

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Учебно-методическое пособие



Минск БГМУ 2018

УДК 616.9:616.832.9-008.8-071(075.8)
ББК 55.1я73
К49

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве
учебно-методического пособия 17.01.2018 г., протокол № 5

Авторы: канд. мед. наук, ассист. Т. А. Рогачёва; канд. мед. наук, ассист.
Л. А. Анисько; канд. мед. наук, доц. Н. В. Соловей; д-р мед. наук, проф. И. А. Карпов

Рецензенты: доц. каф. инфекционных болезней и детских инфекций Бело-
русской медицинской академии последипломного образования А. Н. Осирко; канд.
мед. наук, зам. главного врача Городской клинической инфекционной больницы
С. О. Вельгин

Клинико-лабораторное исследование цереброспинальной жидкости : учеб-
К49 но-методическое пособие / Т. А. Рогачёва [и др.]. – Минск : БГМУ, 2018. – 23 с.
ISBN 978-985-21-0023-6.

Описываются клинико-лабораторное исследование цереброспинальной жидкости, его зна-
чение для диагностики разнообразных поражений нервной системы, показания и порядок забора
цереброспинальной жидкости, определение клинических и биохимических показателей, особен-
ности исследования и патологические изменения цереброспинальной жидкости при различных
заболеваниях.

Предназначено для студентов 3–6-го курсов медико-профилактического факультета по
учебным дисциплинам «Клиническая лабораторная диагностика», «Инфекционные болезни».

УДК 616.9:616.832.9-008.8-071(075.8)
ББК 55.1я73

ISBN 978-985-21-0023-6

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2018

МОТИВАЦИОННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕМЫ

Тема занятия: «Клинико-лабораторное исследование цереброспинальной жидкости».

Общее время занятия — 4 ч.

Цереброспинальная жидкость (ЦСЖ) — одна из важнейших биологических жидкостей организма человека, своевременное и качественное исследование которой позволяет уточнить наличие заболевания нервной системы, его этиологию, определить тактику лечения, контролировать течение и исход патологического процесса.

Цель занятия: усвоить теоретические и практические основы клинико-лабораторного исследования ЦСЖ, подходы к интерпретации результатов лабораторных анализов ликвора при различной патологии ЦНС.

Задачи занятия:

1. Студент должен изучить:

- требования преаналитического этапа клинического лабораторного исследования ЦСЖ;
- методы и правила выполнения клинических исследований ликвора;
- принципы и методы определения клинических показателей ЦСЖ;
- принципы и методы определения основных биохимических показателей ЦСЖ;
- лабораторные показатели исследования ЦСЖ в норме;
- интерпретацию результатов клинико-лабораторных исследований ликвора при различной патологии ЦНС.

2. Ознакомиться с инструктивно-методической документацией клинико-лабораторного исследования ЦСЖ.

3. Студент должен научиться:

- определять физические свойства ликвора в норме и при патологии;
- методике подсчета количества лейкоцитов в ЦСЖ и дифференциации их форм;
- методам определения концентрации белка и глюкозы в ликворе;
- интерпретировать результаты клинического и биохимического исследований ЦСЖ при различной патологии.

Требования к исходному уровню знаний. Для полного освоения темы необходимо повторить:

- из нормальной физиологии: строение головного и спинного мозга, механизм ликворообразования, функции ЦНС;
- микробиологии и вирусологии: особенности исследования ЦСЖ при подозрении на нейроинфекцию;

- патологической физиологии: механизм протекания патологических процессов в ликворе;
- неврологии: показатели ЦСЖ в норме и при различных поражениях ЦНС.

Контрольные вопросы из смежных дисциплин:

1. Охарактеризуйте процесс ликворообразования.
2. Назовите состав ЦСЖ в норме, физиологические особенности.
3. Перечислите физические свойства ликвора при бактериальных и вирусных менингитах.
4. Укажите основные ликворологические синдромы при поражении ЦНС.

Контрольные вопросы по теме занятия:

1. Перечислите требования к преаналитическому этапу лабораторного исследования ликвора.
2. Опишите методику выполнения клинического исследования ЦСЖ, определяемые показатели.
3. Охарактеризуйте основные биохимические показатели ликвора, методы определения, их значение при различной патологии ЦНС.
4. Укажите факторы, влияющие на результаты исследования ЦСЖ.
5. Охарактеризуйте показатели исследования ликвора при нарушениях кровообращения в головном мозге.
6. Опишите результаты анализа ЦСЖ при гнойном менингите.
7. Назовите особенности показателей ликвора при менингитах вирусной этиологии.
8. Опишите значение применения микроскопического исследования ЦСЖ.
9. Интерпретация результатов исследования ликвора при различной патологии.
10. Опишите методику подсчета цитоза ЦСЖ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

ЦСЖ, ликвор (*Liquor cerebrospinalis*), вырабатывается сосудистыми сплетениями желудочков мозга.

В норме ЦСЖ представляет собой бесцветную прозрачную жидкость без запаха, заполняющую субарахноидальное пространство головного мозга, полости желудочков мозга, спинномозговой канал, периваскулярное и перицеллюлярное пространства ткани мозга.

Объем циркулирующего ликвора составляет 90–150 мл у взрослых, 10–60 мл у новорожденных. В течение суток у взрослого человека образуется в среднем около 500 мл ЦСЖ, по мере необходимости может образовываться от 350 до 1150 мл ЦСЖ со скоростью 0,2–0,8 мл/мин, средняя

скорость образования составляет 0,35 мл/мин, полное обновление происходит за 6–8 ч. В зависимости от потребности организма ликворообразование происходит от 1 до 6 раз в сутки, что зависит от внутричерепного давления (чем давление ниже, тем быстрее происходит образование ликвора). Без вреда для пациента одномоментное взятие ликвора возможно в следующих количествах: у взрослых — 8–10 мл, у детей — 5–6 мл, в том числе грудных — 2–3 мл.

Функции ЦСЖ многообразны: она предохраняет головной и спинной мозг от механических воздействий, поддерживает постоянство внутричерепного давления и водно-электролитного гомеостаза, участвует в трофических и обменных процессах между кровью и мозгом.

Показаниями к исследованию ЦСЖ являются подозрения на наличие патологического процесса в ЦНС (нейроинфекция, кровоизлияние, инфаркт, воспалительные, дегенеративные, демиелинизирующие заболевания и др.). Наиболее часто для этой цели используют люмбальную пункцию, для выполнения которой должны быть строго обоснованные клинические показания, такие как острая головная боль и/или лихорадка, и/или положительные менингеальные симптомы, гиперестезия, тошнота, рвота, интоксикационный синдром, остро развивающаяся очаговая неврологическая симптоматика, судороги или острое нарушение уровня сознания, поведения.

Состав ЦСЖ регулируется избирательной проницаемостью гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), которая изменяется при различных патологических состояниях: интоксикациях, действии микробных и вирусных факторов, эндокринных нарушениях и др.

Состав ликвора в норме характеризуется:

- относительным постоянством;
- незначительным содержанием белка (0,2–0,3 г/л);
- достаточно большим содержанием воды, солей (особенно хлора и магния);
- относительно высокой концентрацией глюкозы (около 60 % от уровня глюкозы крови);
- единичными клетками (до 5 лейкоцитов в 1 мкл).

ПРАВИЛА ВЗЯТИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ

Важным звеном является соблюдение правил преаналитического этапа лабораторного исследования ликвора. Ликвор должны забирать в разовые пластиковые или стеклянные стерильные пробирки с плотными крышками. При этом должен соблюдаться порядок взятия ЦСЖ в отдельные емкости в зависимости от вида исследования:

- 1-я пробирка (около 1,5–2, мл) — для анализа клинических показателей (физические свойства, цитоз, и др.);

– 2-я пробирка (1–1,5 мл) — для определения биохимических показателей;

– 3-я емкость (стерильная; 2–2,5 мл) — для бактериологического исследования; оптимально посев проводить у постели пациента в специальный флакон с питательной средой для культивирования микроорганизмов (во флакон с меньшим объемом питательной среды);

– 4-я пробирка (рекомендуется эппендорф; 1–1,5 мл) — для выполнения молекулярно-биологических исследований методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики этиологии менингитов путем выявления генома возбудителей инфекций;

– отдельная пробирка (стерильная; 1 мл) — для бактериоскопии мазков ликвора (окрашивание по Граму, метиленовой синькой, по Циль–Нильсону и др.) при подозрении на бактериальный менингит;

– при необходимости дополнительная пробирка — для специальных исследований (например, на криптококки, интраклеточные антитела и др.).

Клинико-биохимическое исследование ЦСЖ (физические свойства, цитоз, белок, глюкоза) должно выполняться с соблюдением основных принципов, главным из которых является срочность. **Взятая ЦСЖ должна быть исследована по cito!** Оптимально исследовать ликвор в течение 30 мин после взятия (не позднее 60 мин). Исследование должно быть комплексным, включающим клиническое, биохимическое, иммунологическое, микробиологическое, молекулярно-биологическое и другие исследования в зависимости от показаний и возможностей лаборатории.

Проводимые клинико-лабораторные исследования ЦСЖ включают определение обязательных показателей:

– цвет, прозрачность — физические свойства;

– количество, вид клеток — клеточный состав (цитоз);

– концентрация общего белка, глюкозы и др. — биохимические показатели.

Если результаты обязательных исследований без патологии, то выполнение дополнительных, как правило, не показано.

При получении патологических результатов обязательных анализов исследования ЦСЖ и по клиническим показаниям необходимы дополнительные клинико-лабораторные исследования:

– биохимические (электролиты, концентрация лактата, активность лактатдегидрогеназы, креатинкиназы и др.);

– молекулярно-биологические с помощью ПЦР на геном бактериальных, грибковых либо вирусных возбудителей;

– иммунологические (определение иммуноглобулинов, наличие специфических антигенов и/или антител);

- бактериологический посев с микроскопией препаратов ликвора, окрашенных по Граму, метиленовой синькой;
- определение опухолевых маркеров и др.

Клиническое исследование ЦСЖ включает макроскопическое (определение физических свойств) и микроскопическое изучение.

Макроскопическое исследование. В доставленном в лабораторию ликворе описываются цвет, прозрачность, выраженность ксантохромии при ее наличии, указывается доставленное количество, наличие или отсутствие фибриновой пленки, запаха.

Цвет определяется путем сравнения ликвора с дистиллированной водой, в норме ЦСЖ бесцветная (на 99 % состоит из воды). Определение: в пробирку из бесцветного прозрачного стекла, имеющую тот же диаметр и толщину, что и пробирка с ЦСЖ, наливают дистиллированную воду и сравнивают цвет в обеих емкостях, располагая их на уровне глаз на фоне листа белой бумаги. Оценить цвет ликвора (в основном для выявления ксантохромии) возможно с помощью спектрофотометрии, для чего измеряют оптическую плотность исследуемого образца ликвора по отношению к воде (длина волны от 450 нм). По разности оптической плотности судят о степени ксантохромии. При патологических процессах цвет ликвора может изменяться.

Ксантохромия — наличие различной степени желтой окраски ликвора, от слегка желтой до желто-коричневой, бурой и коричневой, что обусловлено присутствием продуктов распада гемоглобина эритроцитов: оксигемоглобина, метгемоглобина. Наблюдается при субарахноидальном кровоизлиянии, опухолях ЦНС, некоторых менингитах, травмах, при туберкулезном менингите, внутричерепных гематомах. Желтый цвет ЦСЖ может приобретать также при гипербилирубинемии: при содержании в крови билирубина более 170 мкмоль/л.

По механизму появления различают ксантохромию:

- застойную — вследствие застоя крови и повышения проницаемости мозговых сосудов (пигменты плазмы просачиваются в ликвор), параллельно отмечается рост концентрации белка;
- геморрагическую — вследствие попадания крови в субарахноидальное пространство (ксантохромия появляется позже).

Физиологическая билирубинемия — появление билирубина в ЦСЖ — встречается у новорожденных и почти у всех недоношенных (проходит к концу первого месяца жизни).

Степень выраженности ксантохромии оценивают визуально по 4-плюсовой системе: 4+ — резко выраженная; 3+ — выраженная; 2+ — умеренно выраженная; 1+ — слабо выраженная.

Розовый, красный (кровянистый) цвет ЦСЖ может быть обусловлен примесью эритроцитов крови — эритроцитария. Она может быть

истинной при свежих субарахноидальных кровоизлияниях, свежих кровоизлияниях в вещество мозга (при наличии связи очага кровоизлияния с ликворными путями), при травме мозга, а также может быть ложной за счет попадания крови в ликвор во время выполнения пункции — «путевая» кровь. Важно определить источник крови в ЦСЖ. Критерии, позволяющие в большинстве случаев отличить истинную эритроцитархию от примеси «путевой» крови, представлены в табл.

Таблица

Признаки отличия истинной эритроцитархии от «путевой» крови

Истинная эритроцитархия	«Путевая» кровь
Все порции ЦСЖ равномерно окрашены кровью	Интенсивность цвета убывает, наиболее окрашена 1-я порция ЦСЖ
Количество эритроцитов примерно равное во всех пробирках	Различное количество эритроцитов в пробирках
Не происходит образование кровянистого сгустка	При попадании более 1 мл крови ЦСЖ сворачивается в течение 30–40 мин
После центрифугирования ЦСЖ ксантохромная окраска сохраняется	После центрифугирования надосадок бесцветен
Ликворограмма отражает патологический процесс	Цитоз ЦСЖ соответствует лейкоформуле крови
В окрашенных препаратах морфология эритроцитов изменена	В окрашенных препаратах эритроциты не изменены

Для определения морфологических особенностей эритроцитов можно микроскопировать нативный препарат ЦСЖ (для дифференциальной диагностики субарахноидального кровоизлияния и «путевой» примеси крови). Наличие измененных эритроцитов (эритроцитов-теней) свидетельствует о попадании крови в ликвор до проведения люмбальной пункции (субарахноидальное кровоизлияние), присутствие морфологически неизмененных эритроцитов говорит о примеси крови, связанной с техникой проведения пункции.

Зеленая окраска ликвора наблюдается при выраженной билирубинемии (в результате окисления билирубина в биливердин), наличии гноя (при гнойном менингите), прорыве абсцесса мозга в субарахноидальное пространство или желудочки мозга.

Прозрачность определяют так же, как и цвет, только при этом обе пробирки (с дистиллированной водой и ликвором) встряхивают и помещают напротив черного фона. В норме ЦСЖ прозрачная.

Мутность ликвора может быть обусловлена наличием в ней эритроцитов, лейкоцитов, клеточных, тканевых элементов, большого количества микроорганизмов, повышенным содержанием белка. Чаще всего она наблюдается вследствие присутствия лейкоцитов (более 400 клеток в 1 мкл) и большого количества бактерий (при бактериальных менингитах). Мутность ЦСЖ, устраняемая после центрифугирования, обусловлена наличием

клеток крови, сохраняющаяся — микрофлорой. Опалесценция ликвора (легкое помутнение) встречается при большом содержании в нем грубо-дисперсных белков, что наблюдается при туберкулезном менингите, острым сифилитическом менингите, тромбозе синусов головного мозга.

Фибриновая пленка в ЦСЖ в норме отсутствует. Она появляется при наличии большого количества фибриногена, при этом значительно повышается концентрация общего белка, что не является признаком определенного заболевания, но является показателем тяжелого повреждения ГЭБ. Встречается часто при туберкулезном менингите, опухолях ЦНС. При микроскопии в свернувшейся фибрине можно видеть клеточные элементы, при туберкулезном менингите можно обнаружить кислотоустойчивые микобактерии туберкулеза после окраски по Циль–Нильсону.

Запах ЦСЖ в норме не имеет, появляется при комах: уремической — запах аммиака, диабетической — ацетона.

Микроскопическое исследование имеет важное диагностическое значение, проводится для определения наличия клеточных элементов в ЦСЖ. Показатели количества (цитоз) и вида лейкоцитов (цитограмма), содержащихся в ликворе, имеют основное значение для дифференциальной диагностики патологий нервной системы, таких как менингитов и менингоэнцефалитов вирусной и бактериальной природы, инсультов, инфарктов.

Принцип определения цитоза ликвора заключается в подсчете числа лейкоцитов под микроскопом в специальной камере после разрушения эритроцитов.

Определение клеточного состава ЦСЖ всегда является срочным анализом, который необходимо выполнять в течение 30 мин после взятия ввиду разрушения клеток при хранении образца.

Цитоз — количество лейкоцитов в 1 литре ($\times 10^6$) ликвора с указанием вида клеток (лимфоциты, нейтрофилы, макрофаги и др.).

Для подсчета лейкоцитов необходимы:

- микроскоп (увеличение $\times 40$);
- камера Фукс–Розенталя (объем 3,2 мкл, глубина 0,2 мм, состоит из 16 больших квадратов, которые расчерчены на 16 малых, всего 256 квадратов);
- реактив Самсона, с помощью которого разрушаются эритроциты, стабилизируются и окрашиваются лейкоциты (сохраняются в течение 2–3 ч); реактив состоит из фуксина (окрашивает цитоплазму и ядро клеток), ледяной уксусной (разрушаются эритроциты), карболовой кислоты, воды.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИТОЗА

В пробирку необходимо налить 200 мкл реактива Самсона, добавить 100 мкл ликвора, тщательно и аккуратно перемешать (вращением между ладонями), оставить на 5–10 мин, заполнить камеру Фукс–Розенталя. Лейкоциты считают и дифференцируют по всей площади сетки камеры с помощью счетчика лейкограммы.

Результат подсчета цитоза ЦСЖ указывает как общее количество лейкоцитов во всей камере ($\times 10^6/\text{л}$), так и число отдельных форм лейкоцитов, причем если цитоз меньше $100 \cdot 10^6/\text{л}$ клеток, то число отдельных форм лейкоцитов указывается в абсолютных значениях, если лейкоцитов более $100 \cdot 10^6/\text{л}$ — в процентах.

При необходимости более полной дифференциации клеток ликвора (при высоком цитозе) готовится его мазок (как крови), окрашивается по Романовскому–Гимзе, микроскопируется при увеличении в 100 раз, в результате указываются все виды клеток, их процентное соотношение, особенности (наличие атипичных клеток, эозинофилов и др.).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИТОЗА

В норме в ликворе содержится до $5\text{--}6 \cdot 10^6/\text{л}$ лейкоцитов, которые чаще представлены лимфоцитами.

При различной патологии ЦНС изменяется как количественный, так и видовой состав клеток ликвора. Увеличение количества лейкоцитов — плеоцитоз, его выраженность, определение в динамике — позволяет судить о характере патологического процесса, эффективности проводимой терапии, прогнозе течения заболевания. В зависимости от количества лейкоцитов различают плеоцитоз слабый (до $50\text{--}100 \cdot 10^6/\text{л}$), умеренный (до $600\text{--}800 \cdot 10^6/\text{л}$), выраженный ($1000 \cdot 10^6/\text{л}$ и выше). Важным диагностическим аспектом является вид преобладающих лейкоцитов (более 50 %): плеоцитоз в большинстве случаев бывает нейтрофильный и лимфоцитарный. Плеоцитоз ЦСЖ может в патологических случаях варьировать от нескольких десятков клеток до нескольких тысяч в 1 мкл.

Высокий плеоцитоз с преобладанием нейтрофилов наблюдается при острых бактериальных менингитах различной этиологии (чаще вызванных менингококком, пневмококком и гемофильной палочкой), при абсцессах мозга, актиномикозе.

Лимфоцитарный плеоцитоз характерен в первую очередь для менингитов и менингоэнцефалитов вирусной этиологии, а также для нейросифилиса, рассеянного склероза, реактивного асептического менингита, туберкулезного менингита, для хронического воспалительного процесса

оболочек мозга, в том числе в послеоперационном периоде (спустя несколько дней после операции вслед за нейтрофильным плеоцитозом).

Умеренный или слабый плеоцитоз наблюдается при церебральном сифилисе, туберкулезном менингите, энцефалитах, рассеянном склерозе, опухолях ЦНС, травмах позвоночника и головного мозга и др.

Слабый плеоцитоз (или даже нормальный) с преобладанием лимфоцитов характерен для серозного менингита, прогрессивного паралича, церебрального сифилиса, энцефалита, рассеянного склероза, эпилепсии, опухолей ЦНС, травм позвоночника и головного мозга.

Чаще всего в ЦСЖ встречаются два вида лейкоцитов: лимфоциты и нейтрофилы, по морфологии они схожи с таковыми из периферической крови. *Макрофаги* в норме в ликворе отсутствуют. Их наличие при нормальном цитозе наблюдают после кровотечения или при воспалительном процессе, в послеоперационном периоде (активная санация очага). Полное отсутствие макрофагов при плеоцитозе — плохой прогностический признак.

Эозинофилы в нормальном ликворе не встречаются. Их появление — признак реакции сосудов соединительной ткани на чужеродные белки. Корреляции между эозинофилией крови и ликвора нет. Обнаруживаются главным образом при паразитарном поражении головного мозга (цистицеркоз, эхинококкоз, трихинеллез), токсоплазмозе. В небольшом количестве (2–3 %) появляются в ликворе при туберкулезном менингите, внутримозговых кровоизлияниях, могут накапливаться при опухолях мозга, гидроцефалии, лекарственной интоксикации, субарахноидальных кровоизлияниях.

Базофилы при окраске реактивом Самсона в камере не отличимы от нейтрофилов, при окраске азури-эозином их морфология в ликворе такая же, как в мазках крови. Базофилы обнаруживаются в ликворе при тяжело протекающих нейроинфекциях, особенно у детей.

Плазматические клетки выявляются в ЦСЖ только при патологии ЦНС. Особенно характерно появление плазмоцитов в ликворе больных рассеянным склерозом, энцефалитом, хроническими формами нейросифилиса, на стадии выздоровления воспалительных заболеваний (обычно в сочетании с умеренным плеоцитозом).

Эпителиальные клетки (мезотелиальные, арахноэндотелиальные) в норме отсутствуют. Обнаруживаются при новообразованиях оболочек мозга, иногда при воспалительных процессах.

Опухолевые клетки и их комплексы также в норме отсутствуют. При патологии обнаруживаются в ликворе желудочков мозга при злокачественных опухолях, невриноме слухового нерва, эпиндиомах, метастазах рака в кору больших полушарий мозга.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обязательными биохимическими показателями являются общий белок и глюкоза в ЦСЖ. Ряд дополнительных показателей (хлориды, лактат, ферменты и др.) определяется в специализированных учреждениях здравоохранения.

Общий белок. Совокупное содержание веществ белковой природы в ЦСЖ — важный показатель, который обязательно используется для интерпретации результатов исследования, изменяется при различной патологии ЦНС.

В норме в люмбальном ликворе содержание белка составляет 0,22–0,33 г/л (в желудочковом — 0,12–0,2 г/л, в цистернальном — 0,1–0,22 г/л). У новорожденных белок увеличен до 0,6–0,9 г/л из-за недостаточно развитого ГЭБ, к концу 1-го года жизни он снижается; у недоношенных детей его больше, чем у доношенных; у мальчиков на 5 % физиологическая граница выше, чем у девочек.

Повышение содержания белка в ЦСЖ обозначается термином протеинария. Более 80 % веществ белковой природы поступает в ЦСЖ из плазмы путем ее ультрафильтрации.

Общий белок может быть определен качественным (реакция Панди) и количественным (концентрация в г/л) методами. При предполагаемой высокой концентрации белка в ликворе (выраженная мутность) рекомендуется предварительно проводить реакцию Панди, с помощью которой ориентировочно судят о содержании белка в ЦСЖ. Принцип реакции Панди основан на денатурации альбуминов и глобулинов и выпадении их в осадок в присутствии насыщенного раствора карболовой кислоты, что учитывается визуально. В случае резко положительного результата реакции Панди ликвор перед количественным определением необходимо развести физиологическим раствором в зависимости от выраженности степени помутнения раствора.

Видимый осадок различной интенсивности (ввиду облачка в пробирке или преципитата на стекле или в лунке) образуется при концентрации белка в ликворе более 0,3 г/л.

Положительные результаты реакции Панди оценивают визуально плюсами:

- слабая опалесценция — 1+;
- заметная опалесценция — 2+;
- умеренное помутнение — 3+;
- значительное помутнение — 4+.

Для определения концентрации белка может использоваться любой из унифицированных методов, например, с сульфосалициловой кислотой, пирогаллоловым красным и др.

В настоящее время наиболее широко используемым в клинко-диагностических лабораториях методом определения концентрации общего белка в ликворе является спектрофотометрический — измерение оптической плотности раствора с помощью спектрофотометров.

В лабораторной практике для определения содержания белка в ЦСЖ используются в основном две методики:

– измерение интенсивности окраски исследуемого раствора (колориметрическая реакция с применением пирогаллолового красного; итог — розовое окрашивание);

– измерение степени мутности (турбодиметрический метод) после добавления ЦСЖ к раствору сульфосалициловой кислоты.

Концентрация белка в ликворе прямо пропорциональна интенсивности окраски (розовой) или степени помутнения исследуемого раствора.

Используются стандартные наборы реагентов, в состав которых входят готовый реагент, стандартный раствор белка (альбумина или глобулина), с описанием хода выполнения исследования и способа расчета результата, который может быть введен в полуавтоматический или автоматический анализатор, при этом концентрация белка в исследуемом ликворе указывается без дополнительных пересчетов.

При интерпретации результатов всегда необходимо учитывать характеристики применяемого метода (чувствительность, специфичность, линейность и др.) и ограничения методики (интерференцию — влияние присутствия различных веществ на результаты анализа), которые указываются в инструкциях по применению наборов реагентов.

Чувствительность метода — минимальное количество анолита, которое выявляется с помощью данной методики.

Специфичность — способность субстрата, входящего в диагностический набор, реагировать только с определяемым веществом.

Линейность — диапазон значений показателя, в пределах которого гарантируется точность результата, например, для концентрации белка ликвора чувствительность находится в границах от 100 до 1000 мг/л. Поэтому при концентрации белка выше указанного предела ликвор следует разводить физиологическим раствором и учитывать разведение при расчете результатов анализа.

Интерферирующими соединениями, присутствие или высокое содержание которых может влиять на результат определения белка сульфосалициловым методом, являются, например, гемоглобин, лекарственные препараты (пенициллин, сульфометоксазон и рентгеноконтрастные препараты и др.).

Клинико-диагностическое значение определения белка. При различной патологии ЦНС содержание белка в ликворе изменяется как в сторону повышения, так и снижения.

Гипопротеинария — снижение концентрации белка ниже 0,22 г/л; наблюдается при гидроцефалии, гипертиреозе, ускоренном ликворообразовании, при нарушении целостности твердой мозговой оболочки в результате травмы или оперативного вмешательства.

Гиперпротеинария — повышение концентрации белка ЦСЖ выше 0,33 г/л. Наиболее часто встречается при острых и хронических воспалительных заболеваниях ЦНС: туберкулезном, бактериальном менингитах (вплоть до 20 г/л), энцефалитах, абсцессах и опухолях мозга, после операций на головном мозге.

Механизм увеличения концентрации белка в ЦСЖ может быть обусловлен:

– нарушением проницаемости ГЭБ (травма, острое или хроническое инфекционное поражение);

– нарушением обратного всасывания белка из ликвора клетками «паутинной» оболочки (инфекционные поражения, механический блок оттока ликвора опухолью, абсцессом, спайками);

– увеличением синтеза иммуноглобулинов лимфоцитами или плазматическими клетками в ЦНС (рассеянный склероз).

Общим, хотя и не абсолютным, правилом является пропорциональное увеличение концентрации белка и клеток в ликворе. Однако при некоторых заболеваниях среднее или выраженное увеличение концентрации белка в ликворе сопровождается умеренным плеоцитозом (черепно-мозговая травма, опухоль головного и спинного мозга, абсцесс мозга, инсульт, саркоидоз ЦНС, системная красная волчанка, уремия, микседема, рассеянный склероз). Кроме того, присутствие примеси крови в ликворе также увеличивает уровень белка в ликворе из расчета 1 мг белка на каждую 1000 неизмененных эритроцитов (в случае лизиса эритроцитов такая пропорция не соблюдается).

Классической причиной увеличения общего белка и выраженного плеоцитоза в ликворе является острый бактериальный менингит (74–99 % случаев по различным литературным данным). При бактериальном менингите обычно отмечается увеличение концентрации белка в ликворе более 1 г/л. Определение общего белка в ЦСЖ применяется в качестве одного из критериев для дифференциальной диагностики гнойных и асептических менингитов. При концентрации белка в ЦСЖ более 2 г/л чувствительность этого теста для дифференциальной диагностики бактериального и вирусного менингитов составляет 86 %, а специфичность — 100 %. Сочетание цитоза более 1000 клеток/мкл и уровня белка в ЦСЖ более 5 г/л ассоциируется с неблагоприятным прогнозом течения бактериального менингита.

Для интерпретации результатов исследования ЦСЖ имеет значение соотношение концентрации белка и количества лейкоцитов. Выделяют два типа диссоциации: белково-клеточную и клеточно-белковую.

Белково-клеточная диссоциация характеризуется гиперпротеинарией при нормальном или слегка повышенном цитозе. Выделяют абсолютную (выраженное увеличение содержания белка и нормальное число лейкоцитов либо их отсутствие) и относительную (невысокий цитоз) белково-клеточную диссоциацию. Наблюдается при застойных процессах в ликворных путях (чаще при опухолях мозга, реже при нейросифилисе, сосудистых заболеваниях ЦНС и др.).

Клеточно-белковая диссоциация характеризуется выраженным плеоцитозом при нормальной или незначительно увеличенной концентрации белка, встречается при воспалительных процессах нервной системы (менингиты, энцефалиты и др.).

Альбумин. В клинической практике в ряде случаев имеет значение определение в ЦСЖ основного белка плазмы — альбумина, наличие которого в ликворе является индикатором состояния проницаемости ГЭБ, так как альбумин не синтезируется клетками ЦНС. Для оценки степени нарушения проницаемости ГЭБ применяют расчетный показатель — альбуминовый индекс. Это отношение концентрации альбумина ЦСЖ к альбумину плазмы крови (в г/л), умноженное на 1000. В норме альбуминовый индекс должен быть менее 9, значения от 9 до 14 расценивают как умеренное повреждение ГЭБ, от 14 до 30 — заметное, 30–100 — тяжелое, более 100 — полное поражение ГЭБ.

Глюкоза ЦСЖ — второй по значимости биохимический показатель. Концентрация глюкозы в ликворе в норме составляет 2,8–3,9 ммоль/л, возраст и пол человека на данный показатель не влияют. Однако уровень глюкозы подвержен значительным колебаниям даже у здорового человека в зависимости от пищевого режима, физической нагрузки, других факторов.

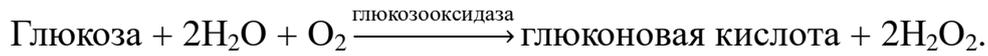
Увеличение содержания глюкозы в ЦСЖ — гипергликокорация — встречается при сахарном диабете, острых энцефалитах, некоторых опухолях, ишемических нарушениях кровообращения, тетании, столбняке и других заболеваниях. Гипогликокорация наблюдается в основном при менингитах бактериальной этиологии, опухолевых процессах в мозге и его оболочках, реже при субарахноидальном кровоизлиянии, герпетической инфекции, что связано с гликолитической активностью микроорганизмов, опухолевых клеток и лейкоцитов.

Определение концентрации глюкозы. Основным и референтным методом для определения концентрации глюкозы в жидкостях организма признан ферментативный, принцип которого основан на биохимических реакциях превращения глюкозы под действием ферментов с появлением

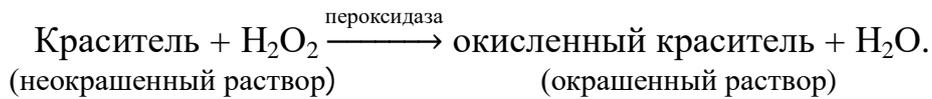
окрашивания исходного бесцветного раствора. Интенсивность окраски пропорциональна количеству концентрации глюкозы. В зависимости от применяемого фермента это может быть глюкозооксидазный или гексокиназный методы. Глюкозооксидазный чаще используется, в том числе для определения концентрации глюкозы в ЦСЖ.

Выделяют два этапа биохимической реакции:

1. Глюкозооксидаза окисляет глюкозу до глюконовой кислоты с образованием перекиси водорода (H_2O_2):



2. Затем H_2O_2 под действием пероксидазы окисляет краситель, который в окисленной форме дает окрашивание:



Клинико-диагностическое значение определения глюкозы. Для корректной оценки уровня глюкозы в ликворе рекомендуется одновременно определять ее уровень в сыворотке крови, где в норме он приблизительно в 2 раза выше; соотношение уровня глюкозы в ликворе и крови в норме составляет 0,5–0,7 (при гипергликемии резко снижается).

Наиболее клинически значимым является уменьшение концентрации глюкозы в ликворе и соотношения глюкоза ликвора/глюкоза крови. Выделяют три основных механизма, приводящие к гипогликорахии:

- 1) нарушение транспорта глюкозы в ЦНС;
- 2) увеличение гликолитической активности в ЦНС;
- 3) рост потребления глюкозы лейкоцитами и микроорганизмами, присутствующими в ЦСЖ.

Гипогликорахия характерна для бактериальных менингитов (особенно вызванных микобактериями туберкулеза). Уровень глюкозы в ликворе уменьшается практически во всех случаях бактериального менингита. Исключением могут быть дети с острым бактериальным менингитом, у 20–40 % которых уровень глюкозы в ЦСЖ может оставаться в пределах нормы.

Уменьшение соотношения глюкоза ЦСЖ/кровь менее 0,3 наблюдается более чем в 70 % случаев бактериального менингита, причем показатель менее 0,2 свидетельствует о неблагоприятном прогнозе течения инфекционного процесса. Отмечают, что гипогликорахия также может встречаться при субарахноидальном кровоизлиянии, поражении оболочек мозга метастазами.

По наблюдениям ряда исследователей, концентрация глюкозы в ЦСЖ остается чаще в нормальном диапазоне при таких заболеваниях

ЦНС, как вирусный менингит, энцефалит, абсцесс мозга, сифилис, опухоли мозга.

Следует отметить, что при гипергликемии до 40 ммоль/л (предел насыщения систем транспорта глюкозы через ГЭБ) наблюдается увеличение уровня глюкозы в ликворе на фоне нормального соотношения глюкозы ликвора к глюкозе крови. При повышении глюкозы крови более 40 ммоль/л данный показатель будет уменьшаться.

Завышать уровень глюкозы в ЦСЖ будет и наличие примеси «путевой» крови.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ НАИБОЛЕЕ ЧАСТО ВСТРЕЧАЮЩЕЙСЯ ПАТОЛОГИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Лабораторные показатели исследования ликвора динамичны, могут отличаться у пациентов с одинаковым диагнозом. Они достаточно быстро изменяются и зависят от многих причин: выраженности процесса, его локализации, времени, прошедшего от начала болезни до исследования, качества лечения и других факторов. Интерпретировать результаты необходимо с учетом клинической картины заболевания, сроков заболевания. Ниже приведены наиболее характерные значения лабораторных тестов исследования ЦСЖ, присущие большинству пациентов с определенным диагнозом поражения ЦНС.

Инсульты — нарушения мозгового кровообращения. По механизму выделяют два вида: геморрагические (кровоизлияние в мозг и под его оболочки) и ишемические (тромботические и нетромботические инфаркты мозга).

Геморрагический инсульт: ликвор красный во всех пробирках, после центрифугирования прозрачный, ксантохромия появляется в 1–2-е сут, плеоцитоз с преобладанием нейтрофилов, появлением макрофагов, при микроскопии — большое количество свежих (неизмененных) эритроцитов (в 1-е сут процесса), белок повышен, глюкоза в норме.

Ишемический инсульт: у большинства пациентов ликвор бесцветный, прозрачный, ксантохромия отсутствует, нормоцитоз или небольшой лимфоцитоз, белок в норме, глюкоза в норме.

Менингиты — воспаление оболочек головного мозга различной этиологии. Имеют ряд общих изменений лабораторных показателей: плеоцитоз, гиперпротеинария, гипогликокоразия. В зависимости от этиологии характерны свои особенности.

Бактериальный (гнойный) менингит: ликвор белесый до зеленоватого, мутный, гнойный; плеоцитоз сильно выражен (обычно свыше $1000 \cdot 10^6/\text{л}$ клеток), с абсолютным преобладанием нейтрофилов (до 100 %); белок — гиперпротеинария — резко повышен (обычно более 1 г/л), характерна белково-клеточная диссоциация, глюкоза — гипогликокория — значительно снижена до 0,9–0,8 ммоль/л.

Серозный менингит (чаще вирусной этиологии): ликвор бесцветный, прозрачный; нормоцитоз или плеоцитоз незначительный ($(30-300) \cdot 10^6/\text{л}$ лейкоцитов) с преобладанием лимфоцитов (более 50 %); белок в норме или умеренно повышен (до 0,5–0,8 г/л); содержание глюкозы в норме, иногда незначительно снижено.

Туберкулезный менингит: ЦСЖ бесцветная или опалесцирующая; плеоцитоз умеренный лимфоцитарный (до $800 \cdot 10^6/\text{л}$ клеток); белок повышен; глюкоза резко снижена, при нахождении ЦСЖ в пробирке длительное время (более 1 ч) может появляться фибриновая пленка, при окраске которой по Циль–Нильсону обнаруживаются кислотоустойчивые микобактерии туберкулеза.

ЦСЖ — особенная и важнейшая биологическая жидкость организма человека, отличающаяся от всех других жидкостей, требующая строго обоснованных показаний для назначения ее взятия, особых условий получения и грамотного подхода к лабораторным исследованиям и интерпретации полученных результатов, от чего может зависеть прогноз течения заболевания, его исход, а часто и жизнь пациента.

САМОКОНТРОЛЬ УСВОЕНИЯ ТЕМЫ

1. Какое сочетание можно отнести к белково-клеточной диссоциации:

- а) большое количество белка и клеточных элементов;
- б) нормальное содержание белка и умеренный плеоцитоз;
- в) значительное содержание белка и небольшой плеоцитоз;
- г) небольшое содержание белка и клеточных элементов;
- д) небольшой плеоцитоз и нормальное содержание белка?

2. Нормальное значение цитоза в ЦСЖ составляет:

- а) до $20 \cdot 10^6/\text{л}$;
- б) до $6 \cdot 10^9/\text{л}$;
- в) до $100 \cdot 10^9/\text{л}$;
- г) до $30 \cdot 10^6/\text{л}$;
- д) до $6 \cdot 10^6/\text{л}$.

3. Увеличение количества лейкоцитов в ликворе называется:

- а) плеоцитоз;
- б) ксантохромия;

- в) гипергликокорхия;
- г) гипербилирубинемия;
- д) все ответы верны.

4. Нормальное значение глюкозы в ЦСЖ составляет:

- а) 2,8–3,9 ммоль/л;
- б) 3,5–6 ммоль/л;
- в) 1–2,5 ммоль/л;
- г) 3,9–5,7 ммоль/л;
- д) 4,6–6,9 ммоль/л.

5. Количество ЦСЖ, извлекаемой без вреда для пациента, составляет:

- а) 100 мл;
- б) 10 мл;
- в) 35 мл;
- г) 20 мл;
- д) 50 мл.

6. На неточность определения цитоза в геморрагическом ликворе влияют:

- а) примесь крови в ЦСЖ;
- б) использование различных камер;
- в) дистрофии клеточных элементов;
- г) все перечисленные факторы;
- д) не зависит от перечисленных факторов.

7. При какой патологии отмечается резко выраженная абсолютная белково-клеточная диссоциация:

- а) абсцесс мозга;
- б) закрытая травма головы;
- в) геморрагический инсульт;
- г) опухоли мозга;
- д) серозный менингит?

8. Наиболее выраженная гиперпротеинархия обнаруживается:

- а) при геморрагическом инсульте;
- б) инсульте в результате тромбоза сосудов головного мозга;
- в) опухоли мозга;
- г) всех перечисленных состояниях;
- д) не наблюдается ни при одной из перечисленных причин.

9. Причинами увеличения белка в ликворе являются:

- а) процессы экссудации при воспалении менингеальных оболочек;
- б) распад опухолевых клеток;
- в) сдавление ликворных пространств;
- г) все перечисленные факторы;
- д) ни одна из перечисленных причин.

10. Какое содержание белка в ЦСЖ можно считать нормальным:

- а) 0,03–0,1 г/л;
- б) 0,2–0,3 г/л;
- в) 0,3–0,4 г/л;
- г) 0,4–0,5 г/л;
- д) 0,5–0,6 г/л?

11. Скорость образования ликвора в норме составляет:

- а) 0,35 мл/мин;
- б) 3,5 мл/мин;
- в) 35 мл/мин;
- г) 1,35 мл/мин;
- д) 0,35 л/мин.

12. Относительная плотность ликвора снижена:

- а) при воспалении мозговых оболочек;
- б) травмах головного мозга;
- в) гидроцефалии;
- г) опухоли головного мозга;
- д) все перечисленное верно.

13. При какой патологии встречается геморрагическая ксантохромия:

- а) инсульт;
- б) гнойный менингит;
- в) серозный менингит;
- г) цистицеркоз;
- д) абсцесс мозга?

14. При каких заболеваниях снижается уровень глюкозы в ЦСЖ:

- а) бактериальный менингит;
- б) травмы мозга;
- в) менингит вирусной этиологии;
- г) ишемический инсульт;
- д) геморрагический инсульт?

15. Относительная плотность ликвора повышена:

- а) при воспалении мозговых оболочек;
- б) травмах головного мозга;
- в) геморрагическом инсульте;
- г) опухоли головного мозга;
- д) все перечисленное верно.

Ответы: 1 — в; 2 — д; 3 — а; 4 — а; 5 — б; 6 — г; 7 — г; 8 — г; 9 — г; 10 — б; 11 — а; 12 — в; 13 — а; 14 — а; 15 — д.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Диагностическое значение лабораторных показателей* : практ. пособие / Е. Т. Зубовская [и др.] ; М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр «Мать и дитя», Респ. мед. акад. последиплом. образования. Минск : БГУФК, 2013. 422 с.
2. *Марданлы, С. Г.* Спинномозговая жидкость, лабораторные методы исследования и их клинико-диагностическое значение : учеб. пособие для специалистов по клинической лабораторной диагностике / С. Г. Марданлы, Ю. В. Первушин, В. Н. Иванова. Электрогорск : ЭКОлаб, 2011. 72 с.
3. *Методы клинических лабораторных исследований* / В. С. Камышников [и др.] ; под ред. В. С. Камышникова. 7-е изд. Москва : МЕДпресс-информ, 2011, 752 с.
4. *Миронова, И. И.* Клиническое значение исследования спинномозговой жидкости / И. И. Миронова. Москва : ЦОЛИУВ, 1987. 28 с.
5. *Миронова, И. И.* Общеклинические исследования (моча, кал, ликвор, эякулят) / И. И. Миронова, Л. А. Романова, В. В. Долгов. Москва-Тверь : Триада, 2005. 206 с.
6. *Чиркин, А. А.* Клинический анализ лабораторных данных / А. А. Чиркин. Москва : Медицинская литература, 2010. 380 с. : ил.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Мотивационная характеристика темы	3
Определение	4
Правила взятия и исследования	5
Методика определения цитоза	10
Интерпретация результатов определения цитоза	10
Биохимические исследования	12
Характеристика лабораторных показателей исследования цереброспинальной жидкости при наиболее часто встречающейся патологии центральной нервной системы	17
Самоконтроль усвоения темы	18
Список использованной литературы	21

Учебное издание

Рогачёва Тамара Альбертовна
Анисько Людмила Александровна
Соловей Никита Владимирович
Карпов Игорь Александрович

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск И. А. Карпов
Корректор А. В. Лесив
Компьютерная вёрстка С. Г. Михейчик

Подписано в печать 28.05.18. Формат 60´ 84/16. Бумага писчая «Снегурочка».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,1. Тираж 50 экз. Заказ 343.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.

