاد ظاهر خونی در CSF می‌شود.
 - میکروارگانیسم‌ها: شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها و آمیب‌ها
 - مواد حاجب رادیوگرافی
 - آسپیراسیون چربی اپیدورال
 - افزایش پروتئین بیش از 150 mg/dl
 - Tyndall effect، عبارت است از مشاهده ذرات معلق در مایع مغزی نخاعی در مجاورت نور؛ که می‌تواند در ارزیابی شفافیت مایع کمک کند.

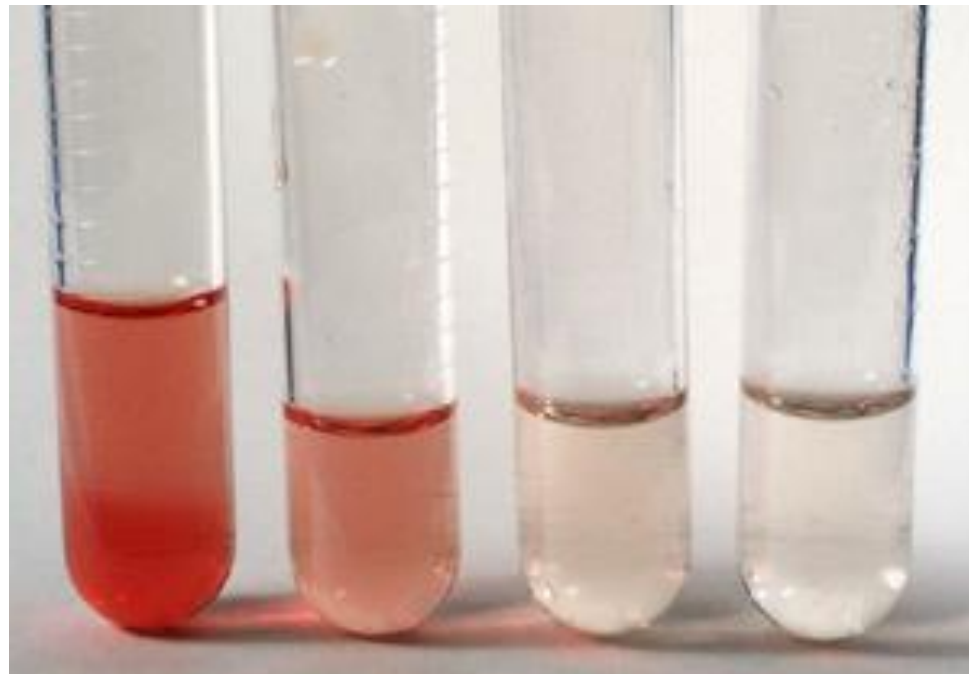
ادامه آزمایش ماکروسکوپی

- تشکیل لخته: پونکسیون تروماتیک، انسداد کانال نخاعی، مننژیت سلی
- CSF چسبنده: در آدنوکاسینوماهای تولید کننده مومین، مننژیت کریپتوکوکی
- CSF صورتی و قرمز: نشانه وجود خون در CSF است
- در خونریزی زیر عنکبوتیه، خونریزی مغزی و پونکسیون تروماتیک دیده می شود.

زانتوکرومیا (xanthochromia)

- رنگ صورتی روشن تا زرد در CSF پس از سانتریفوژ نمودن آن.
- **زانتوکرومی صورتی:** دلیل آن رها شدن اکسی هموگلوبین از گلبول‌های قرمز در خونریزی زیر عنکبوتیه می باشد. از ۲ ساعت پس از خونریزی شروع شده و تا ۱۲ ساعت نیز ممکن است به طول بیانجامد.
- **زانتوکرومی زرد:** به علت وجود بیلروبین بوده و ۱۲ ساعت پس از خونریزی تحت عنکبوتیه ایجاد شده و در ۲ تا ۴ روز به اوج خود می‌رسد.
- **سایر علل زانتوکرومی مصنوعی:**
 - لیز گلبول‌های قرمز در اثر آلودگی لوله به دترجنت
 - بالا بودن پروتئین CSF بیش از ۱۵۰ mg/dL
 - انسداد کانال نخاعی
 - کاروتنوئیدها
 - درمان با ریفامپین

پونکسیون تروماتیک یا خونریزی پاتولوژیک؟



- ۱- تغییر شدت رنگ از لوله اول تا سوم
- ۲- شواهد میکروسکوپیک اریتروفاگوسیتوز و یا ماکروفاژهای سرشار از هموسیدرین نشانه خونریزی تحت عنکبوتیه می باشد.
- ۳- آزمایش D. Dimer، در موارد پونکسیون تروماتیک منفی است.
- ۴- وجود ذرات لخته نشانگر پونکسیون تروماتیک است.
- ۵- LDH بالا، به نفع خونریزی مغزی
- ۶- نکته: چنانچه نمونه با ظاهر خونی فوراً سانتریفیوژ گردد و رنگ صورتی تا قرمز مشاهده شود، بیانگر خونریزی واقعی است و تاخیر در سانتریفیوژ موجب گزارش کاذب مثبت می شود

TABLE 29-3

Xanthochromia and Associated Diseases/Disorders

CSF supernatant color	Associated diseases/disorders
Pink	RBC lysis/hemoglobin breakdown products
Yellow	RBC lysis/hemoglobin breakdown products Hyperbilirubinemia CSF protein >150 mg/dL (1.5 g/L)
Orange	RBC lysis/hemoglobin breakdown products Hypervitaminosis A (carotenoids)
Yellow-green	Hyperbilirubinemia (biliverdin)
Brown	Meningeal metastatic melanoma

CSF, Cerebrospinal fluid; RBC, red blood cell.

آزمایش میکروسکوپی: شمارش سلولی

- Pleocytosis (or Pleiocytosis)
- تعداد کم مونوسیت می تواند نرمال باشد
- 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، LP تروماتیک 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.

- 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 می گیرد، به نحوی که فضای زیر لامل پر شود و با بزرگنمایی ۴۰ گلبول های سفید در ۴ مربع بزرگ کناری شمرده می شود. اگر نمونه آلوده به خون تراماتیک باشد شمارش گلبول سفید باید اصلاح شود.

$$\text{تعداد سلول شمارش شده} \times 10 \times \text{فاکتور رقت} = \frac{\text{تعداد سلول در میلی متر مکعب}}{\text{تعداد مربع شمارش شده}}$$

خطای شمارش دستی

- استفاده از پیت‌ها و لام‌های کثیف و نامناسب
- خوب مخلوط نکردن سوسپانسیون گلبولی
- غلط پر کردن لام نئوبار
- توزیع نامناسب سلول‌ها روی محفظه
- عدم دقت در شمارش سلول‌ها
- طولانی شدن زمان شمارش و شروع به خشک شدن مایع زیر لامل
- فشار بی مورد بر روی لامل در زمانی که سعی می‌شود با میکروسکوپ عمل فوکوس را انجام داد.
- نکته: برخی دستگاه‌های سل کانتر، دارای حالت شمارش Body fluid هستند و شاید مناسب‌تر از شمارش دستی باشند.

شمارش لوکوسیت ها

- در بزرگسالان ۵ - ۰ در میکرولیتر
- در نوزادان تازه متولد شده ۳۰ - ۰ در میکرولیتر
- بچه های ۴ - ۱ ساله ۲۰ - ۰ در میکرولیتر
- بچه های بزرگتر از ۵ سال ۱۰ - ۰ در میکرولیتر
- انواع Pleocytosis:
 - پلئوسیتوز نوتروفیلی
 - پلئوسیتوز لنفوسیتی
 - پلئوسیتوز توموری

شمارش گلبولهای قرمز

• هیچ گلبول قرمزی نباید در CSF نرمال وجود داشته باشد. مگر در:

- پونکسیون تروماتیک

- خونریزی مغزی

- انفارکتوس مغزی

- بدخیمی

- شمارش گلبولهای قرمز در CSF ارزش تشخیصی محدودی دارد، اما از آن می توان برای تصحیح شمارش گلبولهای سفید CSF و تصحیح مقدار پروتئین در حالت پونکسیون تروماتیک استفاده کرد.

$$WBC_{\text{corr}} = WBC_{\text{obs}} - WBC_{\text{added}} \quad \text{where} \quad WBC_{\text{added}} = WBC_{\text{BLD}} \times RBC_{\text{CSF}} / RBC_{\text{BLD}}$$

$$TP_{\text{added}} = [TP_{\text{serum}} \times (1 - \text{HCT})] \times RBC_{\text{CSF}} / RBC_{\text{BLD}}$$

- هنگامیکه پروتئین سرم و شمارش گلبول‌های قرمز خون در حد طبیعی باشد:
 - به ازای هر ۷۰۰ گلبول قرمز یک گلبول از شمارش گلبول‌های سفید کم می‌کنیم.
 - و به ازای هر ۱۰۰۰۰ گلبول قرمز 8mg/dL از پروتئین تام کم می‌کنیم.

Causes of Increased CSF Neutrophils

Meningitis

- Bacterial meningitis
- Early viral meningoencephalitis
- Early tuberculous meningitis
- Early mycotic meningitis
- Amebic encephalomyelitis

Other infections

- Cerebral abscess
- Subdural empyema
- AIDS-related CMV radiculopathy

Following seizures

Following CNS hemorrhage

- Subarachnoid
- Intracerebral

Following CNS infarct

Reaction to repeated lumbar punctures

Injection of foreign material in subarachnoid space (e.g., methotrexate, contrast media)

Metastatic tumor in contact with CSF

Causes of CSF Lymphocytosis

Meningitis

Viral meningitis

Tuberculous meningitis

Fungal meningitis

Syphilitic meningoencephalitis

Leptospiral meningitis

Bacterial due to uncommon organisms

Early bacterial meningitis where leukocyte counts are relatively low

Parasitic infestations (e.g., cysticercosis, trichinosis, toxoplasmosis)

Aseptic meningitis due to septic focus adjacent to meninges

Degenerative Disorders

Subacute sclerosing panencephalitis

Multiple sclerosis

Drug abuse encephalopathy

Guillain-Barré syndrome

Acute disseminated encephalomyelitis

Other Inflammatory Disorders

Handl syndrome (headache with neurologic deficits and CSF lymphocytosis)

Sarcoidosis

Polyneuritis

CNS periarteritis

Adult Lumbar CSF Reference Values		
Analyte	Conventional Units	SI Units
Protein	15-60 mg/dL	0.15-0.60 g/L
Prealbumin	2%-7%	
Albumin	56%-76%	
α_1 -Globulin	2%-7%	
α_2 -Globulin	4%-12%	
β -Globulin	8%-18%	
γ -Globulin	3%-12%	

Adult Lumbar CSF Reference Values		
Analyte	Conventional Units	SI Units
Electrolytes		
Osmolality	280-300 mOsm/L	280-300 mmol/L
Sodium	135-150 mEq/L	135-150 mmol/L
Potassium	2.6-3.0 mEq/L	2.6-3.0 mmol/L
Chloride	115-130 mEq/L	115-130 mmol/L
Carbon dioxide	20-25 mEq/L	20-25 mmol/L
Calcium	2.0-2.8 mEq/L	1.0-1.4 mmol/L
Magnesium	2.4-3.0 mEq/L	1.2-1.5 mmol/L
Lactate	10-22 mg/dL	1.1-2.4 mmol/L

Adult Lumbar CSF Reference Values		
Analyte	Conventional Units	SI Units
pH		
Lumbar fluid	7.28-7.32	
Cisternal fluid	7.32-7.34	
pCO₂		
Lumbar fluid	44-50 mm Hg	
Cisternal fluid	40-46 mm Hg	
pO ₂	40-44 mm Hg	
Other Constituents		
Ammonia	10-35 μ g/dL	6-20 μ mol/L
Glutamine	5-20 mg/dL	0.3-1.4 mmol/L
Creatinine	0.6-1.2 mg/dL	45-92 μ mol/L
Glucose	50-80 mg/dL	2.8-4.4 mmol/L
Iron	1-2 μ g/dL	0.2-0.4 μ mol/L
Phosphorus	1.2-2.0 mg/dL	0.4-0.7 mmol/L
Total lipid	1-2 mg/dL	0.01-0.02 g/L
Urea	6-16 mg/dL	2.0-5.7 mmol/L
Urate	0.5-3.0 mg/dL	30-180 μ mol/L
Zinc	2-6 μ g/dL	0.3-0.9 μ mol/L

گلوکز CSF

- کاهش گلوکز در مایع مغزی نخاعی (هیپوگلیکوراشیا) بیانگر وجود عفونت قارچی، باکتریایی، مایکوباکتریال در مایع مغزی نخاعی است.
 - لنفوم – کارسینوماتوز مننژ مغزی (حتی با سیتولوژی منفی)، لوسمی مننژ، مننگوانسفالیت اوربونی
 - هیپوگلیسمی میتواند با کاهش قند CSF همراه باشد.
 - قند کمتر از $1/3$ قند خون همراه با لاکتات پایین در مایع مغزی نخاعی مشخصه hereditary glucose transporter deficiency در مایع مغزی نخاعی می باشد.
 - نکته:
- ۱- پس از نمونه گیری گلوکز به سرعت پایین می آید (اهمیت گلوکز پایین در تشخیص را می دانید؟).
 - ۲- بهتر است نمونه گیری پس از ناشتایی ۴ ساعته باشد و نمونه خون حداکثر ۲ تا ۳ ساعت قبل از LP انجام شود. نمونه خون هم زمان برای تفسیر نتایج مهم است.

ادامه گلوکز مایع مغزی نخاعی

افزایش گلوکز CSF اهمیت بالینی ندارد:

۱- ناشی از بالا رفتن گلوکز خون ۲ ساعت قبل از پونکسیون کمری است

۲- پونکسیون تروماتیک

پروتئین تام مایع مغزی نخاعی

- ۸۰ درصد پروتئین CSF از پلاسمای خون است و با نسبت حدود ۱٪ پروتئین پلاسما
- تفاوت نوع پروتئین های CSF با پلاسما عمدتاً در پره آلبومین، ترانسفرین و مقادیر اندکی از پروتئین های بافت های عصبی است
- اختلالات اندازه گیری پروتئین های تام مایع مغزی نخاعی، شایعترین اختلال مشاهده شده در آزمایش مایع مغزی نخاعی است.
- شاخصی مفید، اما غیر اختصاصی، برای بیماری های مننژ و سیستم عصبی مرکزی است.
- هر چه از بطن بطرف قسمت انتهایی نخاع جریان پیدا می کند میزان پروتئین کاهش میابد.

- محدوده طبیعی مرجع:
- بزرگسالان: ۱۰ mg/dL تا ۴۵
- شیرخواران: تا ۱۵۰ mg/dL
- شیرخواران پره ترم: تا ۱۷۰ mg/dL
- پروتئین مایع مغزی نخاعی بعد از تولد تا ۶ ماهگی به سرعت کاهش یافته و در سن ۳ تا ۱۰ سالگی به حد پلتو می رسد.

• علل افزایش پروتئین تام CSF:

- افزایش نفوذپذیری BBB
- کاهش جذب توسط عنکبوتیه
- افزایش ساخت ایمونوگلوبولین ها
- انسداد نخاعی در بالای محل پونکسیون کمری
- مننژیت باکتریال، مننژیت TB، سیفلیس
- خونریزی ساب اراکنوئید

علل کاهش پروتئین تام CSF:

- برخی کودکان بین ۲ تا ۶ سال
- افزایش باز گردش CSF:
- ۱- گرفتن حجم زیاد مایع
- ۲- نشت CSF به علت تروما و یا پونکسیون کمری
- ۳- افزایش فشار داخل مغز و در نتیجه بالا رفتن میزان جذب پروتئین توسط عنکبوتیه
- ۴- هیپرتیروئیدیسم

روش های اندازه گیری پروتئین تام مایع مغزی نخاعی

روشهای کدورت سنجی:

- سولفوسالسیلیک اسید: تمایل بیشتری نسبت به رسوب آلبومین دارد.
- تری کلرو استیک اسید: نتایج مثبت کاذب پروتئین در حضور متوتروکسات ساده و سریع است. ممکن است شاهد تغییرات مهمی در نسبت آلبومین به گلوبولین باشیم. حساس به درجه حرارت بوده و حجم بیشتری از نمونه نیاز دارند (نیم میلی لیتر).

روش های رنگ سنجی:

- روش لوری
- کوماسی برلیانت بلو (سریع و حساس و احتیاج به مقادیر کم نمونه دارد)
- روش تعدیل یافته بیوره
- روش های ایمونولوژیک: اندازه گیری پروتئین های خاص

اندازه گیری آلبومین مایع مغزی نخاعی

$$\frac{\text{CSF Albumin (mg/dL)}}{\text{Serum Albumin (g/dL)}} = \text{CSF serum albumin index:}$$

If < 9 = intact BBB

- برای ارزیابی نفوذپذیری BBB
- اندکس آلبومین: آلبومین CSF به آلبومین سرم

سد خونی مغزی سالم کمتر از ۹

ضایعات اندک ۹ تا ۱۴

ضایعات متوسط ۱۴ تا ۳۰

ضایعات شدید بیشتر از ۳۰

افزایش اندک در شیرخواران (عدم بلوغ BBB)

افزایش تدریجی بعد از چهل سالگی

Test	Appearance	Pressure	WBC/ μ L	Protein mg/dL	Glucose mg/dL	Chloride
Normal CSF	Clear	90 – 180 mm	0-8 lymph.	15-45	50-80	115-130 mEq/L
Acute bacterial meningitis	Turbid	Increased	1000 -10000	100 – 500	< 40	Decreased
Viral meningitis	Clear	Normal to moderate increase	5-300, rarely >1000	Normal to mild increased	Normal	Normal
Tubercular meningitis	Slightly opaque cobweb formation	Increased/ decreased, spinal block	100-600 mixed or lymph.	50-300 due to spinal block	Decreased	Decreased
Fungal meningitis	Clear	Increased	40-400 mixed	50-300	Decreased	Decreased
Acute syphilitic	Clear	Increased	About 500 lymph	Increased but <100	Normal	normal

Case report

- جنس و سن: خانم، ۸۵ ساله
- سابقه بیماری: دیابت و فشار خون بالا
- علائم بالینی: تب، و لرز و کمی گیج
- فشار خون: ۱۷۰/۹۰ ضربان ۸۰
- دمای بدن: ۳۹ درجه
- در معاینه سفتی گردن نداشت.
- آزمایشات خون و ادرار: BS: 161 mg/dL ،WBC: 11500 ،CRP: 3+ ،Culture: No
U/A: Normal ،growth
- آزمایشات LP: LP appearance: Clear ،Leucocyte: 2/μL ،Erythrocyte: 0
Glucose: 91 mg/dL ،Protein: 50mg/dL

Case report

- تشخيص: مننژيت
- درمان: آنتی بیوتیک وسیع الطیف
- تکرار آزمایشات روز بعد:
- خون: BS: 195 mg/dL
- LP: Glucose: 78 mg/dL ، Culture: Neisseria meningitidis

Interpretation of the results ...

Composition of Normal CSF

Protein	- 15 - 45 mg/dL
• Glucose	- 50 - 80 mg/dL
Urea	- 6.0 - 16 mg/dL
Uric acid	- 0.5 - 3.0 mg/dL
Creatinine	- 0.6 - 1.2 mg/dL
Cholesterol	- 0.2 - 0.6 mg/dL
Ammonia	- 10 – 35 μ g/dL

Composition of Normal CSF

Sodium	- 135 – 150 mEq/L
Potassium	- 2.6 – 3.0 mEq/L
Chloride	- 115 – 130 mEq/L
Magnesium	- 2.4 – 3.0 mEq/L
Cells	- 0 – 5 Lymph/ μ L

Characteristics of normal CSF

- Color - Colorless
- PH - 7.28 – 7.32
- Appearance - Clear
- Sp. Gravity - 1.003 – 1.004
- No clot formation on standing
- Total solids - 0.85 – 1.70 g/dL
- PO₂ - 40 – 44 mmHg

Reference Intervals for CSF

Cell type	Adults(%)	Neonates(%)
Lymphocytes	62	20
Monocytes	36	72
Neutrophils	2	3
Histiocytes	Rare	5
Ependymal	Rare	Rare
Eosinophils	Rare	Rare

CSF lactate is increased in cases of bacterial meningitis (due to increased glycolysis by bacteria & inflammatory cells)

- Toxic effect of glutamine is due to:
 - Decrease ATP production because of decrease in α -KG
 - Decrease in neurotransmitters, GABA, because of decrease in glutamate
 - Increase brain osmolarity, because of increase in glutamine
- One of the causes of increased glutamine is increased blood ammonia, which also occurs due to liver disease, hepatic encephalopathy.

CSF lactate dehydrogenase (LDH) may be elevated in **bacterial meningitis**.

CSF adenosine deaminase (ADA) elevations can occur in **tuberculous meningitis**.

مایع پلور

منظره مایع پلور: بررسی ظاهر مایع پلور ارسالی به آزمایشگاه حاوی اطلاعات بسیار زیادی است.

- مایع پلور به طور طبیعی و نرمال یک مایع کاملاً شفاف دارای رنگ زرد کمرنگ مایل به کاهی (Straw Colored)،

غیر چسبنده و بدون بو می باشد. این خصوصیات در مورد مایعات با ماهیت ترانسودا هم صدق می کند.

- مایع پلور شیری رنگ: (Milky – Chylous) علت آن آمپیم، شیلوتوراکس (Chylothorax) و یا پزودوشیلوتوراکس

- تشخیص افتراقی: سانتریفیوژ نمونه مایع به مدت ۱۰ دقیقه در RPM 3000

- آمپیم (Empyem): اگر مایع روئی شفاف شد از ته نشین یک گسترش تهیه نموده و به روش رومانوفسکی (رایت - گیمسا)

رنگ آمیزی می گردد، وجود گلبولهای سفید بخصوص پلی مرفونوکلئرها وجود آمپیم چرکی را اثبات می کند.

- اگر کدورت مایع پلور باقی ماند، شیلوتوراکس یا پزودوشیلوتوراکس می باشد.

- جهت افتراق این دو باید میزان کلهترول و تری گلیسرید مایع اندازه گیری گردد. مایع پلور شیلوتوراکس ممکن است در

نتیجه تروما و پارگی مجاری لنفاوی و کانال توراسیک و نشت لنف به فضای پلور صورت پذیرد و یا ممکن است متعاقب

جراحی قفسه سینه رخ دهد.

- تفکیک شیلوتوراکس و پزودوشیلوتوراکس: تری گلیسرید مایع پلور بیش از ۱۱۰mg/dL و یا نسبت تری گلیسرید مایع پلور به سرم بیشتر از دو برابر باشد، به نفع شیلوتوراکس است. ولی در پسودوشیلوز میزان تری گلیسرید مایع پلور کمتر از ۵۰ mg/dL می باشد.
- راه دیگر تشخیص این دو از یکدیگر رنگ آمیزی با Sudan III است.
- در زیر میکروسکوپ، قطرات چربی به رنگ نارنجی براق و درخشان نشاندهنده تری گلیسرید است و مایع پلور شیلوز خواهد بود.
- قطرات چربی به رنگ اولیه خود یعنی زرد طلایی باقی بمانند جنس آنها کلسترول بوده و احتمال قریب به یقین مایع از نوع پسودوشیلوز خواهد بود.
- روش دیگر الکتروفورز لیپو پروتئین های مایع پلور است

- سودوشیلوز معمولاً به تدریج و آهسته رخ می‌دهد.
- مقدار کلسترول مایع پلور اغلب بیشتر از 250 mg/dl و تری‌گلیسرید آن کمتر از 50 mg/dl خواهد بود.
- در بررسی میکروسکوپی ممکن است کریستال‌های کلسترول و یا ذرات چربی در گلبول‌های سفید مشاهده شوند.
- سودوشیلوز در بیماری‌های التهابی مزمن همچون توبرکلوزیس، روماتوئیدال پلورال افیوژن و یا در پنوموتوراکس تراپی مزمن دیده می‌شود.

- مایع پلور زرد مایل به سبز (Greenish – Yellow): علت پلورزی روماتوئیدال است.

- مایع پلور قرمز (Redish – Red): وجود بیش از ۵۰۰۰ گلبول قرمز در نمونه

- وجود خون در مایع پلور ممکن است نتیجهٔ تروماتیزه شدن پلور در حین عمل توراسنتز باشد.

- مایع پلور خونی (Bloody): چنانچه شمارش گلبول قرمز مایع پلور در هر میکرولیتر بیشتر از ۱۰۰۰۰۰ باشد

- اگر هماتوکریت مایع پلور از نصف هماتوکریت خون محیطی بیشتر باشد قویا مطرح کننده یک هموتوراکس خواهد

بود. مایع پلور خونی در تروما – بدخیمی ها دیده می شود.

- مایع پلور خاکستری تا سیاه رنگ (Black – Gray): علت عفونت قارچی با آسپرژیلوس به خصوص سوش نیجر

می تواند باشد.

- مایع پلور قهوه ای (Brownish): ممکن است خون به مدت طولانی در حفره پلور توقف داشته است. این پدیده در پاره شدن آبسه های کبدی ناشی از آمیبیاز کبدی مشاهده می گردد.
- چرک (Pus): وجود چرک در مایع پلور در آمپیم اتفاق می افتد و پلورال افیوژن شیری رنگ خواهیم داشت و همانطور که قبلا شرح داده شد با سانتریفوژ نمودن مایع و بررسی میکروسکوپی رسوب و دیدن گلبولهای سفید به خصوص پلی مرفونوکلئرها اثبات می گردد.
- مایع پلور غلیظ و چسبنده (Viscous): گاهی در مزوتلیوما به دلیل ترشح زیاد هیالورونات توسط سلولهای مزوتلیال که تعدادشان بسیار زیاد خواهد بود دیده می شود. مایع پلور با ویسکوزیته بالا ممکن است خونی و یا شفاف باشد.
- مایع پلور کدر (Turbid): ناشی از وجود چرک و گلبول سفید یا ذرات ریز و یا وجود لیپید و شیلوز می باشد

بیوشیمی مایع پلور

- پروتئین: اندازه گیری میزان توتال پروتئین و یا آلبومین مایع پلور به تنهایی نمی تواند برای تفرق مایعات ترانسودا و اگزودا از همدیگر بکار رود.
- از نسبت توتال پروتئین مایع پلور به میزان تام پروتئین سرم که یکی از معیارهای لایت می باشد می توان بهره گرفت.
- در مورد آلبومین مایع پلور باید از گرادیان آن (تفاضل آلبومین سرم از آلبومین مایع) به عنوان یک شاخص استفاده نماییم.
- پروتئین مایع پلور اگزوداتیو بیشتر از 3 gr/dL می باشد ولی در حدود ۱ درصد افیوژنهای ترانسوداتیو هم ممکن است مقدار پروتئینی بیش از 3 gr/dL داشته باشند.
- میزان پروتئین مایع پلور بیش از 4 gr/dL ، در پلورال افیوژن توبرکلوتیک دیده می شود.
- توتال پروتئین بیش از 8 gr/dL ، در بیماران دچار ماکروگلوبولینمی والدنشتروم یا مولتیپل میلوما اتفاق می افتد.

- لاکتات دهیدروژناز: در افتراق ترانسودا از اگزودا، یکی از معیارهای بسیار قوی، اندازه گیری میزان آنزیم LDH است. میزان LDH مایع پلور اگر بیش از حداکثر مقدار نرمال سرم باشد افیوژن از نوع اگزودا خواهد بود.
- میزان LDH بیش از 1000 در آمپیم- پلورزی روماتوئیدال- بدخیمی ها و ترماتود ریوی دیده می شود.
- اگر میزان LDH مایع پلور در حین بیماری رو به افزایش باشد حکایت از وخامت اوضاع دارد و نیاز به درمان های تهاجمی تر وجود دارد و برعکس...

قند مایع پلور

- **Glucose:** در حالت نرمال، قند مایع پلور در حدود مقدار گلوکز سرم و پلاسما می باشد.
 - در حالت طبیعی گلوکز مایع پلور بیش از 60 mg/dL می باشد. پایین ترین غلظت گلوکز مایع پلور در پلورزی روماتوئیدال و آمپیم دیده می شود.
 - در روماتوئید آرترایتیس گاهی قند مایع پلور در حد از $10 - 0 \text{ mg/dL}$ و در بعضی اوقات حتی غیر قابل اندازه گیری می شود.
 - در آمپیم معمول قند در حدود کمتر از 30 mg/dL می باشد.
- ۱- هرچه میزان قند مایع پلور پایین تر و PH آن اسیدی تر باشد حکایت از وخامت اوضاع **Prognose Poor** بودن بیماری دارد.
- ۲- در بدخیمی های فضای پلور، هرچه میزان قند مایع کمتر از 60 mg/dL باشد حاکی از بزرگ تر بودن حجم تومور و وخیم بودن شرایط بیماری خواهد داشت معمول میزان گلوکز مایع پلور با حجم تومور نسبت عکس دارد.

PH

- اندازه گیری PH مایع پلور یکی از مهم ترین تست های تشخیصی است.
- برای اینکار ابتدا باید سرنگ پونکسیون به هیپارین آغشته شود و پس از پونکسیون مایع پلور، نیدل کج شده و تماس مایع را با هوا قطع گردد و سرنگ در اسرع وقت روی یخ به آزمایشگاه انتقال یابد.
- در آزمایشگاه باید نمونه به دستگاه ABG داده شود و PH مایع پلور را بطور دقیق تعیین و گزارش کرد.
- PH مایع پلور در حالت نرمال در حدود 7.6 می باشد. چنانچه نوع افیوژن ترانسودا باشد PH در حدود 7.4-7.55 و در مایعات اگزوداتیو در شرایط عادی و غیر پیچیده در حدود 7.3-7.35 است.
- در آمپیم - بدخیمی ها، پارگی مری، پلورزی روماتوئیدال، LE، توبرکلوز، هموتوراکس، اسیدوز سیستمیک و پاراگونیمازیس، PH مایع پلور کمتر از 7.2 می باشد.
- نکته: اگر مقدار گلوکز مایع پلور نرمال ولی PH آن پایین و اسیدی و میزان LDH آن بالا باشد احتمالا خطای اندازه گیری رخ داده است.

آمیلاز

- میزان نرمال فعالیت آنزیم آمیلاز سرم حدود $100 - 20 \text{ IU/L}$ می باشد.
- اگر میزان فعالیت آنزیم آمیلاز از **Uperlimit** حد نرمال سرم بالاتر باشد و یا نسبت آمیلاز مایع پلور به سرم بیشتر از یک باشد، تشخیص پلورال افیوژن می باشد.
- در پانکراتیت حاد، چنانچه توام با پلورال افیوژن باشد در ابتدای بیماری میزان آمیلاز مایع پلور ممکن است در حد نرمال باشد ولی با گذشت زمان و پیشرفت بیماری، میزان آمیلاز مایع پلور بالاتر رفته و بیش از 200 IU/L خواهد بود. در پارگی مری اگر با پلورال افیوژن همراه شود معمولاً میزان آمیلاز مایع بیشتر از 200 IU/L و PH و گلوکز مایع پایین خواهند بود.
- در برخی از بدخیمی ها مثل تومور غدد بزاقی، پارگی لوله های فالوپ در حین حاملگی خارج از رحم ممکن است پلورال افیوژن رخ دهد و در این موارد میزان فعالیت آمیلاز مایع پلور هم بالاتر از 200 IU/L می باشد.
- در سرطان های متاستاتیک در برخی مواقع، مطالعه ایزوآنزیم های آمیلاز مایع پلور ضرورت پیدا می کند.

- شمارش سلولی مایع پلور: گاهی بدلیل نامناسب بودن نمونه ارسالی، مثل خونی بودن شدید و یا غلظت بالای مایع پلور و یا بالا بودن میزان پروتئین آن، معمولاً در شمارش لکوسیتی مایع پلور در هنگام مخلوط کردن با محلول مارکانو ایجاد کدورت نموده و شمارش لکوسیتها را مشکل می کند.
- سایر آزمایشات روتین مانند CSF باید انجام گیرد. بعلاوه CRP و تومورمارکرها هم قابلیت انجام دارند.

آنالیز مایع پریتوان Ascitic fluid

- سایر نام ها: تجزیه مایع صفاق، پاراسنتز شکمی، سیتولوژی مایع آسیت، تجزیه مایع پریتوان، آنالیز مایع آسیت
- نیاز به ناشتایی نمی باشد، مگر زمانی که مسکن های قوی به بیمار داده شود یا برای جمع آوری مایع، بیمار تحت عمل جراحی قرار گیرد.
- مایع آسیت حاوی پروتئین زیادی است، بنابراین ممکن است انفوزیون آلبومین پس از پاراسنتز تجویز گردد تا جبران پروتئین از دست رفته را بنماید. سطح پروتئین و الکترولیت سرم (به ویژه سدیم) باید کنترل گردد.

کاربرد آنالیز مایع پریتوان Acetic fluid

- بررسی عامل التهابی و عفونی در پریتونیت.

مهمترین عامل ایجادکننده پریتونیت باکتریایی عبارتند از : اشریشیاکلی، کلستریدیوم، استافیلوکوک اپیدرمیدیس، استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پنومونیه، استرپتوکوک های بی هوازی و آلفا همولیتیک، کلبسیلا پنومونیه، باکترئیدس و سایر باسیل های گرم منفی باشد. همچنین توبرکلوز نیز از عوامل غیر رایج پریتونیت می باشد.

- پاراسنتز (آنالیز مایع صفاق) برای بیماران مبتلا به آسیت بدون علت مشخص، جهت تعیین علت آن انجام می شود. این آزمایش بخش مهمی از ارزیابی بیماران مبتلا به تروماهای متعدد جهت رد نمودن وجود ترومای شکمی می باشد.

- کاهش فشار داخل شکمی ناشی از آسیت های حاوی حجم فراوان مایع

انواع آنالیز مایع پریتوان

- بررسی ماکروسکوپی
- شمارش سلولی و افتراقی (میکروسکوپی)
- اندازه گیری پروتئین، گلوکز، آمیلاز، آمونیاک، فسفاتاز قلیایی، لاکتات دهیدروژناز، تری گلیسرید، تومور مارکر CEA و pH
- بررسی رنگ آمیزی و کشت نمونه

پارامترهای نرمال آنالیز مایع پریتوان

- مشخصات ظاهری: شفاف، سروزی، زرد کاهی ((Straw-colored
- گلبول سفید و قرمز: گلبول قرمز ندارد، و سفید کمتر از ۳۰۰ عدد در میلی لیتر
- گلوکز: ۷۰-۱۰۰ ملی گرم در دسی لیتر
- پروتئین: کمتر از ۴/۱ g/dL

آنالیز مایع مفصلی، Synovial Fluid Analysis

- شرایط نگهداری: بلافاصله تست ها انجام شوند. در عرض ۶ ساعت، حدود ۴۰٪ کاهش در شمارش گلبول سفید محتمل خواهد بود. کریستال های کلسیم پیروفسفات در عرض چند روز کاهش می یابند
- در صورتی که احتمال وجود کریستال های منوسدیم اورات می رود می بایست از فیکساتیوها و رنگ های حاوی الکل استفاده گردد، چرا که کریستال های منوسدیم اورات در آب محلول هستند.
- کاربرد تست: آنالیز مایع مفصل، برای اثبات تشخیص عفونت مفصلی، آرتریت تروماتیک، آرتریت های مبتنی بر ایمنی و القاء شده توسط کریستال (نقرس و نقرس کاذب)، سینوویت یا نئوپلاسم مبتلا کننده مفصل انجام می شود.

انواع آنالیز مایع مفصلی

- بررسی حجم، شفافیت، رنگ و وجود لخته در نمونه سانتریفیوژ شده.
- بررسی میکروسکوپی (شمارش گلبولهای سفید، شمارش افتراقی، بررسی کریستالها)
- استفاده از نور پلاریزه.
- کشت از سدیمان سانتریفیوژ شده. جهت کشت از محیط های بلاد آگار، شکلات آگار، و در صورت درخواست پزشک برای بررسی باسیل سل از محیط کشت لوین اشتاین جانسون استفاده می شود.
- تیترا فاکتور روماتوئید
- اندازه گیری پروتئین توتال، الکتروفورز پروتئین، گلوکز، اسید اوریک، لاکتات دهیدروژناز و هیالورونیک اسید صورت می گیرد.
- برای تایید یا رد بعضی از تشخیص ها می توان از آزمایشات اختصاصی سرولوژیک استفاده کرد

مقادیر طبیعی: پارامترهای مایع مفصلی

- ظاهر: شفاف و به رنگ زرد رنگ پریده (Pale yellow) ، دارای تشکیل لخته خوب موسینی و بدون کریستال است. مایع سینوویال طبیعی خود به خود منعقد نمی گردد چرا که فاقد فیبرینوژن است. تشکیل لخته فیبرینی دلالتی بر خونریزی داخل مفصلی (در اثر ضربه یا آسیب) است.
- گلبول قرمز ندارد.
- گلبول سفید مایع مفصلی طبیعی کمتر از ۲۰۰ گلبول سفید در هر میلیمتر مکعب و شامل حداکثر ۲۵٪ گلبول سفید چند هسته ای می باشد.
- گلوکز: میزان گلوکز تقریباً مشابه مقادیر خونی ($70-110 \text{ mg/dL}$) می باشد. گلوکز کمتر از 40 mg/dl در افرادی که ناشتا نیستند غیرطبیعی محسوب می شود.
- پروتئین: پروتئین آن کمتر از 3 g/dl

References

1- <https://pasteurlab.ir>

2- <http://nazemilab.ir>

3- <http://www.iacld.com/UpFiles/Documents/09f2b98e-023e-440b-8a1e-391fa5ad2f62.pdf>

4- [Henry M Davidson: Book](#)

5- <http://labdiagnosis.ir/airchive/magazine6.pdf>