

Лекция

Основы лабораторной диагностики заболеваний спинномозговой жидкости



СИБИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
www.ssmu.ru

СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Мусатова Ольга Валерьевна
канд. мед. наук
ассистент кафедры биохимии и молекулярной
биологии с курсом клинической лабораторной

ЛИКВОР (СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ)

Своеобразная биологическая жидкость, она образуется в сосудистых сплетениях желудочков головного мозга, поступает в субарахноидальные пространства головного и спинного мозга в результате ультрафильтрации плазмы крови через стенки сосудов. Оттекает ликвор из субарахноидального пространства в субдуральное, затем всасывается мелкими венами твердой мозговой оболочки в ток крови. Ликвор, заключенный в эластичский мешок твердой мозговой оболочки, окружает головной мозг в виде водяной подушки, а спинной — в виде рукава.



ЛИКВОР (СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ)

- У взрослого человека одновременно в субарахноидальном пространстве в желудочках мозга циркулирует 110-160 мл ликвора, в спинно-мозговом канале 50-70 мл. Ликвор образуется непрерывно со скоростью 0,2-0,8 мл/мин, что зависит от внутричерепного давления. В сутки у здорового человека образуется 350-1150мл спинно-мозговой жидкости.



ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЛИКВОРА

1. Механическая защита
2. Экскреторная функция
3. Транспортная функция
4. Респираторную функцию
5. Контрольную функцию
6. Поддержание определенной концентрации катионов, анионов и рН, осмотического давления
7. регуляция внутричерепного давления.
8. функция специфического защитного иммунобиологического барьера



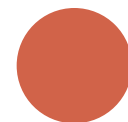
- Забор спинномозговой жидкости (ликвора) осуществляется врачом методом люмбальной пункции
- Количество материала — не менее 1 мл
- Доставляют в лабораторию в течение 4 часов при комнатной температуре



- Во время люмбальной пункции необходимо первые пять капель удалить, затем собрать три порции асептической жидкости в стерильные пробирки, плотно их закрыть.
- Для пересылки материала используют изотермальные ящики, грелки, термос или другую тару, где поддерживается температура около 37 градусов.
- Доставляется немедленно.



- Ликворное давление измеряют при пункции в каплях в минуту или миллиметрах ртутного столба.
- С помощью люмбальной пункции у взрослого человека можно без осложнений получить 8-10 мл ликвора, у детей, включая детей младшего возраста, 5-7 мл, у грудных детей, 2-3 мл.



ЛАБОРАТОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИКВОРА

- макроскопическое исследование
- микроскопическое исследование
- биохимическое исследование
- бактериологическое и бактериоскопическое исследование



МАКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

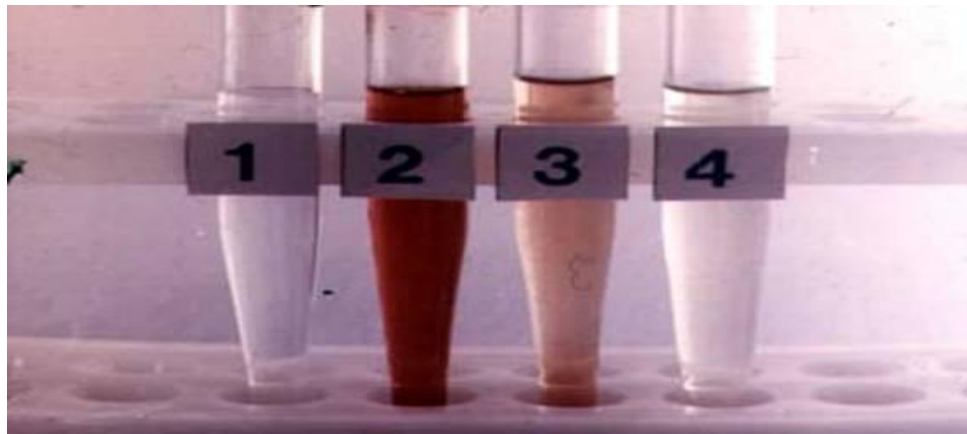
1. **Цвет**
2. **Прозрачность**
3. **Фибринозная пленка**



ЦВЕТ

Нормальная спинно-мозговая жидкость бесцветна, прозрачна, состоит на 98,9-99% из воды и 1-1,1 % сухого остатка. В нормальном ликворе практически отсутствуют клеточные элементы

Сероватый серо-зеленый, зеленовато-желтый цвет ликвора отмечается при менингитах различной этиологии, либо при прорыве абсцесса.



ЦВЕТ

- Желтоватый цвет может представлять физиологическое явление у новорожденных в течении первого месяца жизни
- Темно-вишневый цвет СМЖ приобретает при гематоме или кисте. Мутность СМЖ может быть обусловлена присутствием в ней эритроцитов, лейкоцитов и микроорганизмов.
- При ряде патологических состояниях СМЖ остается бесцветной (эпидемический энцефалит, туберкулезный менингит, сухотка спинного мозга и др.)
- Помутнение вызванное клетками и грибами уменьшается или исчезает после центрифугирования. Помутнение, связанное с бактериями, после центрифугирования не исчезает.



ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ:

- Относительная плотность: поясничная пункция 1.006-1.007, пункция желудочков 1.002-1.004
- Цитоз (в 1мкл):
- У взрослых: вентрикулярная жидкость 0-1
- Люмбальная 2-3
- У новорожденных до 20
- У детей до 1 года 14-15, к 10 годам цитоз снижается до 4-5 в мкл.
- Преобладающие клетки в ликворе – лимфоциты, также в норме могут встречаться моноциты.



- ▣ **Плазматические клетки** обнаруживаются только в патологических случаях при длительно текущих воспалительных процессах в мозге и оболочках, при энцефалитах, туберкулезном менингите, при вялотекущем заживлении ран.
- ▣ **Макрофаги.** В нормальном ликворе макрофаги не встречаются. Наличие макрофагов при нормальном цитозе наблюдается после кровотечения или при воспалительном процессе. Как правило они встречаются в послеоперационном периоде.
- ▣ **Зернистые шары.** Клетки с жировой инфильтрацией- макрофаги с наличием в цитоплазме капель жира. Зернистые шары обнаруживаются в патологической жидкости, полученной из мозговых кист в очагах распада мозговой ткани при опухолях.



- **Нейтрофилы.** Наличие в ликворе нейтрофилов даже в минимальных количествах указывает или на бывшую или на имеющуюся воспалительную реакцию.
- **Эозинофилы.** Встречаются при субарахноидальных кровоизлияниях, менингитах, туберкулезных и сифилитических опухолях мозга.
- **Эпителиальные клетки.** Встречаются редко. Обнаруживаются при новообразованиях, иногда при воспалительных процессах.
- **Опухолевидные клетки и комплексы.** Злокачественные клетки могут относиться к следующим видам опухолей: медуллобластома, спонгиобластома, астроцитомы.



ЭРИТРОЦИТЫ

Появление эритроцитов в ликворе: внутричерепное кровоотечение при разрыве аневризмы сосуда мозга, геморрагическом инсульте, кровоизлиянии в ткань мозга, геморрагическом энцефалите, черепно-мозговой травме.

Эритроциты исчезают из ликвора: при легкой черепно-мозговой травме и исключении кровоотечения на 5-10 сутки, при геморрагическом инсульте и тяжелой черепно-мозговой травме — на 10-20 сутки, при разрыве аневризмы сосуда мозга — через 40-80 дней.



БЕЛОК

Норма содержания белка в ликворе:

0,22 — 0,33 г/л

83% - белки плазмы крови

17% - интратекальное происхождение

основная фракция — альбумин

фракции определяют методом электрофореза



БЕЛОК

- Наиболее часто в СМЖ определяется белок. Белок определяется методом с сульфосалициловой кислотой, реакции Апелъта, Панди, реакция Ломге и др. Увеличивается при воспалительных процессах, нарушениях гемодинамики, травмах головного мозга с кровоизлияниями, инсульте, опухолях и др. Снижение- при гиперсекреции ликвора, гидроцефалии. При опухолях спинного мозга и реже головного, спинальном арахноидите отмечается увеличение содержания белка при неизменном количестве клеток. Эту картину называют белково-клеточной диссоциацией. При воспалительных процессах (менингитах) наблюдается противоположные изменения – чрезмерное увеличение числа клеток при умеренном повышении концентрации белка. Это клеточно-белковая диссоциация.



ГЛЮКОЗА

Уровень глюкозы составляет 60% от плазменного уровня.
Используется как критерий оценки функции ГЭБ.

Гипогликоархия — понижение концентрации глюкозы ниже 2,2 ммоль/л наблюдается при бактериальном, туберкулезном или грибковом менингитах.

Выраженная гипогликоархия — при первичных и метастатических опухолях мозговых оболочек.

Гипергликоархия — при травмах головного мозга, при ишемических нарушениях мозгового кровообращения.

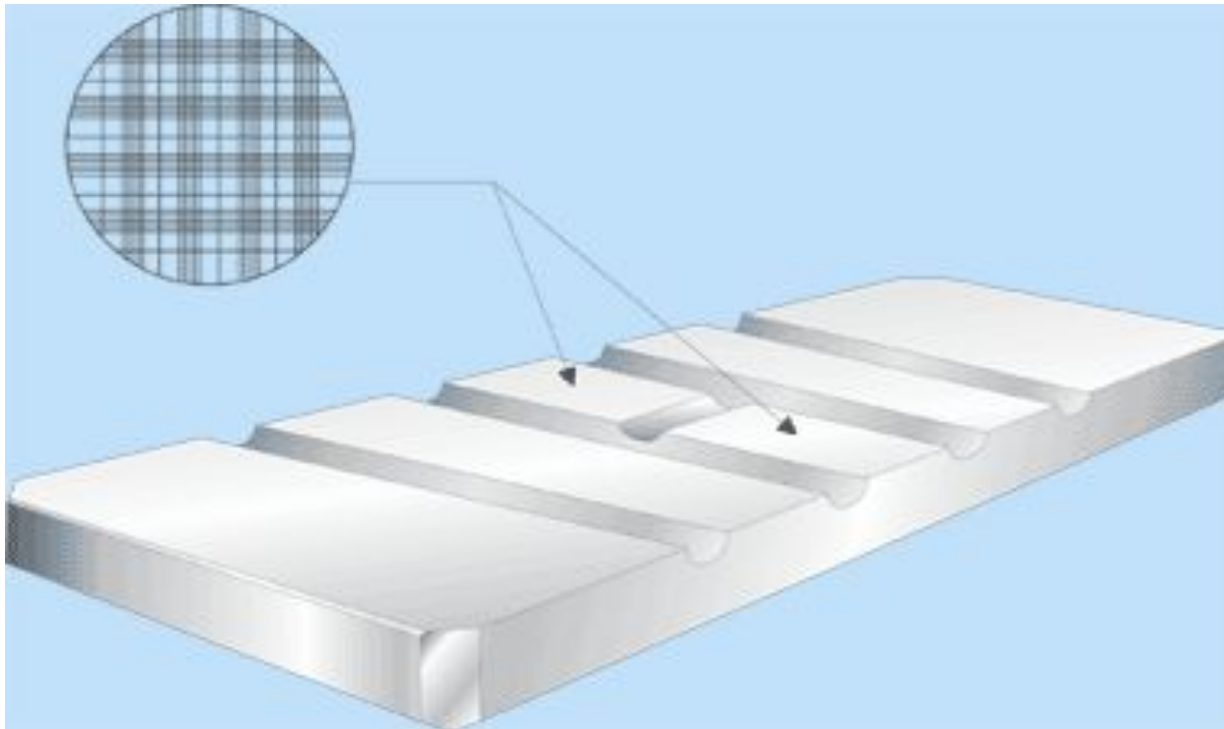


Хлориды (норма 120-130 ммоль/л): понижение при бактериальном и туберкулезном менингитах, повышение — при уремии, энцефалитах, эпилепсии.

Нитриты — в норме отсутствуют, определяются как продукт жизнедеятельности бактерий при менингитах при помощи тест-полосок. Требуется последующее микробиологическое исследование для уточнения этиологии заболевания.



- Определение **цитоза** следует производить как можно скорее после пункции (в течение 30 минут), так как клетки ликвора очень быстро разрушаются. Для подсчета используется камера Фукса-Розенталя.

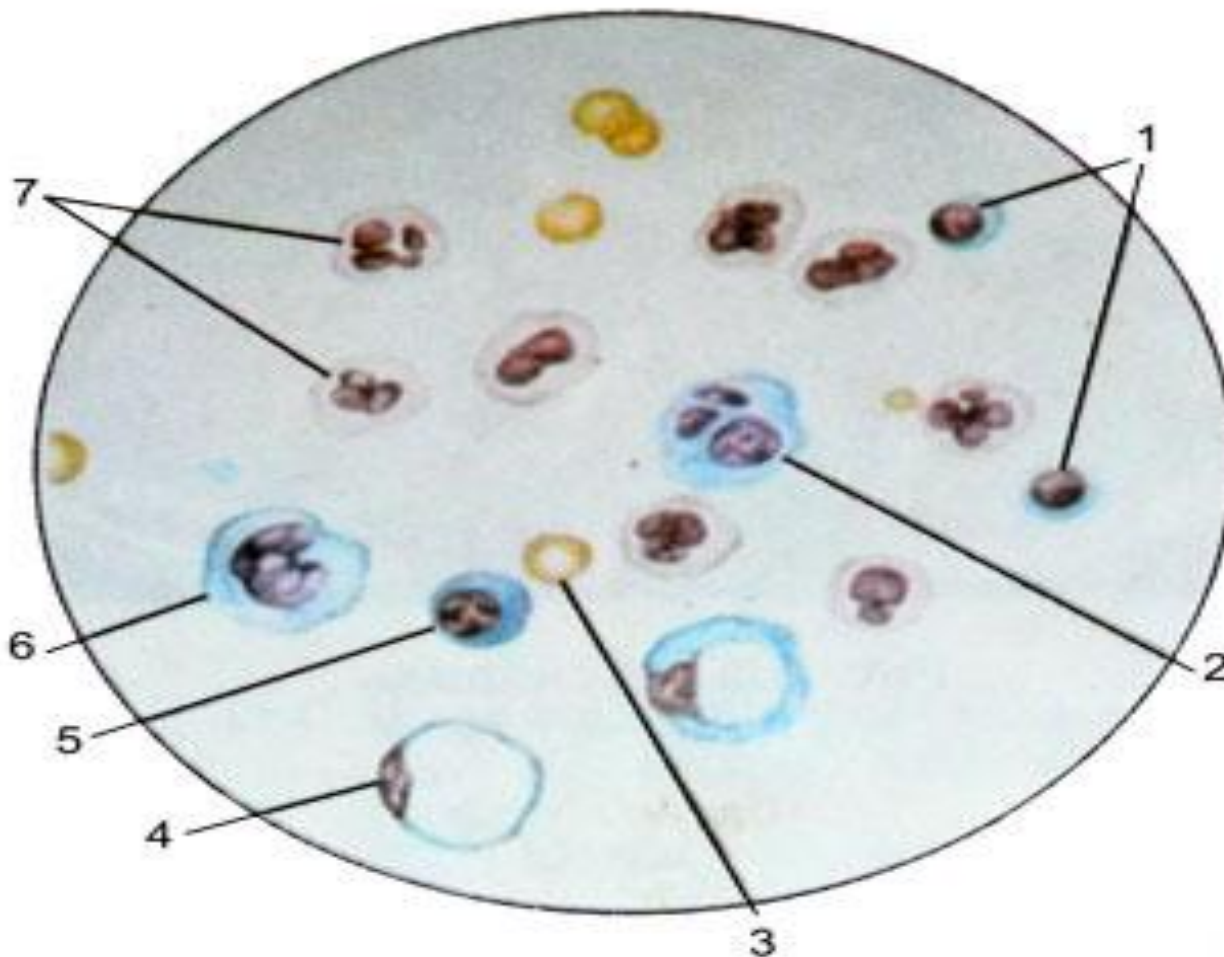


ПЛЕОЦИТОЗ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

(норма 0,003 — 0,009 x 10⁹/л)

- Туберкулезный менингит 0,3-3,0 x 10⁹/л
- Острый бактериальный менингит 3,0 x 10⁹/л
- Herpes simplex Менее 1,0 x 10⁹/л
- Энцефалиты 0,03-0,3 x 10⁹/л
- Рассеянный склероз 3,0-50,0 x 10⁹/л
- Нейролейкемии 2,0-5,0 x 10⁹/л
- Опухоли 10,0-60,0 x 10⁹/л

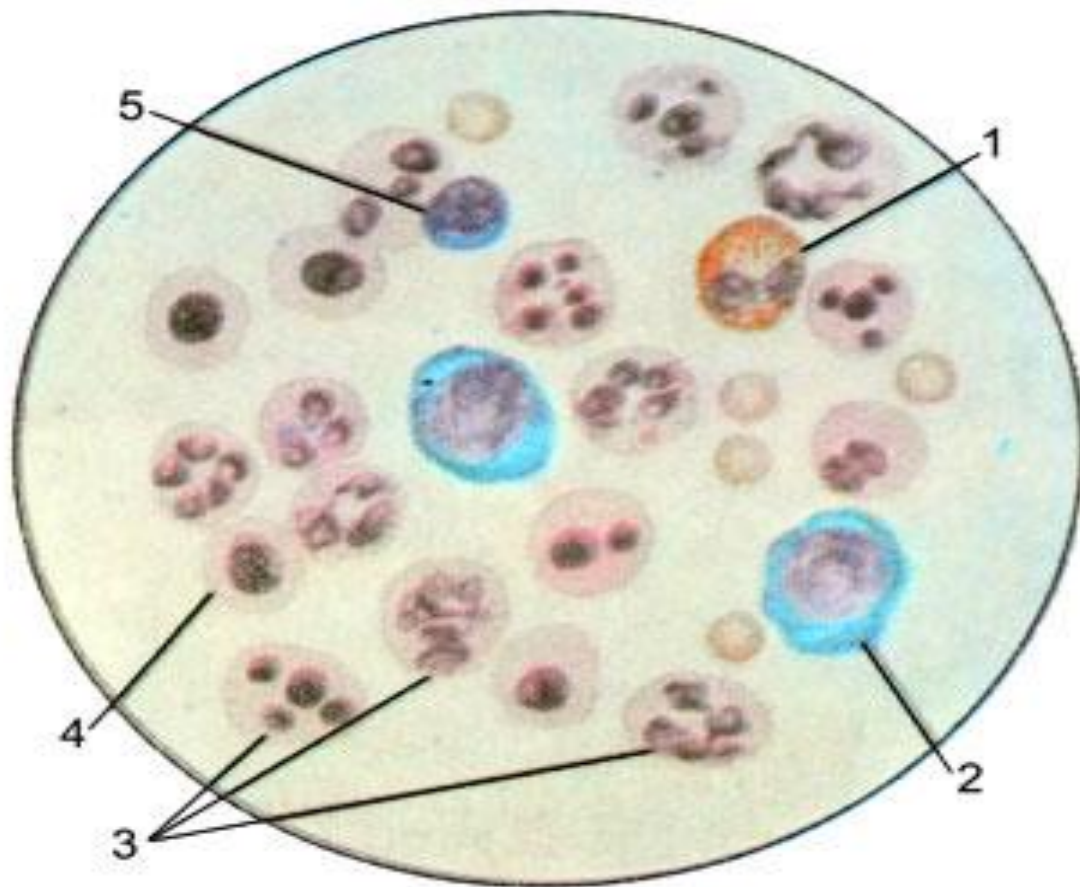




Клетки спинномозговой жидкости

- 1 - лимфоциты; 2 - макрофаг; 3 - эритроцит;
4 - перстневидная клетка; 5 - плазматическая клетка;
6 - моноцит; 7 - нейтрофильные гранулоциты

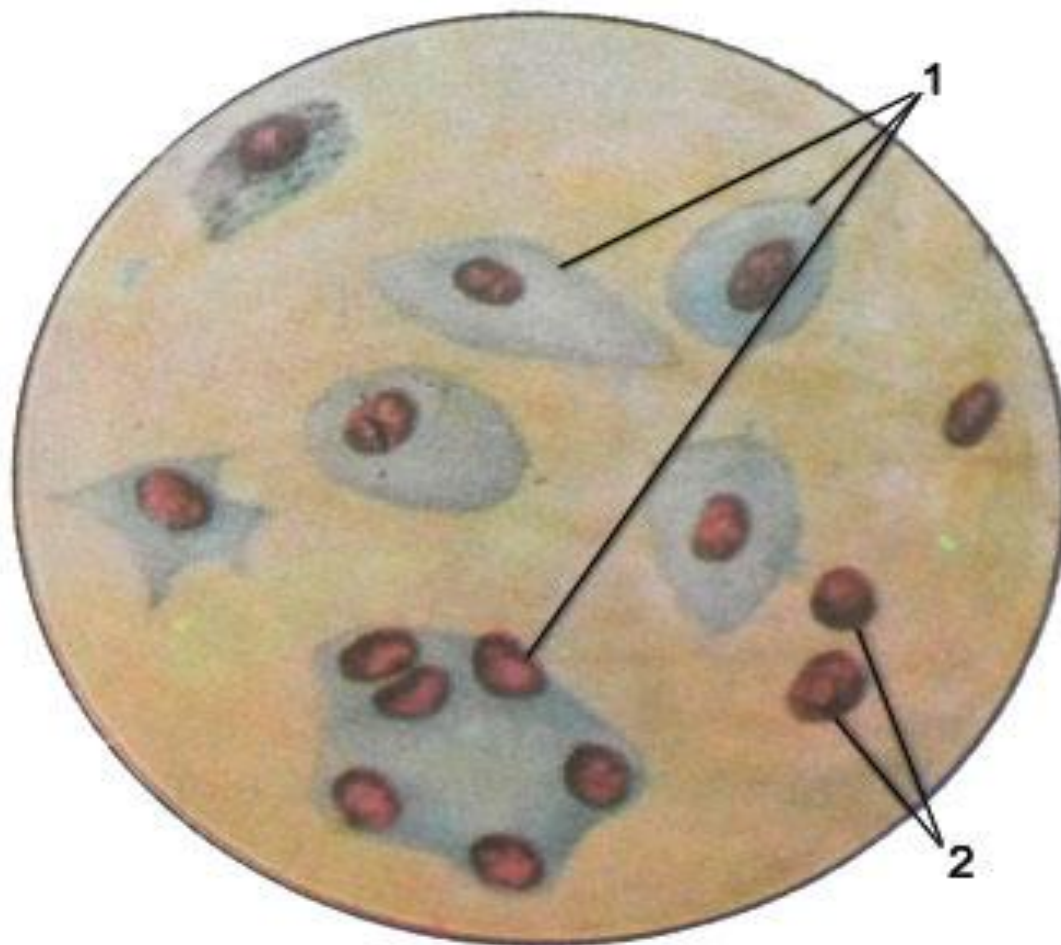




Лейкоциты в спинномозговой жидкости

- 1 - эозинофильный гранулоцит; 2 - плазматическая клетка;
3 - нейтрофильные гранулоциты; 4 - круглоядерный
нейтрофильный гранулоцит; 5 - лимфоцит





Клетки эндотелия и паутинной мозговой оболочки в спинномозговой жидкости
1 - сохранившиеся; 2 - голые ядра



МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Подсчет количества форменных элементов

Клетки	Взрослые	Новорожденные
Лимфоциты	60±20	20±15
Моноциты	30±15	70±20
Нейтрофилы	2±4	2±4
Эозинофилы	Редко	Редко
Клетки эпителия	Редко	Редко
Эритроциты	Отсутствуют	Отсутствуют



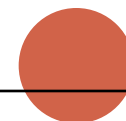
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИКВОРА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МЕНИНГИТА

- Менингококк, стафилококк: бактериоскопическое исследование
- Микобактерии туберкулеза:
 1. Бактериоскопическое исследование
 2. Культуральное исследование
 3. ПЦР-диагностика
 4. ИФА-диагностика
 5. Метод биологической пробы



БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИКВОРА

рН с помощью тест-систем	7,4-7,5
Относительная плотность ликвора проводят ареометром малого размера, с помощью диагностических полосок	1,002-1,009 г/мл
Качественные методы (глобулиновые реакции) 1. Реакция Нонне-Апельта 2. Реакция Панди	Значительное помутнение 4(+++++) Умеренное 3(+++) Заметная опалесценция 2(++) Слабая опалесценция 1(+)
Количественные методы: 1. Определение белка с сульфациловой кислотой и сульфатом натрия 2. Пирогаллоловый метод	0,12-0,2г/л
Определение глюкозы с помощью тест- систем	2,8-3,9 ммоль/л



ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОЛИТОВ

Электролит	Норма (ммоль/л)	Увеличение	Понижение
Калий	2,6-2,9	Атеросклероз Геморрагии Уремические энцефалиты	Опухоли с вовлечением оболочки мозга
Натрий	139,9-156,1	Перед эпилептически припадком Субарохноидальное пространство	_____
Кальций	1-1,5	Гнойный, туберкулезный менингиты	Гипокальциемия Послеоперационный период
Неорганический фосфор	0,4-0,8	Острые воспалительные процессы Туберкулезный менингит	Встречается крайне редко
Магний	1,05-1,07	_____	Гнойный менингит Опухоли ЦНС Энцефалит

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ

Метаболит	Норма (мкмоль/л)	Увеличение
Мочевина	1,0-5,5	Уремия Атеросклероз Менингит
Мочевая кислота	5,95-17,54	Атрофия мозга Уремия Бактериальные менингиты
Креатинин	44,2-94,5	Почечная недостаточность


Лактат- повышение служит признаком дифференциальной диагностики бактериальных менингитов от вирусных.

Пируват-повышение при тяжелом отравлении металлами, сахарном диабете.



ИССЛЕДОВАНИЕ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО РАВНОВЕСИЯ

Белковые фракции	норма	повышение	понижение
преальбумины	5,2±2,7	_____	При большинстве заболеваний мозга
альбумины	62,7±10,5	_____	Атеросклероз, некоторые опухоли
α1-глобулины	3,6±2,5	глиома мозга, метастазы в мозг из опухолей ЖКТ, инсульте	гиперкинетическом прогрессирующем панэнцефалите
α2-глобулины	5,0±2,3	Атеросклероз, медуллярные менингиомы, злокачественные глиомы	медуллярная компрессия, рассеянный склероз, нейросифилис, инсульт

Белковые фракции	норма	повышение	понижение
β1 -глобулины	8,8±2,6	ретро-бульбарный неврит, глиома мозга	
β2-глобулины	6,1±3,2	паренхиматозные повреждения ЦНС (нейросифилис, дегенеративные заболевания), коллагенозы. болезнь Альцгеймера и Пика	церебральные и спинальные менингиомы, интрамедуллярные опухоли
γ -глобулины	8,6±4,6	миелома, макроглобулинемия, рассеянный склероз, нейросифилис, опухоли ЦНС, менингоэнцефалит	

Микробиологическое исследование

Окрашивают после центрифугирования — по Граму, можно обнаружить менингококки, стафилококки, стрептококки.

Окраска фибриновой сетки по Цилю-Нильсену для выявления микобактерий туберкулеза.

Посев ликвора на несколько питательных сред для выявления более широкого спектра возбудителей.



Изменение СМЖ при различных заболеваниях.

Туберкулезный менингит.

- СМЖ прозрачная, бесцветная, при стоянии образует фибриновую пленку, в которой определяются микобактерии туберкулеза. Количество клеток в ликворе повышено, преобладают лимфоциты, но в ряде случаев в начале возможен нейтрофильно-лимфоцитарный плеоцитоз.
- В осадке СМЖ встречаются макрофаги, моноциты, плазматические клетки. Уровень белка в СМЖ умеренно повышен, содержание глюкозы снижено.



Инсульт Геморрагический

- Цвет СМЖ зависит от примеси крови. В большинстве случаев содержание белка возрастает до 1,5 г/л и выше. Повышено количество клеток, в частности нейтрофилов. В ликворе через несколько часов появляются макрофаги.



Опухоли головного мозга

- В ликворе наблюдается повышение уровня белка в 2-3 раза, иногда умеренный цитоз за счет лимфоцитов. Опухолевые клетки образуются не очень часто.



Черепно-мозговая травма

- Обычно при сотрясении головного мозга ликвор прозрачный, бесцветный, не содержит эритроцитов. Через 3-4 дня отмечается умеренный плеоцитоз, который через двое – трое суток снижается до нормы.
- При тяжелой травме- в ликворе кровь, кроме эритроцитов встречаются макрофаги. В случаях присоединения гнойно-воспалительного процесса цвет СМЖ меняется (мутная, опалесцирующая), преобладают нейтрофилы. Количество белка при ушибах средней тяжести составляет 1г/л, при тяжелых 3-10г/л.



Благодарю за внимание!

