

BACTERIAL/VIRAL MENINGITIS VS. CSF LACTATE

สนอง ไชยารัตน์

เมื่อ 73 ปีมาแล้ว Levinson⁽¹⁾ ได้ตั้งเกณฑ์ว่าระดับ pH ของน้ำไขสันหลังในผู้ป่วยด้วยโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ที่เกิดจากแบคทีเรีย (bacterial meningitis) จะลดต่ำกว่าปกติ จึงได้ตั้งข้อสมมติฐานไว้ว่า อาจเกิดเนื่องมาจากการเพิ่มปริมาณของแลคเตท ในเวลา 8 ปีต่อมา Killian⁽²⁾ ได้ตรวจพบและยืนยันในเรื่องนี้ รวมทั้งได้มีผู้รายงานเกี่ยวกับเรื่องนี้และให้ความเห็นว่า การตรวจวัดระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลัง (CSF lactate) จะช่วยในการวินิจฉัยโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบได้เป็นอย่างดี⁽³⁾

Posner และ Plum⁽⁴⁾ ได้เสนอว่า แลคเตทในน้ำไขสันหลังจะสลายตัว (ionized) ได้สมบูรณ์ที่ระดับ physiologic pH ดังนั้น จึงไม่สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มระหว่างสมอง และเส้นเลือดได้ ด้วยเหตุนี้ระดับของแลคเตทในเลือดและในน้ำไขสันหลัง จึงไม่มีความสัมพันธ์กัน⁽⁵⁾ แลคเตทในน้ำไขสันหลัง เกิดจาก anaerobic metabolism ใน CNS⁽⁶⁾ สำหรับเม็ดเลือดขาวในน้ำไขสันหลังที่สงสัยกันว่า จะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ระดับ แลคเตทสูงขึ้นนั้น มีผู้สังเกตพบว่า เมื่อนำเม็ดเลือดขาวมา incubate ในน้ำไขสันหลัง จะทำให้ระดับแลคเตทเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนั้นในผู้ป่วย tuberculous meningitis จะมีระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลังเพิ่มขึ้นแต่มีจำนวนเม็ดเลือดขาวน้อยมาก แต่ถ้าหากมีปริมาณเม็ดเลือดแดงมากในน้ำไขสันหลัง เช่นในผู้ป่วย subarachnoid hemorrhage พบว่าปริมาณแลคเตทจะเพิ่มขึ้นสูงมาก

ในกรณีที่มีการทำลายเนื้อเยื่อของ CNS เนื่องจากระดับของออกซิเจนลดลง จะทำให้การสร้างแลคเตทในน้ำไขสันหลังเพิ่มสูงขึ้น ด้วยเหตุนี้ ระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลัง จึงมีได้จำกัด

เฉพาะในผู้ป่วย meningitis เท่านั้น แต่จะพบในผู้ป่วย ที่มีภาวะการไหลเวียนของออกซิเจนในเนื้อเยื่อลดลงได้ด้วย⁽⁷⁾

ประโยชน์ของ CSF LACTATE

แม้ว่าการตรวจระดับแลคเตท จะมีได้เป็นงานตรวจประจำวัน ของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก แต่ระดับแลคเตทที่ตรวจได้ ก็เป็นสิ่งที่มีค่าที่เป็นประโยชน์ สำหรับการวินิจฉัย และติดตามผู้ป่วย meningitis ได้เป็นอย่างดี ในผู้ป่วย bacterial, tuberculous และ fungal meningitis จะพบระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลังสูงเกินกว่า 6.0 มิลลิโมล/ลิตร ขึ้นไป ซึ่งเป็นผลที่นำเชื่อถือว่าระดับน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงในน้ำไขสันหลังของผู้ป่วยเหล่านี้⁽⁸⁾ และระดับแลคเตทจะยังคงสูงอยู่ในผู้ป่วยที่เริ่มให้การรักษา แต่จะลดระดับลงอย่างรวดเร็ว เมื่อการรักษาเป็นไปอย่างถูกต้อง ดังนั้นระดับแลคเตทจึงเป็นสิ่งช่วยประเมินผลการรักษาของยาปฏิชีวนะด้วย

การตรวจวัดระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลังสามารถช่วยวินิจฉัยแยกทั้งชนิด และระยะต่างๆ ของโรคได้ ยกตัวอย่างเช่นผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง แต่ตรวจไม่พบเชื้อในน้ำไขสันหลัง ระดับแลคเตทจะแสดงให้เห็นว่า เป็นระยะเริ่มแรกของ bacterial (purulent) meningitis หรือผู้ป่วย viral (aseptic) meningitis ชนิดรุนแรงได้ เท่าที่พบได้บ่อยก็คือในผู้ป่วยที่มีอาการไม่มาก ตรวจน้ำไขสันหลังไม่พบเชื้อ พบเม็ดเลือดขาวชนิด PMN จำนวนน้อย ระดับแลค

* รองศาสตราจารย์

ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เด็กจะสามารถช่วยวินิจฉัยแยก mild bacterial meningitis ออกจาก early viral meningitis ได้

การวินิจฉัย MENINGITIS

การวินิจฉัยแยกโดยดูระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลังเป็นเกณฑ์ดังนี้

ก. ถ้าระดับแลคเตทสูงกว่า 6 มิลลิโมล/ลิตร ผู้ป่วยน่าจะเป็น bacterial meningitis

ข. ถ้าระดับแลคเตทต่ำกว่า 3 มิลลิโมล/ลิตร วินิจฉัยได้ว่าเป็นผู้ป่วย viral meningitis และไม่ต้องรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ

gitis และไม่ต้องรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ

ค. ถ้าระดับแลคเตทอยู่ระหว่าง 3-6 มิลลิโมล/ลิตร ตรวจไม่พบเชื้อในน้ำไขสันหลังรวมทั้งผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะมาก่อน ให้วินิจฉัยได้ว่าเป็นผู้ป่วย partially treated bacterial meningitis

อย่างไรก็ตาม ระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลังมีได้จากการวินิจฉัยเฉพาะผู้ป่วย meningitis เท่านั้น แต่สามารถช่วยวินิจฉัยผู้ป่วยโรคอื่นๆ ด้วย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลังของผู้ป่วยโรคต่างๆ

	Mean value (mmol/L)	Control value (mmol/L)
Infectious disease		
Meningitis (viral)	2.2 - 3.0	1.6 - 3.3
Meningitis (bacterial)	6.0 - 9.7	1.6 - 3.3
Partially treated meningitis (bacterial)	3.0 - 6.0	1.6 - 3.3
Tuberculous meningitis	7.0	1.3
Torular meningitis (Cryptococcus neoformans)	1.5	1.4
Cerebral malaria (Plasmodium falciparum)		
Mild	3.4	<2.2
Severe	9.0	<2.2
Noninfectious disease		
Hepatic encephalopathy		
Stages 1 and 2	1.6	1.4
Stages 3 and 4	2.2	1.4
Systemic lupus erythematosus		
Inactive in CNS	1.6	1.4
Active in CNS	2.6	1.4

	Mean value (mmol/L)	Control value (mmol/L)
Polyarteritis nodosa with CNS involvement	2.5	1.4
Diabetes mellitus		
Controlled	1.8	1.4
Hypoglycemic coma	3.2	1.4
Ketoacidosis	2.6	1.1
Non-Hodgkin's lymphoma with meningeal dissemination	3.1 - 16.0	1.8
Perinatal hypoxia		
Mild	2.5	1.9
Severe	4.5	1.9
Other conditions		
After open heart surgery		
Without neurologic complications	2.3	1.5
With neurologic complications	4.1	1.5
After severe head injury	4.0 - 5.5	<2.2

ข้อสำคัญ 2 ประการที่มักจะเกิดขึ้นเสมอเป็น
ประจำในการวินิจฉัยผู้ป่วย meningitis ก็คือ

1. ชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุจะต้องตรวจ
ในผู้ป่วยที่แสดงอาการชัดเจน ถ้าตรวจไม่พบเชื้อ
แต่พบเม็ดเลือดขาวชนิด PMN เป็นส่วนใหญ่ การ
วินิจฉัยผู้ป่วยชนิดนี้ จะอยู่ระหว่าง early หรือ
partially treated bacterial menin-
gitis กับ viral meningitis

2. ผู้ป่วยทั้ง infectious และ non-
infectious ของ CNS จะต้องวินิจฉัยแยกให้
ได้ ลักษณะของผู้ป่วย early viral menin-
gitis อาจจะตรวจพบเม็ดเลือดขาว PMN เป็น
ส่วนใหญ่และระดับน้ำตาล กลูโคสต่ำลง ถ้า

ตรวจระดับแลคเตทพบว่า ต่ำกว่า 3 มิลลิโมล/
ลิตร ก็จะช่วยวินิจฉัยได้ว่าเป็น viral me-
ningitis

ด้วยเหตุผลการตรวจที่จะช่วยวินิจฉัยผู้ป่วย
partially treated bacterial menin-
gitis ได้ดีที่สุดก็คือ การตรวจวัดระดับ
แลคเตทในน้ำไขสันหลัง เพราะผู้ป่วยเหล่านี้มัก
จะให้ผลลบทั้ง Gram stain และการเพาะเชื้อ
การวินิจฉัยซ้ำในโรคนี้

การตรวจวัดระดับแลคเตท ในน้ำไขสันหลัง
ยังสามารถช่วยวินิจฉัยแยกผู้ป่วยโรคนี้ได้ด้วย
การตรวจระดับน้ำตาลกลูโคสในน้ำไขสันหลัง แต่
เพียงอย่างเดียวเพื่อวินิจฉัยแยกผู้ป่วย bacte-

rial และ viral meningitis อาจจะทำให้เกิดความผิดพลาดได้ เพราะกลูโคสมักจะลดต่ำในผู้ป่วยหลายโรค เช่น mumps, enterovirus infection, herpetic meningitis หรือ lymphocytic choriomeningitis virus infection เป็นต้น ซึ่งผู้ป่วยในภาวะเหล่านี้มักจะมีระดับแลคเตทในน้ำไขสันหลังต่ำกว่า 3 มิลลิโมล/ลิตร หรือในผู้ป่วย early tuberculous meningitis ที่มีน้ำตาลกลูโคสในน้ำไขสันหลังอยู่ในระดับปกติ แต่ระดับแลคเตทสูงกว่า 3 มิลลิโมล/ลิตร ก็สามารถวินิจฉัยได้ว่า ไม่ใช่ผู้ป่วยด้วยไวรัสแน่นอน

นอกจากนี้ การตรวจวัดระดับแลคเตทในน้ำ

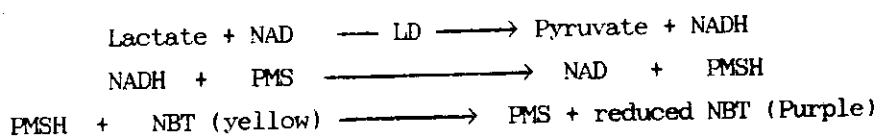
ไขสันหลัง ยังมีประโยชน์ในการติดตามผลการรักษา ผู้ป่วยด้วยยาปฏิชีวนะได้เป็นอย่างดี ผู้ป่วย bacterial meningitis ที่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้อง จะมีระดับน้ำตาลกลูโคสในน้ำไขสันหลังเพิ่มขึ้น ขณะที่ระดับแลคเตทจะลดต่ำลง ปรากฏให้เห็นได้ชัดเจน

วิธีการตรวจหาแลคเตท (๙) ดัดแปลงมาจากวิธี

ของ MacQueen J และ Plaut D (10)

หลักการ

อาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอนไซม์ LD ซึ่งมีผลทำให้เกิดการรีดิวส์ของ NBT จากสีเหลืองเป็นสีม่วง ตรวจวัดได้ด้วยความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยมีสมการที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้



สารเคมีและสารละลาย

1. AMPD buffer, pH 8.8, 0.05 mole/L ซึ่ง 2-Amino-2-methyl-1,3 propanediol, crystalline 0.525 กรัม ละลายน้ำประมาณ 400 มล. ปรับ pH ด้วย 5M HCl ให้เป็น 8.8 แล้วเจือจางให้เป็น 500 มล. เก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น

2. Color reagent, 1.8 mM NBT + 0.5 mM PMS : ซึ่ง NBT 75 มก. และ PMS 7.5 มก. ละลายน้ำ 10 มล.

3. Brij 3% solubilizer

4. Diluent, 0.1 M HCl: เจือจางกรดเกลือเข้มข้น 8.35 มล. ให้เป็น 1 ลิตร

5. NAD solution, 27 มิลลิโมล/ลิตร ละลาย β -NAD (Grade III, Sigma) 20 มก. ในน้ำ 1 มล. สารละลายนี้จะคงตัวได้ประมาณ 48 ชั่วโมง ที่ 4°C.

6. LD solution : เจือจาง stock solution (Sigma, Grade III, beef

heart LD) ด้วย saline 1 : 10 เก็บไว้ที่ 4°C และใช้ภายใน 48 ชั่วโมง

7. Lactate standard solution: ซึ่ง Lithium L (+) lactate (Sigma) 106.6667 มก. ละลายน้ำเป็น 100 มล. เติมกรดซัลฟริกเข้มข้นลงไป 25 ไมโครลิตร จะมีความเข้มข้นของแลคเตทเท่ากับ 100 มก./ดล. และสารละลายนี้จะคงตัวตลอดไปที่ 4°C. และนำสารละลายนี้มาเจือจางให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันคือ 20, 40, 60 และ 80 มก./ดล. ด้วยน้ำกลั่น

วิธีการทำ

1. ผสม reagent mixture ก่อนใช้ ในอัตราส่วน ดังนี้

AMPD buffer	10.0 มล.
Color reagent	2.0 มล.
Brij 3%	1.0 มล.

2. คูณ reagent mixture ให้หลอดขนาด 13 X 100 มม. หลอดละ 1.0 มล. ให้

เป็น หลอดสำหรับ blank, standard และ unknown

3. เติม NAD solution ลงไปหลอดละ 100 ไมโครลิตร (2.7 มิลลิโมล/หลอด)

4. เติมสารละลาย แลคเตทมาตรฐาน หรือน้ำไขสันหลัง ลงไปหลอดละ 20 ไมโครลิตร ในหลอด standard และ unknown

5. นำไปบ่มที่ 37 °C. นานประมาณ 3-5 นาที

6. เติม LD solution ลงไปที่หลอดละ 50 ไมโครลิตร (27.5 unit/หลอด) จับ เวลาห่างกันหลอดละ 30 วินาที ในหลอด standard และ unknown

7. เมื่อครบเวลา 10 นาที พอดีของแต่หลอด เติม 0.1 M HCl ลงไปหลอดละ 2.0 มล. ผสมให้เข้ากัน

8. อ่าน absorbance ที่ 540 นาโนเมตร โดยให้หลอด blank อ่านที่ศูนย์

9. การคำนวณ โดยวิธีสูตร

$$\text{แลคเตท มก./ดล.} = \frac{A \text{ unknown} \times Cs}{A \text{ standard}}$$

เมื่อ

A = ค่าการดูดกลืนแสง

Cs = ความเข้มข้นของน้ำยาแลคเตทมาตรฐาน

สรุป

วิธีการตรวจหาแลคเตทนี้ เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการตรวจน้ำไขสันหลังสำหรับงานประจำวันของโรงพยาบาลทั่วไป ซึ่งจะทำให้สามารถแยกภาวะ bacterial meningitis ออกจาก viral meningitis ได้ อีกทั้งวิธีนี้สามารถที่จะนำมาใช้ในการตรวจหาแลคเตทในพลาสมาได้ โดยเก็บเลือดใส่เฮปาริน (15 ยูนิต/มล.) กับ โซเดียมฟลูออไรด์ (2 มก./มล.) ซึ่งจะทำให้แลคเตทคงสภาพอยู่ในพลาสมาได้ นานอย่างน้อย 36 ชั่วโมงก่อนการแยกพลาสมา และสามารถเก็บพลาสมาไว้ได้นานอย่างน้อย 2 วันที่ 4 °C วิธีนี้ให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 3.9% ค่า

เฉลี่ยของแลคเตทในพลาสมา ของคนสุขภาพสมบูรณ์ และเจาะเลือดโดยการรัดแขนตามปกติเท่ากับ 1.73 ± 0.76 มิลลิโมล/ลิตร

เอกสารอ้างอิง

1. Levinson A. The hydrogen ion concentration of the cerebrospinal fluid : studies in meningitis. J Infect Dis 1917; 21: 556-570.
2. Killian JA. Lactic acid of normal and pathological spinal fluids. Proc Soc Exp Biol Med 1925; 23: 255-257.
3. Nelson N, Eeg-Olofsson O, Larsson L, et al. The diagnostic and predictive value of cerebrospinal fluid lactate in children with meningitis : its relation to current diagnostic methods. Acta Faediatr Scand 1986; 75: 52-57.
4. Posner JB, Plum F. Independence of blood and cerebrospinal fluid lactate. Arch Neurol 1967; 16: 492-6.
5. Vargas-Origel A, Abrego-Morales R, Martinez MC, et al. Independent changes in cerebrospinal fluid and in blood pH and lactate concentrations in children with purulent meningitis. Neuropediatrics 1983; 14: 160-163.
6. DeSalles AA, Kontos HA, Becker DP, et al. Prognostic significance of ventricular CSF lactic acidosis in severe head injury.

- J Neurosurg 1986; 65: 615-24.
7. Pryce JD, Gant PW and Saul KJ : Normal concentrations of lactate, glucose and protein in cerebrospinal fluid, and the diagnostic implications of abnormal concentrations. Clin Chem 1970; 16: 562-565.
8. Controni G, et al. Cerebrospinal fluid lactic acid levels in meningitis. J Pediatr 1977; 91: 379-384.
9. เน้นทยา ชนะรัตน์ และ อุดมศักดิ์ เหม่า ซึ่งเจริญ. วิธีการตรวจหาแลคเตทที่เหมาะสมสำหรับงานประจำวัน. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2526; 16:61-81.
10. MacQueen J and Plaut D. Colorimetric microdetermination of Plasma lactate. Am J Med Tech 1979; 45: 34-37.

สนอง ไชยารัตน์, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

MT(ASCP)

ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก

คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่