

הוראה מס': 01-00-00		המרכז הרפואי " אסף הרופא "	
מהדורה מס': 1		המכון למיקרוביולוגיה	
תאריך תוקף: 20.1.2002		הוראות עבודה-	
שם קובץ: 2001-149 98-155		אשר ע"י:	חתימה:
עמוד 1 מתוך 5 עמודים		נכתב ע"י:	חתימה:

## ביצוע בדיקות נוזל המוח ושידרה – CSF לגילוי חיידקים ופטריית

תודתנו נתונה למעבדת מיקרוביולוגיה, בית החולים אסף הרופא, אשר תרמה את הנוהל שלה כבסיס לעבודת הצוות ולצוות אשר הכין, ערך והביא את הנוהל ולפרסום:

- ברל רודנסקי – מנהל מעבדה, ביה"ח שערי צדק
- דניז אליאס – מעבדת מיקרוביולוגיה, ביה"ח שערי צדק
- אילנה אליהו – מעבדת מיקרוביולוגיה, ביה"ח שערי צדק
- יורם כנס – מנהל מעבדה, ביה"ח העמק
- רבקה יניפיליז – עובדת מעבדה, ביה"ח העמק
- אליסיה אמבון – מנהלת מעבדה, ביה"ח ברזילי
- מרים ניר – ראש תחום מיקרו, מרכז רפואי בני ציון
- אלה כהן- מרכזת תחום מיקרו, מרכז רפואי בני ציון
- נחמה פלד – סגן מנהל מ. בקטריולוגית, מרכז רפואי סורוקה
- שרה שטרייכמן – יועצת
- אסתר רוזנר – מעבדה המטולוגית, ביה"ח שיבא

מסמך זה הינו דוגמא בלבד, וכל שימוש בו הוא באחריות המשתמש בלבד. המסמך אינו מחייב מעבדות לעבוד על פיו, מעבדה המעוניינת להשתמש בדוגמא מחויבת להתאים את תוכן הנוהל לתהליכים המתקיימים בה.

<b>מרכז רפואי "אסף הרופא" המכון למיקרוביולוגיה</b>		
<b>01-00-00</b>	<b>גירסה מס' 1</b>	<b>עמוד 2 מתוך 5 עמודים</b>
<b>כותרת: בדיקות נוזל המוח ושידור CSF לגילוי חיידקים ופטריית</b>		

1. מטרה: הסדרת ביצוע בדיקת נוזלי CSF לגלוי חיידקים ופטריית , בתהליך אחיד ומבוקר.  
גבולות: מקבלת הדגימה ע"י המזכירות או עובד המעבדה, ועד למסירת התוצאות לרופא המזמין או המחלקה.
2. אחריות: אחריות כוללת: מנהלת מעבדה ו/או סגנית מנהלת מעבדה אחריות ביצועית: עובד מעבדה שהוכשר לביצוע הבדיקה.
3. אזהרה: יש לנקוט באמצעי זהירות מקובלים במעבדה מיקרוביולוגית.
4. מבוא: בדיקות CSF הן בדיקות חירום המחייבות ביצוע ודיווח מידיים. נגיפים, חיידקים, חיידקי שחפת, פטריית ופרזיטים יכולים לגרום לדלקת עוצבה. הגורמים משתנים עם הגיל, מחלות רקע ועוד (ראה נספח 1) טבלה 1. דגימת CSF נבדקת באופן שגרתי לגילוי חיידקים אוירניים. במקרים מיוחדים, לפי דרישה ו/או לפי מידע קליני כמו: מורסה מוחית, ממאירות ראש וצוואר, חבלות וניתוחי ראש, יש לבצע גם תרבית בלתי אוירנית. דגימת CSF נבדקת לחיידקי שחפת ו/או פטריית ואחרים לפי דרישה מיוחדת. בתהליך הדלקתי חלים שינויים בדגימת ה-CSF בתלות עם הגורם המחולל (ראה נספח 1) טבלה 2 ולפיכך נתונים אלו חשובים לאבחנה. רצוי לקבל את הדגימה לפני מתן אנטיביוטיקה העלולה לשנות את התבטאות המחלה בצביעה ובביוכימיה מ-pyogenic (חיידקי) ל-aseptic . דלקת העוצבה נגרמת בשכיחות גבוהה ע"י חיידקים מסוימים (בעיקר S. pneumoniae או N. meningitidis) – ראה נספח 1. טבלה 1
5. אזכורים:
- 5.1 CUMITECH 14A
- 5.2 Clinical Microbiology Procedures Handbook. Henry D. Isenberg
- 5.3 תקנות בטיחות בעבודה התשס"א- מינהל הרפואה
- 5.4 נוהל הטיפול בדגימות וסימונן- המחלקה למעבדות
- 5.5 הוראת עבודה –צביעת גרם 03-00-00
- 5.6 הוראת עבודה בקרת איכות מצעים וריאגנטים 02-00-00
- 5.7 הוראת עבודה מבחני רגישויות 06-00-00
- 5.8 הוראת עבודה Cryptococcal antigen - 04-00-00
- 5.9 הוראת עבודה Mycobacteria 07-00-00
- 5.10 מחלות המחייבות הודעה: אבחון מעבדתי המחלקה למעבדות
- 5.11 הנחיות לשינוע בטיחותי של חומרים ביולוגיים מזוהמים. המחלקה למעבדות
6. הגדרות: 6.1 Cerebrospinal Fluid CSF – נוזל המוח והשידור.
7. חומרים ומגיבים: 7.1 צביעות: Gram stain & Methylene blue (1)
- India Ink - בדרישה לפטריית (Pelikan)
- Kinyoun stain - בדרישה לשחפת- (1) הצבעים והמצעים:

מרכז רפואי "אסף הרופא" המכון למיקרוביולוגיה		
הוראה מס' - 01-00-00	גירסה מס' 1	עמוד 3 מתוך 5 עמודים
כותרת: בדיקות נוזל המוח ושידור CSF לגילוי חיידקים ופטריית		

- 7.2 מצעים: Blood agar PD 049 - (2) מייצור עצמי (1)  
 חברת Chocolate agar PD 013 - (2)  
 (1) – Brain Heart Infusion (BHI) broth + 5% horse serum (2) HY LABS  
 Sabouraud Dextrose agar PD 044 – בדרישה לפטריית (2) (3) NOVAMED  
 CDC Anaerobe Blood agar PD 162 - בדרישה לאנאירובים (2)  
 Thioglycolate broth - בדרישה לאנאירובים (1)  
 REDOX IMP 913300 בדרישה לשחפת (2)  
 Lowenstein BS 370 - בדרישה לשחפת (3)
- פרוט הצבעים והמצעים – ראה אזכורים 5.6 ותיק בקרת איכות 6.2  
 7.3 המגיבים של צביעת גרם נבדקים לתקינות - כל אצווה חדשה ו/או כל שבוע  
 - ראה אזכורים 5.5 ותיק בקרת איכות 6.2.  
 7.4 המצעים והמגיבים נבדקים לסטריליות, טריות ולאיכותם – ראה אזכורים  
 5.6 ותיק בקרת איכות 6.2.
- 8.1 צנטריפוגה 13 – Heraeus bifuge – ראה תיק מכשירים 6.3  
 8.2 מיקרוסקופ- Olympus BX 40 – ראה תיק מכשירים 6.3  
 8.3 מבחנות  
 8.4 אינקובטור  
 8.4 מקרר  
 8.5 זכוכיות נושאות סטרליות
8. מכשור ציוד
- 9.1 דגימת CSF צריכה להגיע במבחנה סטרילית פקוקה היטב. דגימה:  
 9.2 הנפח הדרוש לגילוי חיידקים הוא לפחות 1 מ"ל. לפטריית או חיידקי שחפת  
 לפחות 2 מ"ל.  
 \* בגלל נחיצות הבדיקה לאבחנה והתחשבות באילוצי הרופאים (בילודים לחץ CSF  
 אינו עולה בשלבים מוקדמים של המחלה) אנו עובדים גם בנפח קטן  
 (ראה להלן 10.4).  
 9.3 קבל ושמור דגימת CSF לבדיקה בקטריוולוגית בטמפ' החדר עד 24 שעות  
 מהלקיחה ולא בקירור.  
 9.4 ודא קבלת מידע מירבי מהרופא: גיל החולה, פרמטרים של ה-CSF (תאים,  
 חלבון, גלוקוז), טיפול אנטיביוטי קודם וכו'.  
 9.5 ודא קבלת תרבויות דם מהחולה. במקרים רבים דלקת עוצבה חיידקית מלווה  
 ב- sepsis  
 9.6 דגימת בת: כשיש דרישה לבדיקה לגילוי חיידקים ובנוסף לגילוי פטריית ו/או  
 שחפת יש לקבל מבחנות נפרדות. כאשר מתקבלת מבחנה אחת מחלקים את  
 הדגימה לתחנות השונות, בכפוף לנפח.

<b>מרכז רפואי "אסף הרופא" המכון למיקרוביולוגיה</b>		
<b>הוראה מס' - 01-00-00</b>	<b>גירסה מס' 1</b>	<b>עמוד 4 מתוך 5 עמודים</b>
<b>כותרת: בדיקות נוזל המוח ושידרה CSF לגילוי חיידקים ופטריית</b>		

## 10. שיטה

כללי: פעל על פי תרשים זרימה, נספח מס' 2. פרוט ראה להלן:

- 10.1 ציין בטופס הבדיקה נפח ומראה הדגימה- צבע, עכירות, דם וכו'.
- 10.2 ערבב את הדגימה ב-vortex וסרכז ב 10000 rpm למשך 10 דקות.
  - בדוק לנוכחות משקע וצבעו והעבר את ה-SN (נוזל עליון) בעזרת פיפטת פסטר סטרילית, להשאיר 0.2-0.4 מ"ל, במבחנה המקורית. ה-SN נשמר ב-  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  לבדיקות מיוחדות.
- 10.3 בזמן הסרכוז הכן זכוכיות ומצעים לפי הפרוט הבא:
  - א. 2 זכוכיות נושא סטריליות שמקום הדגימה מסומן ע"י חריטה.
  - ב. מצעים: צלחות אגר דם, אגר שוקולד ומרק BHI+ 5% Horse Serum הרחף את המשקע היטב והעבר בעזרת פיפטת פסטר טיפה או שתיים למבחנת מרק, צלחות שוקולד ודם ולכל אחת מזכוכיות הנושא. צלחת שוקולד מודגרת ב-  $5\% \pm 0.5 \text{ CO}_2$  בטמפ'  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  והמצעים דם ומרק בתנאים אוירניים ב-  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- 10.4 טיפול בדגימה שנפחה קטן מ- 1 מ"ל:
  - 10.4.1 לדגימה בנפח מ  $>0.5$  ערבב ב-vortex והמשך בבדיקה ללא סרכוז.
  - 10.4.2 בדגימה בנפח 0.3 - 0.4 מ"ל בצע כדלקמן:
    - מראה צלול: דווח לרופא על מראה ונפח ובקש אישור לבצוע אחת מהפעולות, בד"כ רק זריעה. ציין בטופס הבדיקה ובמחשב כי לא בוצעה צביעה או זריעה בגלל הנפח, זמן ושם הרופא מקבל הדיווח. מראה עכור: צביעה וזריעה
- 10.5 צביעה ומיקרוסקופיה
  - 10.5.1 יבש את הדגימה על גבי זכוכיות הנושא וקבע על גבי להבה.
  - 10.5.2 צבע תכשיר אחד בצביעת גרם והאחר ב-methylene blue.
  - 10.5.3 בהסתכלות מיקרוסקופית בדוק לנוכחות חיידקים ותאים.
- 10.6 דיווח ראשוני:

על כל ממצא בצביעה (גם שלילי) דווח מידית טלפונית לרופא המטפל וציין בטופס הבדיקה את הממצא, זמן הדיווח ושם הרופא מקבל הדיווח. הקלד נתונים במחשב.
- 10.7 בדיקת תרביות:
  - 10.7.1 המצעים נבדקים לסימנים מקרוסקופיים של צמיחה. באם אין צמיחה המרק נזרע לאחר 24 שעות למצעים שוקולד ודם. בהעדר צמיחה - התרביות מודגרות 24 שעות נוספות. כשיש צמיחה פעל כדלקמן:
    - 10.7.2 בצע צביעה והגדרה ראשונית ודווח מידית לרופא.
    - 10.7.3 בצע את המבחנים הדרושים להשלמת ההגדרה של החיידקים.
    - 10.7.4 בצע מבחני רגישות: בשיטת disk diffusion כנהוג במעבדה בהתאם לזן

<b>מרכז רפואי "אסף הרופא" המכון למיקרוביולוגיה</b>		
<b>הוראה מס' - 01-00-00</b>	<b>גירסה מס' 1</b>	<b>עמוד 5 מתוך 5 עמודים</b>
<b>כותרת: בדיקות נוזל המוח ושידור CSF לגילוי חיידקים ופטריית</b>		

המבודד והוסף את המבחנים הבאים :

ל- Etest - S. pneumoniae ל- Ceftriaxone ו- Penicillin

ל- Etest - N. meningitidis ל- Ceftriaxone

ל- H. influenzae + Enterococcus -  $\beta$  lactamase

- ראה אזכורים 5.7

10.7.5 דווח: לרופא בהקדם הגדרה סופית ואנטיביוגרם.

10.7.6 שלח גזעי S. pneumoniae, N. meningitidis ו- H. influenzae

למרכזים ארציים בשיבא ולמעבדות המרכזיות בירושלים בהתאמה

10.7.7 כשצומח חיידק שנראה כזיהום כמו diphtheroids או

Staphylococcus Coagulase Negative - לאחר ברור מצב החולה עם

הרופא, ציין שם החיידק והערה - זיהום, ולא ממשיכים בהגדרה ורגישות

הקפד על דיווח מהיר של התוצאות, כיוון שהבדיקות קשורות בזיהומים קשים עם

סיכון לחיים דווח טלפוני, מידית ממצאים של צביעות, צמיחה בתרבית, הגדרה

ורגישות ראשוניים, ודיווח סופי הכולל הגדרה ומבחני רגישות. בכל דיווח ציין זמן

הדיווח, שם המדווח ושם מקבל הדיווח. הקלד את הנתונים במחשב. יש לדווח מיידי

ללשכת הבריאות במקרי N. meningitidis.

12.1 חיידקים אנארובים:

זרע את הדגימה למצעים CDC anaerobe blood ומדגירים 72-48 שעות

בתנאים אנארובים ולמרק thioglycolate .

12.2 חיידקי שחפת:

ראה הוראות עבודה mycobacteria, 07-00-00

12.3 פטריית: Cryptococcus neoformans

11. דיווח

12. בדיקות

לאורגניזמים אחרים

לפי דרישה מיוחדת

<b>מרכז רפואי "אסף הרופא" המכון למיקרוביולוגיה</b>		
01-00-00	גירסה מס' 1	עמוד 6 מתוך 5 עמודים
כותרת: בדיקות נוזל המוח ושידור CSF לגילוי חיידקים ופטריית		

**נספח 1 : נתוני עזר לביצוע ואינטרפטציה של בדיקות CSF**

**Table 1: Common organisms causing acute meningitis**

Age or condition	Organism(s)
Neonate.....	Escherichia coli , Streptococcus agalactiae (gr B streptococci ) Listeria monocytogenes, Herpes simplex virus 2
< 2 mo .....	S.agalactiae, L.monocytogenes, E.coli
< 10 yr .....	Viruses , Haemophilus influenza, Streptococcus pneumonia, Neisseria meningitidis
Young adult.....	Viruses, N.meningitidis
Adult.....	S.pneumoniae, N.meningitidis
Elderly.....	S.pneumoniae, gram-negative bacilli, L.monocytogenes
Aids patient .....	Cryptococcus neoformans

ראה אזכורים 5.2

נוזל CSF תקין הוא צלול וסטריילי ובו עד  $6 \text{ leukocytes/mm}^3$  מסוג mononuclear cells, כמות חלבון קטנה מ-  $50\text{mg}/100\text{ml}$  רמת גלוקוז  $50\text{mg}/100\text{ml}$  או  $50\text{mg}/100\text{ml}$  - 66% מרמת גלוקוז בדם.

**Table 2. CSF parameters in meningitis**

Laboratory parameter	Bacterial meningitis (untreated)	Bacterial meningitis Partially treated	Viral meningitis	Fungal meningitis	Tuberculous meningitis
White cell Count	↑ (> 1000)	↑ (> 1000)	↑ (< 1000)	↑ (< 500 )	↑ (< 1000)
PMN	↑ (> 60%)	↑ (> 60%)			↑
Lymphocyte			↑	↑	↑
Glucose	↓ (< 50)	↓ (< 50 ) Variable	Normal	Normal Slight ↓	↓ (< 50 )
Protein	↑ (> 80 )	Variable	Normal Slight ↑	↑ (> 60 )	↑↑ (> 100 )

ראה אזכורים 5.1

**נספח 2: תרשים זרימה - מהלך הבדיקה**

