

S



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

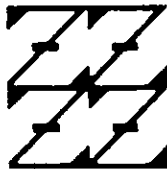
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

COMPARACION DEL SISTEMA BACT/ALERT PARA HEMOCULTIVOS Y EL SISTEMA CONVENCIONAL SOBRE EL TIEMPO DE DETECCION DE MICROORGANISMOS EN LIQUIDOS ORGANICOS DE NATURALEZA ESTERIL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO PRESENTA MIGUEL ANGEL CASTELLANOS ALEJOS

U N A M FES ZARAGOZA



LO HOMBROS IJE DE NUESTRA ESPERANZA

ASESOR: O.F.B. YOLANDA FLORES CABRERA

MEXICO, D.F.

2000

[Firma manuscrita]



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos:

A mis padres, que como siempre lo he sentido, han dado su vida entera para abrirle camino a la mía, porque ustedes, Maty y Josafat son las personas que más he admirado, respetado y querido desde el inicio de mis días y aún más, porque este sentir se acrecienta más y más al ver a mi esposa y a mis hijas caminar al lado mío, créanme que se han eternizado en nosotros, mil gracias y perdón a las faltas incurridas en toda esa vida tan feliz que me han brindado, los voy a querer eternamente.

A mis hermanos, por que sin cada una de sus enseñanzas jamás habría podido ser lo que soy ahora, con virtudes y defectos, pero siempre con una mano amiga que me apoya y me respalda a cada paso. Carlos un ejemplo de rectitud, moral y compañerismo, Araceli ejemplo de entrega y carácter, Juan Luis cada momento es gozo, empuje y ganas de ser el #1 y un gran gran amigo, Miriam siempre con inocencia, buena voluntad y romanticismo, Maty con ese aire de confianza, de apoyo, fortaleza y con brazos eternamente abiertos y Javi, el mejor hermano que podría querer y perdonar a alguien como yo.

A ti Ale, por que siempre has encontrado la forma de picarme el orgullo y a tu modo siempre has procurado llevarme más y más adelante del punto donde creo estar ya bien, mil gracias además por esos dos angelitos mi Abi y mi Ale que son la fuente de vigor y entusiasmo para procurar más y mejores cosas, un beso con profundo cariño, un abrazo con todo el amor y el respeto que siempre he pretendido demostrarte y finalmente una disculpa por los momentos tan difíciles conmigo, te amo.

A todas y cada una de las personas que conocido en mi vida, por que todos han sido estupendos maestros para mí, enseñanzas de lo bueno y lo malo, su aceptación, su rechazo, su admiración y su menosprecio, su apoyo y sus zancadillas, en fin todo contacto ha sido y será aprendizaje para procurar ser un mejor ser humano, pero de

todo este universo, un abrazo sincero, cariñoso y de gran admiración y respeto a mi pequeño-gran amigo Arturo, ese incondicional maestro de gran sentido humano.

Si Piensas...

Si piensas que estás vencido, lo estás;
Si piensas que no te atreves, no lo harás;
Si piensas que te gustaría ganar
Pero que no puedes ni lo lograrás;
Si piensas que perderás, ya has perdido;
Por que en el mundo encontrarás
Que el éxito empieza con la voluntad del hombre.

Piensa en grande y tus hechos crecerán;
Piensa en pequeño y quedarás atrás;
Piensa que puedes y podrás;
Todo está en el estado mental.

Claude Bernard.

INDICE GENERAL

C o n t e n i d o	P á g i n a s
Fundamentación teórica. _____	1
1. Líquido cefalorraquídeo. _____	4
1.1. Naturaleza del líquido. _____	4
1.2. Evaluación organoléptica. _____	6
1.3. Alteraciones relevantes de parámetros. _____	8
1.4. Estudios microbiológicos. _____	26
2. Líquido sinovial. _____	30
2.1. Naturaleza del líquido. _____	30
2.2. Evaluación organoléptica. _____	31
2.3. Alteraciones relevantes de parámetros. _____	32
2.4. Estudios microbiológicos. _____	42
3. Líquido pleural. _____	42
3.1. Naturaleza del líquido. _____	42
3.2. Evaluación organoléptica. _____	45
3.3. Alteraciones relevantes de parámetros. _____	46
3.4. Estudios microbiológicos. _____	50
4. Líquido de derrame pericardio. _____	50
4.1. Naturaleza del líquido. _____	50
4.2. Evaluación organoléptica. _____	51
4.3. Alteraciones relevantes de parámetros. _____	52
4.4. Estudios microbiológicos. _____	53
5. Líquido peritoneal. _____	54
5.1. Naturaleza del líquido. _____	54
5.2. Evaluación organoléptica. _____	55
5.3. Alteraciones relevantes de parámetros. _____	57
5.4. Estudios microbiológicos. _____	60
Planteamiento del problema. _____	61
Objetivos. _____	61
Hipótesis. _____	62
Diseño de investigación. _____	62
Técnica. _____	66
Resultados. _____	68
Discusiones. _____	87
Conclusiones. _____	89
Propuestas. _____	90
Referencias bibliográficas. _____	92

INDICE DE TABLAS

Títulos	Páginas
Cuadro 1.3.1 Intervalos de referencia sobre el recuento celular para LCR. _____▶	9
Cuadro 1.3.2 Causas del aumento de neutrófilos en LCR _____▶	10
Cuadro 1.3.3 Causas del aumento de linfocitos en LCR _____▶	11
Cuadro 1.3.4 Procesos asociados a una elevación en la cifra de eosinófilos en LCR _____▶	11
Cuadro 1.3.5 Procesos asociados al número elevado de células plasmocitoides _____▶	12
Cuadro 1.3.6 Concentración de proteínas en el plasma y el LCR _____▶	14
Cuadro 1.3.7 Valores de referencia para proteínas en LCR de adultos _____▶	16
Cuadro 1.3.8 Procesos asociados a un aumento de proteínas totales en LCR _____▶	17
Cuadro 1.4.1 Posibles patógenos a presentarse en muestras de LCR _____▶	27
Cuadro 2.3.1 Clasificación de hallazgos en líquido sinovial _____▶	33
Cuadro 2.3.2 Procesos clínicos provocados por cristales endógenos _____▶	36
Cuadro 2.3.3 Constituyentes del líquido sinovial en condiciones de normalidad _____▶	39
Cuadro 3.1.1 Clasificación de los derrames pleurales _____▶	44
Cuadro 3.2.1 Clasificación de los derrames de líquido pleural _____▶	46
Cuadro 4.1.1 Origen de los derrames pericárdicos _____▶	51
Cuadro 4.2.1 Diagnóstico diferencial entre derrames hemorrágicos y aspiración intracardiaca _____▶	52
Cuadro 5.1.1 Origen de los derrames peritoneales. _____▶	54
Cuadro 5.2.1 Criterios estándar para evaluación del lavado peritoneal. _____▶	56
Cuadro 5.2.2 Cuantificación visual de sangre en lavado peritoneal. _____▶	57
Tabla ω Resultados generales de proceso _____▶	69
Tabla α Comparación de los tiempos de detección para LCR _____▶	70
Tabla β Comparación de los tiempos de detección para LPL _____▶	70
Tabla γ Comparación de los tiempos de detección para LPO _____▶	73
Tabla δ Comparación de los tiempos de detección para LSN _____▶	75
Tabla ε Comparación de los tiempos de detección para LDP _____▶	75
Tabla 1 Incidencia de microorganismos en Líquido cefalorraquídeo _____▶	78
Tabla 2 Incidencia de microorganismos en Líquido peritoneal _____▶	78
Tabla 3 Incidencia de microorganismos en Líquido pleural _____▶	81
Tabla 4 Incidencia de microorganismos en Líquido sinovial _____▶	81
Tabla 5 Incidencia de microorganismos en Líquido de derrame pericardio _____▶	84
Tabla 6 Tinciones de Gram _____▶	84
Diseño estadístico del teorema de Bayes _____▶	87
Análisis paramétrico para Líquido cefalorraquídeo _____▶	88
Análisis paramétrico para Líquido pleural _____▶	88
Análisis paramétrico para Líquido peritoneal _____▶	88
Análisis paramétrico para Líquido sinovial _____▶	89
Análisis paramétrico para Líquido de derrame pericardio _____▶	89

INDICE DE FIGURAS

Títulos	Páginas
Gráfico O: Resultados generales de proceso	69
Gráfico A: Comparación de los tiempos de detección para LCR	71
Gráfico B: Comparación de los tiempos de detección para LPL	72
Gráfico C: Comparación de los tiempos de detección para LPO	74
Gráfico D: Comparación de los tiempos de detección para LSN	76
Gráfico E: Comparación de los tiempos de detección para LDP	77
Incidencia de microorganismos en LCR	79
Incidencia de microorganismos en LPO	80
Incidencia de microorganismos en LPL	82
Incidencia de microorganismos en LSN	83
Incidencia de microorganismos en LDP	85
Sensibilidad aparente de la tinción de Gram	86

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

EL sistema BacT/Alert es un sistema automatizado de hemocultivos, de la marca ORGANON TEKNIKA para la detección de bacterias en muestras sanguíneas y otros fluidos corporales. Utiliza un sensor colorimétrico como método para detectar el dióxido de carbono (CO_2) procedente del metabolismo microbiano¹. El papel del CO_2 como factor nutritivo universalmente esencial estriba en el metabolismo heterotrófico, que no solamente extendió ampliamente toda la variedad de microbios, si no que también les confirió un nuevo papel: la mineralización de la materia orgánica a CO_2 y H_2O , lo que constituye, juntamente con la reducción del CO_2 por fotosíntesis, el ciclo geoquímico². Además, el reservorio atmosférico de CO_2 , si no se repusiera constantemente, soportaría el ritmo corriente de fotosíntesis sólo durante 20 años. Es por lo tanto axiomático que todo compuesto orgánico de existencia natural puede ser metabolizado por algún microbio.

Ciertos organismos (p. ej., los meningococos y gonococos), especialmente después de su aislamiento, crecen mejor si la PCO_2 es algo superior a la del aire (alrededor de 0.03% en el exterior); es posible que posean enzimas de escasa afinidad para el CO_2 ³.

Con un inóculo pequeño puede producirse un largo retraso en la iniciación del crecimiento en un medio mínimo porque la PCO_2 baja limita el flujo de carbono necesario para pasar de la glucosa al ciclo del tricarboxilato (TCA). La adición de intermediarios al ciclo de la TCA añadido puede ejercer un efecto catalizador que elimine este retraso hasta que el cultivo sea lo bastante denso para aumentar su PCO_2 ⁴. Sin embargo, aunque se añadan al medio dichos intermediarios, el crecimiento puede no producirse,

debido a otros factores que pueden disminuir la tensión de CO_2 en un recipiente determinado. La explicación de este fenómeno se obtuvo al descubrir que la síntesis de ácidos grasos requiere CO_2 para convertir el acetil-CoA en malonil-CoA⁵. De ahí que, aunque este CO_2 sea reciclado en lugar de ser asimilado, *toda célula en crecimiento requiera una adecuada PCO_2* , ya que sus lípidos no pueden obtenerlo del exterior.

Debido al desarrollo científico de todas estas bases bioquímicas y de fisiología bacteriana, la tecnología se ha dado el lujo de desarrollar métodos continuos de cultivo con grandes aplicaciones⁶ a la microbiología clínica, existiendo hoy en día corporaciones que manejan esta tecnología con auxilio y sustento de la ingeniería en computación, creando sistemas comerciales como lo son el BacT/Alert, Pedi-BacT, Roche Septi-Check, o los sistemas BACTEC (BACTEC PLUS 26, BACTEC PLUS 27, BECTEC 660/730 no radiométrico, etc.)⁷ como ejemplos de algunos de ellos.

Todos ellos varían en los principios específicos de detección, pero fundamentados siempre en la fisiología, nutrición y crecimiento bacteriano⁸.

El sistema BacT/Alert, es un sistema rápido y automatizado que consta de un módulo computarizado que monitorea (con monitoreo continuo no invasivo) e incuba frascos de cultivo aeróbicos y anaeróbicos comparándolos contra ellos mismos, esto se complementa con agitación continua en gradillas con capacidad de 240 o 120 frascos, lector de código de barras, generación de reportes y gráficas de resultados, Modem y comunicación con el software 24hs al día⁹. Los frascos que emplea el sistema en forma más reciente conocidos como FAN, están suplementados con resinas de adsorción que pueden neutralizar los efectos de algunos inhibidores microbianos naturales de la sangre, antibióticos y factores que pueden desfavorecer la recuperación de algún patógeno en cuestión, los viales (frascos) pueden estar también canalizados a la recuperación de microorganismos de desarrollo anaeróbico con límites de detección muy cercanos a la de los viales aeróbicos¹⁰.

Esto ha originado una ventaja sobre los viales estándar en la detección positiva para episodios de bacteremia teniendo datos de la recuperación de 129 (19%) positivos por viales suplementados contra 43 (7%) por viales STD de un total de 664 casos, lo que nos lleva a un incremento en la sensibilidad de alrededor de un 200% que tiene gran importancia clínica¹¹.

Ahora bien, el tipo de cultivo bacteriológico referido en el presente proyecto es aquel a realizar sobre fluidos orgánicos de diversa procedencia anatómica con la característica principal de constar con una naturaleza estéril bajo condiciones de normalidad¹².

Los líquidos o fluidos orgánicos más frecuentemente remitidos a estudio bacteriológico y/o citoquímico en el laboratorio clínico son los siguientes:

- Líquido cefalorraquídeo (LCR)
- Líquido sinovial (LSN)
- Líquido pleural (LPL)
- Líquido peritoneal (LPO)
- Líquido de derrame pericárdico (LDP)

A continuación, se desglosarán los aspectos más trascendentes que conciernen a cada tipo de muestra en forma aislada por 4 secciones numeradas en forma secuencial continua y conteniendo la siguiente información:

- Naturaleza del líquido (formación y fisicoquímica)
- Evaluación organoléptica (examen macroscópico de normalidad o patologías)
- Alteraciones relevantes de parámetros.
- Estudios microbiológicos

1. Líquido cefalorraquídeo

1.1 Naturaleza del líquido.

Aproximadamente el 70% del líquido cefalorraquídeo (LCR) se forma en los plexos coroideos ventriculares a través de un proceso combinado de secreción activa y ultrafiltración a través del plasma. Alrededor del 30% del LCR se forma como líquido intersticial, elaborado dentro de los espacios intercelulares del cerebro y de la médula espinal.

La resorción del líquido cefalorraquídeo se produce a través de las vellosidades aracnoideas de los senos duros. A lo largo de los linfáticos perineurales también se puede producir una pequeña cantidad de resorción de LCR^{13,14}.

El volumen del LCR en los adultos es de aproximadamente 90 a 150 mL: alrededor de 20 mL se encuentran en los ventrículos, unos 60 mL en las cisternas subaracnoideas y unos 70 mL en el canal raquídeo. La velocidad de formación de los adultos es de unos 500 mL/día o 20 mL/h.

El concepto de barrera hematoencefálica deriva de ciertos experimentos vitales de tinción: determinados colorantes inyectados en la sangre tiñen casi todos los tejidos del cuerpo excepto el encéfalo. Se distinguen dos barreras hematoencefálicas morfológicamente distintas que impiden el paso de los constituyentes del plasma, incluyendo las proteínas, al LCR. La primera es el endotelio capilar, que difiere del endotelio capilar de otros tejidos por que existen estrechas uniones entre las células adyacentes. La segunda está representada por capilares coroidales fenestrados, englobados en el epéndima especializado, que se encuentra en el epitelio del plexo coroidal¹⁴. Las concentraciones en el LCR de determinadas sustancias están reguladas dentro de estrechos límites: por ejemplo, K^+ , H^+ , Mg^{++} , y Ca^{++} . La glucosa, la urea y la creatinina difunden libremente, pero requieren varias horas para encontrar una situación de equilibrio. Las proteínas difunden con

lentitud a través de un gradiente de concentración desde el plasma al LCR, a velocidades que disminuyen a medida que aumenta el tamaño de las moléculas.

Antes de la extracción de cualquier cantidad de líquido, debe medirse la presión, permitiendo que el LCR llene un manómetro graduado estéril. La presión inicial normal varía entre 90 y 180 mm de LCR, determinada con el paciente en decúbito lateral. Durante la respiración, al toser o al realizar esfuerzos se producen cambios leves de la presión (5 a 10 mm). La ausencia de estas variaciones mínimas puede deberse a la colocación incorrecta de la aguja o a un bloqueo en algún punto entre la aguja y el seno dural¹³.

Si la presión de abertura supera los 180 mm de LCR, el médico debe asegurarse de que no hay espasmos respiratorios o compresión abdominal. El incremento de la presión del LCR también puede deberse a una insuficiencia cardíaca congestiva, a una inflamación de las meninges, a la obstrucción de los senos venosos intracraneales, a masas tumorales o a edema cerebral. Si la presión de abertura sigue siendo alta, solo deben extraerse de 1 a 2 mL de líquido.

Una caída importante de la presión tras extraer de 1 a 2 mL de líquido sugiere una hernia cerebelosa o una compresión de la médula raquídea por encima del lugar de la punción. En estos casos **no** debe extraerse más líquido y el paciente debe ser observado de cerca durante varias horas.

En algunos pacientes con bloqueo medular parcial o completo, la presión inicial puede ser baja, quizá de 80 mm de LCR, y tras extraer solamente 1 mL de líquido puede caer hasta 0. De nuevo, en dichos casos no debe extraerse más líquido y el paciente debe ser observado de cerca durante varias horas.

La presión normal de cierre tras la extracción de 10 a 20 mL de LCR es de unos 45 a 90 mm de LCR¹³.

Por lo general, se depositan tres muestras en tubos estériles etiquetados secuencialmente como número 1 (estudios químicos e inmunológicos), número 2 (examen microbiológico) y número 3 (recuento celular y recuento diferencial).

1.2 Evaluación organoléptica

El LCR normal es cristalino, con un aspecto y una viscosidad comparables a los del agua. Los leucocitos (más de 200 células/ μ L: turbidez ligera) y los eritrocitos (más de 400 células/ μ L: turbidez ligera) pueden producir un LCR opaco o turbio. La turbidez, asimismo, puede estar causada por microorganismos (bacterias, hongos, amebas), medios de contraste, aspiración de grasa epidural durante la punción lumbar o medios de contraste radiológicos.

La formación de coágulos se produce excepcionalmente por un aumento de fibrinógeno asociado con procesos como una punción traumática, un bloqueo subaracnoideo, una meningitis supurada y una meningitis tuberculosa.

Observando la superficie del LCR tras 12 a 24 h a temperatura de refrigeración pueden detectarse coágulos muy finos o "telillas".

La sangre macroscópica plantea el problema de la diferenciación entre una punción traumática y una hemorragia subaracnoidea o una intracerebral. La crenación de los eritrocitos *no* resulta útil para distinguir una punción traumática de una hemorragia subaracnoidea.

El diagnóstico diferencial entre una punción traumática frente a una hemorragia subaracnoidea se basa en tres hallazgos:

- Una punción traumática a menudo presenta un aclaramiento significativo de la sangre entre el último tubo tiene una sensibilidad aproximada del 80% y una especificidad aproximada del 50-60% para la punción traumática¹⁵
- La hemorragia subaracnoidea se asocia con xantocromía, causada por la liberación de hemoglobina a partir de los eritrocitos hemolizados. La xantocromía se refiere al color rosa pálido o naranja o amarillo en el sobrenadante del LCR centrifugado. La lisis de los eritrocitos en LCR comienza aproximadamente de una a dos horas posteriores a una hemorragia¹⁵. Esta lisis de los eritrocitos no está causada por una diferencia osmótica entre el plasma y el LCR, ya que la osmolalidad de ambos líquidos, es en esencia, la

misma. La lisis de eritrocitos, probablemente, está causada por la ausencia de proteínas y lípidos en el LCR, que se requieren para estabilizar la membrana eritrocitaria. Por lo tanto, el examen en busca de xantocromía debe efectuarse al cabo de 1h o menos tras la recogida, para evitar los falsos positivos.

- Finalmente, la hemorragia subaracnoidea se asocia con eritrofagia en el examen microscópico.

Aproximadamente de 1 a 4 hs tras una hemorragia subaracnoidea aparece una xantocromía rosa pálido debida a la oxihemoglobina, que alcanza un máximo a las 24-36 hs y desaparece en forma gradual al cabo de 4 a 8 días. Aproximadamente a las 12 hs tras una hemorragia subaracnoidea, en el LCR aparece una xantocromía amarilla debida a la bilirrubina que alcanza un máximo a los 2-4 días y desaparece de manera gradual a las 2-4 semanas¹⁶.

El sobrenadante debe compararse con un tubo de agua destilada, utilizando como fondo una hoja de papel blanco. Algunos investigadores utilizan un tomógrafo espectral de absorbancia para detectar la xantocromía: pueden observarse picos en el rango de 400 a 450 nm^{17,18} Otros recomiendan lecturas de absorbancia a 415 nm¹⁹. De manera alternativa puede calcularse un índice de xantocromía²⁰. A pesar de que la espectrofotometría y los métodos relacionados proporcionan un registro objetivo, "las lecturas a ojo" cuidadosas parecen presentar una sensibilidad y especificidad comparables¹⁹.

La xantocromía, según se observa visualmente, puede estar causada por las siguientes circunstancias:

1. Oxihemoglobina procedente de los eritrocitos lisados presentes en el LCR antes de la punción lumbar, o una punción traumática con lisis de eritrocitos tras punción lumbar (p. Ej., detergente en la aguja de punción lumbar o en el tubo de muestra, o bien más de 1 hora de retraso antes del examen).
2. Bilirrubina procedente de eritrocitos lisados en el LCR o un aumento de la bilirrubina directa con una barrera hematoencefálica normal, o bien en recién nacidos prematuros con una barrera hematoencefálica inmadura y una bilirrubina total elevada.

3. Niveles de proteínas en el LCR de más de 150 mg/dL o una punción traumática con la suficiente contaminación de plasma para provocar una concentración proteica semejante.
4. Contaminación del LCR por el mertiolato utilizado para desinfectar la piel.
5. Carotenoides en el LCR, debidos a una hipercarotinemias sistémica.
6. Melanina en el LCR debida a un melanoma meníngeo.

1.3 Alteraciones relevantes de parámetros

Los principales parámetros que nos proporcionan una guía de diagnóstico a la patología cursante, son las alteraciones en celularidad (neutrofilia, linfocitosis, eosinofilia etc.), concentración química (PT, PMB, Glucosa, Lactato, Electrolitos, Amoníaco y glutamina) y pruebas inmunológicas específicas.

Celularidad.

El rango normal aceptado para el recuento leucocitario del LCR es de 0 a 5 células (linfocitos y monocitos) por μl en adultos. El rango normal para los recién nacidos es un poco más alto: de unos 0 a 30 mononucleares por μl ²¹. Los rangos normales para los niños son comparables a los de los adultos. Se ha descrito el recuento celular electrónico de leucocitos y eritrocitos²²; sin embargo, la mayoría de recuentos celulares se llevan a cabo manualmente.

Anteriormente no existía un acuerdo sobre la posibilidad de que los neutrófilos se encontraran en el LCR normal. A pesar de que la literatura antigua sugiere que el hallazgo de un solo neutrófilo es anómalo, estudios más recientes indican que en el LCR normal pueden encontrarse algunos debido a la contaminación de sangre periférica²³. Consideramos cifras de neutrófilos de hasta el 7 a 8% dentro de los límites normales. No obstante, no existe un consenso de lo que pudiera considerarse como "límites normales".

En el cuadro 1.3.1 se señalan los intervalos de referencia sugeridos para el recuento diferencial en el LCR.

Tipos de célula	Adultos (%)	Recién nacidos (%)
Linfocitos	28 < x < 96	02 < x < 38
Monocitos	16 < x < 56	50 < x < 94
Neutrófilos	02 < x < 07	03 < x < 08
Histiocitos	Infrecuente	01 < x < 09
Células endimarias	Infrecuente	Infrecuente
Eosinófilos	Infrecuente	Infrecuente

Cuadro 1.3.1 Intervalos de referencia sobre el recuento celular para LCR²³,

Los informes procedentes de la literatura antigua suelen especificar un porcentaje más bajo de monocitos que de linfocitos (sobre el 14 y el 86%, respectivamente).

Esto se debe al hecho de que con la citocentrífuga se reconocen con más facilidad los monocitos, mientras que con los métodos antiguos a menudo se clasificaban como linfocitos.

En un 1% de todas las muestras de LCR pueden observarse células de la médula ósea vertebral²⁴.

Esta contaminación puede observarse tanto en los adultos como en los niños.

Las células endimarias y del plexo coroideo, que en ocasiones se observan en el LCR normal, pueden ser difíciles de distinguir de las células neoplásicas. De manera excepcional, pueden observarse células cartilaginosas, epiteliales escamosas y ganglionares, y pequeños capilares²⁵.

En el cuadro 1.3.2 se resumen los procesos en los que se pueden producir *aumentos de la cifra de neutrófilos*:

Causas de aumento de Neutrófilos en LCR	
1.-Meningitis	<ul style="list-style-type: none"> • bacteriana • vírica (estadio inicial) • tuberculosa (estadio inicial) • micótica (estadio inicial)
2.-Infecciones del SNC	<ul style="list-style-type: none"> • Absceso meníngeo • Empiema subdural
3.- Post-hemorragia	<ul style="list-style-type: none"> • Subaracnoidea • Cerebral
4.-Reacciones locales	<ul style="list-style-type: none"> • Punción lumbar repetida • Inyección de material extraño como metrotexato o medios de contraste radiológico • Tumor metastásico en contacto con el LCR
5.-Infarto cerebral	
6.-Convulsiones	

Cuadro 1.3.2. Causas del aumento de neutrófilos en LCR²⁶.

Durante la fase temprana de la meningitis bacteriana aguda, el porcentaje de neutrófilos suele superar el 60%²⁶. Una estimación razonable de sensibilidad a esta altura del punto de corte sería del 90 al 95%. A pesar de que la fase temprana de las meningoencefalitis víricas puede asociarse con neutrofilia inicial, por lo general se modifica hacia una respuesta linfocitaria al cabo de 2 a 3 días (sobre el 20 al 25% de estos pacientes pueden tener un recuento de neutrófilos en LCR del 60% o más²⁶). Otras causas tratables de pleocitosis neutrofílica incluyen meningitis tuberculosa, meningitis micótica, meningoencefalitis amebiana, absceso cerebral y epiema subdural^{27,28,29,30}.

En los procesos que se resumen en el cuadro 1.3.3 se han indicado *cifras elevadas de linfocitos*, induciendo a linfocitos atípicos, a plasmocitoides y a inmunoblastos en el LCR³¹.

En los procesos asociados con reacciones linfocitarias pueden producirse *cifras elevadas de células plasmáticas* (cuadro 1.3.5): formas de transición entre linfocitos reactivos, linfocitos plasmocitoides y células plasmáticas clásicas³¹.

Causas de aumento de linfocitos en el Líquido cefalorraquídeo		
Meningitis	Alteraciones degenerativas	Otros procesos inflamatorios
Meningitis vírica Meningitis tuberculosa Meningitis fúngica Meningoencefalitis sifilítica Meningitis leptospirótica Bacteriana debida a <i>Lysteria monocytogenes</i> Infestaciones parasitarias (cisticercosis, trichinosis, toxoplasmosis) Aséptica por contigüidad	Panencefalitis esclerosante subaguda Esclerosis múltiple Encefalopatía por toxicomanía Síndrome de Guillain-Barré Encefalomielitis diseminada aguda	Sarcoidosis de las meninges Polineuritis Periarteritis con afectación del SNC

Cuadro 1.3.3. Causas del aumento de linfocitos en líquido cefalorraquídeo³¹.

Causas de eosinofilia en LCR			
Infestaciones parasitarias	Infecciones por hongos	Infecciones por rickettsias	Otras
<i>Angiostrongylus cantonensis</i> <i>Taenia solium</i> (cisticercosis) <i>Gnathostoma spinigerum</i> <i>Schistosoma sp.</i> <i>Paragonimus westermani</i> <i>Fasciola hepatica</i> <i>Hypoderma bovis</i> (larva migrans)	<i>Coccidioides immitis</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Cuerpo extraño (mielografía) Sarcoidosis Derivación intracraneal

Cuadro 1.3.4. Procesos asociados a una elevación en la cifra de eosinófilos en LCR³².

Causas de la presencia de células plasmáticas en el LCR
Meningitis tuberculosa
Meningoencefalitis sifilítica
Esclerosis múltiple
Infestaciones parasitarias del SNC
Panencefalitis esclerosante
Síndrome de Guillain-Barré
Sarcoidosis

Cuadro 1.3.5 Procesos asociados a número elevado de células plasmocitoides³¹.

En los procesos que se resumen en el cuadro 1.3.4 se han apreciado *cifras elevadas de eosinófilos*.

Los pequeños aumentos de los eosinófilos en el LCR (1 a 5%) tienen escasa significación; se sugiere que el criterio para una eosinofilia "de importancia clínica" debe ser el 10% o mayor³².

La invasión del sistema nervioso central (SNC) por helmintos puede ser una causa relativamente frecuente de eosinofilia en LCR: Angiostrogylus cantonensis se produce en todo el sudeste asiático; el cuadro clínico típico consiste en una meningoencefalitis leve con recuperación espontánea y Taenia solium y Gnathostoma spinigerum producen síntomas clínicos más graves con implicaciones de consideración. Las *cifras elevadas de basófilos* tienen poco valor clínico.

Las *cifras elevadas de monocitos* suelen producirse como parte de una "reacción mixta" similar sin neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas. Esta "reacción mixta" es característica de la meningitis tuberculosa, la rotura de un absceso cerebral, la meningitis leptospirótica, la meningitis por toxoplasma y la encefalomiелitis amebiana. Una "reacción mixta" similar sin neutrófilos es característica de la meningoencefalitis vírica y de la sifilítica.

Los *incrementos en las cifras de macrófagos*, que incluyen células gigantes, pueden asociarse con meningitis tuberculosa o micótica, cuerpos extraños (p. ej. Medios de contraste o drenajes

ventriculares) o lípidos en el LAR, derivados de un traumatismo en el SRC (p. ej. Contusión, infarto y absceso cerebral).

Tras una hemorragia subaracnoidea, aparecen macrófagos con eritrocitos fagocitados al cabo de 1 o 2 días. También pueden aparecer tras una punción traumática. Los eritrocitos fagocitados pierden rápidamente su color y aparecen como vacuolas en el citoplasma de los macrófagos. Tras unos 2-4 días aparece hemosiderina en forma de gránulos de color pardo oscuro, que puede confirmarse mediante tinción con hierro. Estos siderófagos pueden persistir durante varios meses después de la hemorragia inicial. El pigmento hematínico, observado como cristales de color amarillo pardusco o rojo, también pueden aparecer en los macrófagos tras una hemorragia. Después a un infarto cerebral o a una mielografía pueden aparecer macrófagos espumosos que contienen lipasas³³. En ocasiones en el LCR pueden haber células del *lupus eritematoso* (LE)³⁴.

Las *células leucémicas* del LCR se asocian con infiltración leucémica de las meninges, y de forma característica aparecen tras varias remisiones, logradas mediante quimioterapia. En LCR los recuentos de células leucémicas varían desde unas pocas hasta más de 1000/ μ l. Es frecuente la diseminación meníngea en la leucemia linfoblástica aguda, mieloblástica aguda y promielocítica, pero poco habitual en la leucemia mieloide crónica y en la linfocítica, en este sentido, es importante observar que un error diagnóstico de leucemia meníngea puede ser el resultado de una contaminación por sangre periférica en los pacientes leucémicos.

Las *reacciones leucemoides* del LCR pueden asociarse con el coma, que semeja una leucemia granulocítica crónica, con promielocitos en el LCR³⁵.

Las *células tumorales* en el LCR pueden derivarse de neoplasias primarias o metastásicas. De los tumores primarios del SNC, el meduloblastoma produce con mayor probabilidad células neoplásicas en

el LCR que el astrocitoma o el meningioma. Los orígenes frecuentes de los tumores metastásicos del SNC incluyen los pulmones, la mama, el tubo gastrointestinal y la piel (melanoma)²⁵. La sensibilidad del examen citológico para células neoplásicas varía desde 60% hasta el 85 o 90% en función de la extensión de la neoplasia¹⁵. La proporción de falsos positivos puede ser del 2 al 3% en pacientes con trastornos neurológicos no neoplásicos¹⁵.

Ensayos químicos.

A) Proteínas totales.

Las proteínas normalmente difunden desde el plasma al LCR a través de la barrera hematoencefálica. La mayoría de las proteínas séricas pueden encontrarse en el LCR, incluyendo fibrinógeno y β -lipoproteína en bajas concentraciones (cuadro 1.3.6).

Concentración de proteínas en plasma y LCR		
Proteína	Concentración en LCR (mg/l)	Cociente plasma/LCR
Prealbúmina	17.3	14
Albúmina	155	236
Transferrina	14.4	142
Ceruloplasmina	1	366
IgG	12.3	802
IgA	1.3	1.346
α_2 -Macroglobulina	2	1.111
Fibrinógeno	0.6	4.94
IgM	0.6	1.167
B- Lipoproteína	0.6	6.213

Cuadro 1.3.6. Concentración de proteínas en el plasma³⁶.

Las concentraciones de prealbúmina y transferrina en LCR son relativamente elevadas, comparadas con las del plasma. La inmunofijación del LCR pone de manifiesto dos isoformas de transferrina con movilidad beta: en el suero solo se observa una isoforma de transferrina. Esta isoforma única del LCR carece de ácido neuramínico debido a la acción de la neuraminidasa.

Los intervalos de referencia para las proteínas totales del LCR varían con la edad y con el origen del LCR (lumbar, cisternal o ventricular). Los recién nacidos tienen una tasa relativamente alta; el "límite superior" de lo normal es de más de 150 mg/dl, atribuida a la inmadurez de la barrera hematoencefálica. A los 6 meses de edad las proteínas son comparables a los niveles de un adulto¹³.

Un rango de referencia recientemente documentado para los adultos es de alrededor de 12 a 60 mg/dL³⁶. En los adultos, el LCR cisternal y ventricular tienen concentraciones de proteínas totales más bajas que el líquido lumbar (cuadro 1.3.7). Por lo tanto, si se recogen varios tubos de LCR, los últimos pueden tener concentraciones de proteínas más bajas que los primeros³⁶. Sin embargo, en niños pequeños, las concentraciones de proteínas son comparables en el líquido lumbar y el cisternal debido al volumen más pequeño de LCR.

Un *aumento de las proteínas* en el LCR lumbar (más de 65 mg/dL) es un hallazgo anómalo importante. Una causa es la punción traumática, que produce un aumento de las proteínas del LCR debido a contaminación plasmática, en el cuadro 1.3.8 se resumen los procesos asociados a un aumento de proteínas totales en el LCR.

Valores de referencia del LCR lumbar en adultos		
	Unidades convencionales	Unidades SI
1) Proteínas	15-45 mg/dL	0.15-0.45 g/L
Prealbúmina	02-07%	
Albúmina	56-76%	
α - Globulina	02-07%	
α_2 -Globulina	04-12%	
β - Globulina	08-18%	
γ - Globulina	03-12%	
2) Electrolitos		
Osmolalidad	280-300 mOsm/L	280-300 mmol/L
Sodio	135.0-150.0 mEq/L	135.0-150.0 mmol/L
Potasio	002.6-003.0 mEq/L	002.6-003.0 mmol/L
Cloro	115.0-130.0 mEq/L	115.0-130.0 mmol/L
Contenido de CO ₂	020.0-025.0 mEq/L	020.0-025.0 mmol/L
Calcio	002.0-002.8 mEq/L	001.0-001.4 mmol/L
Magnesio	002.4-003.0 mEq/L	001.2-001.5 mmol/L
Lactato	010.0-022.0 mEq/L	001.1-002.4 mmol/L
3) pH		
Líquido lumbar	7.28-7.32	
Líquido cisternal	7.32-7.34	
4) Presión de CO ₂		
Líquido lumbar	44-50 mmHg	
Líquido cisternal	40-46 mmHg	
5) Presión de O ₂	40-44 mmHg	
6) Otros parámetros		
Amoníaco	10.0-35.0 μ g/dL	005.0-020.0 μ mol/L
Glutamina	05.0-20.0 mg/dL	000.3-001.4 mmol/L
Creatinina	00.6-01.2 mg/dL	050.0-110.0 μ mol/L
Glucosa	50.0-80.0 mg/dL	002.8-004.4 mmol/L
Hierro	01.0-02.0 μ g/dL	000.2-000.4 μ mol/L
Fósforo	01.2-02.0 mg/dL	000.4-000.6 mmol/L
Lípidos totales	01.0-02.0 mg/dL	00.01-00.02 g/L
Urea	06.0-16.0 mg/dL	003.0-006.5 mmol/L
Uratos	00.5-03.0 mg/dL	030.0-180.0 mmol/L
Zinc	02.0-06.0 μ g/dL	000.3-000.9 μ mol/L

Cuadro 1.3.7. Valores de referencia para proteínas en LCR de adultos³⁶.

Procesos asociados a un aumento de las proteínas totales en LCR	
Proceso	Comentarios
1) Punción Traumática	Presión normal; LCR inicialmente manchado con sangre, con aclaramiento
2) Aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica	
2.1) Infecciosa	
2.1.1 Meningitis bacteriana	Proteínas en LCR, 100-500 mg/dL; la tinción de Gram suele ser positiva
2.1.2 Meningitis tuberculosa	Proteínas en LCR, 50-300 mg/dL; reacción celular mixta típica
2.1.3 Meningitis fungica	Proteínas en LCR 50-300 mg/dL; tinciones especiales útiles
2.1.4 Meningoencefalitis vírica	Proteínas en LCR usualmente por debajo de 100 mg/dL
2.2) No infecciosa	
2.2.1 Hemorragia subaracnoidea	Xantocromía 2-4hs tras el inicio
2.2.2 Hemorragia cerebral	Proteínas en LCR 20-200 mg/dL; notable caída de la presión tras extracción de pequeñas cantidades de LCR; líquido xantocrómico en el 80%
2.2.3 Trombosis cerebral	Ligero aumento de proteínas en LCR en el 40% de los casos (habitualmente inferior a 100 mg/dL)
2.3) Procesos endócrinos: neuropatía diabética, mixedema, hipercortisolismo, hipoparatiroidismo.	Proteínas en LCR, 50-150 mg/dL en el 50% de los casos
2.4) Procesos metabólicos: uremia, hipercalcemia, hipercapnia, deshidratación.	Proteínas en LCR ligeramente elevadas (por lo general menos de 100 mg/dL)
2.5) Obstrucción de la circulación del LCR.	
2.5.1 Obstrucción mecánica (tumor, absceso)	Caída rápida de la presión al extraer LCR
2.5.2 Derrame loculado de LCR	Punciones repetidas pueden producir un aumento progresivo de las proteínas en LCR

CONTINUA.....

CONTINUACION....

Procesos asociados a un aumento de las proteínas totales en LCR	
Proceso	Comentarios
2.6) Aumento de la síntesis de IgG en SNC y de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica	
2.6.1 Meningitis vírica	Alrededor del 20% de pacientes presentan un aumento de IgG en LCR
2.6.2 Síndrome de Guillain-Barré	Proteínas en LCR por lo general de 100-400 mg/dl
2.6.3 Colagenosis (p. ej., periarteritis, lupus)	Proteínas en LCR en general por debajo de 400 mg/dL
2.7) Aumento de la síntesis de IgG en SNC	
2.7.1 Esclerosis múltiple	Aumento de proteínas en LCR en el 40% (habitualmente inferiores a 100 mg/dL)
2.7.2 Panencefalitis esclerosante subaguda	IgG en LCR casi invariablemente altas
2.7.3 Neurosífilis	Proteínas en LCR habitualmente inferiores a 100 mg/dl; el 20% presenta aumento de IgG

Cuadro 1.3.8 Procesos asociados al aumento de proteínas en LCR³⁸.

El aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y la disminución de la eliminación de las moléculas de proteínas en las vellosidades aracnoideas (p.ej., la meningitis bacteriana y vírica, procesos endocrinos, metabólicos y tóxicos) constituyen dos causas de aumento de proteínas en LCR. Una tercera causa consiste en la obstrucción de la circulación de LCR a partir de un bloqueo mecánico entre el lugar de la punción lumbar y el agujero magno (p.ej., compresión medular debida a un tumor, hernia discal, adherencias o absceso extradural). Con la obstrucción la resorción produce un LCR xantocrómico, de elevado contenido proteico, que puede coagular espontáneamente (síndrome de Froin). Un síndrome similar puede estar basado en la extravasación de LCR tras punción lumbar con formación de derrames loculados epidurales y/o subdurales.

Una cuarta causa es el aumento en la síntesis de inmunoglobulinas dentro de los linfocitos y de células plasmáticas del SNC³⁷. Esta síntesis de IgG suele ser de unos 3 mg/día⁽³⁸⁾. El incremento de la síntesis de IgG en el SNC puede ocurrir en procesos asociados con infiltrados linfocitarios y plasmocitarios del SNC.

La *disminución de la concentración de proteínas* en el LCR lumbar (10 mg/dL o menos) puede ser debida a :

1. extravasación del LCR debida a un desgarro dural producido por un traumatismo (rinorrea u otorrea de LCR)
2. eliminación de importantes volúmenes de LCR (p.ej., neumoencefalografía)
3. aumento de la presión intracraneal (puede causar un aumento de la filtración de LCR a través de las granulaciones aracnoideas de los senos duros)
4. hipertiroidismo (por un mecanismo desconocido)

B) Proteína mielínica básica.

Se han empleado ensayos de proteína mielínica básica (PMB) en LCR para el diagnóstico de esclerosis múltiple. En un 90% de pacientes se eleva la PMB durante exacerbaciones agudas con retorno a la normalidad al cabo de 2 semanas de remisión del brote. Ahora bien, la PMB no es específica de la esclerosis múltiple, pues puede encontrarse en otros procesos como traumatismos craneales, accidentes cerebrovasculares, leucemia, neurosífilis, leucodistrofias, mielopatía debida a irradiación del SNC, hipoxia, quimioterapia intratecal y síndrome de Guillain-Barré^{39,40,41}. Los resultados para PMB en distintos laboratorios pueden mostrar variaciones significativas⁴², pero se consideran niveles normales aquellos inferiores a 4 ng/mL, débilmente positivos niveles de 4 a 8 ng/mL y positivos por encima de 8 ng/mL.

C) Glucosa.

El cociente de glucosa en LCR/plasma es muy variable: "cociente normal" es de alrededor de 0.6 pero puede oscilar desde aproximadamente 0.3 a 0.9⁴³. Dado que el equilibrio en el plasma requiere de 1 a 2 hs, los pacientes con una caída rápida de glucosa plasmática muestran cocientes elevados, mientras que aquellas con un aumento rápido presentan cocientes bajos.

La glucosa del LCR se considera normal por encima de 40 mg/dL en un paciente en ayunas con una glucosa plasmática normal, o cuando el cociente de glucosa en LCR/plasma es de 0.3 o más en pacientes cuya glucosa plasmática halla permanecido estable durante varias horas⁴³.

Una *disminución de la glucosa* en el LCR se asocia con una meningitis aguda o crónica, que puede ser bacteriana, tuberculosa, micótica, amebiana o parasitaria. La sensibilidad es de aproximadamente el 50 al 80%, utilizando 40 mg/dl como criterio de glucosa "normal"³³.

En un 25% de pacientes con meningoencefalitis vírica se produce una disminución de glucosa para LCR, la especificidad es de alrededor del 75%, sin embargo, estas disminuciones suelen ser más pequeñas que las observadas durante meningitis bacterianas.

Otras causas de disminución de la glucosa en LCR incluye la hipoglucemia sistémica, la hemorragia subaracnoidea, la administración intratecal de albúmina sérica radioyodada, la neurosífilis y la sarcoidosis y las neoplasias afectantes de meninges (p.ej., leucemia, linfoma, melanoma y carcinoma metastásico). Se cree que son tres los mecanismos por los que desciende la glucosa en LCR, y son la alteración en el transporte, aumento de la actividad glucolítica en el SNC, y su utilización por leucocitos y microorganismos.

Un *aumento de la glucosa* en LCR no sugiere patología del SNC, sino sospecha de un aumento de la glucosa plasmática dentro de las 2 hs precedentes a la punción lumbar.

D) Lactato.

La concentración de lactato en LCR es totalmente independiente de los niveles sanguíneos (cuadro 1.3.8). El origen primario del lactato en el LCR es el metabolismo anaerobio del SNC.

Los procesos asociados con un aumento del lactato en el LCR incluyen los traumatismos encefálicos, el edema cerebral, las hemorragias intracraneales, el infarto cerebral debido a arteriosclerosis, la hipotensión, una PO₂ arterial baja, una neoplasia primaria o metastásica, las convulsiones ideopáticas y la meningitis, en general cualquier proceso asociado con hipoxia hística del SNC puede producir un aumento del lactato en LCR.

Una aplicación la refiere el diagnóstico diferencial de la meningitis bacteriana tuberculosa y micótica con la vírica. El aumento es más frecuente en las primeras que en la última^{44,45,46,47,48,49}. Utilizando un nivel de punto de corte de 3.3 a 4.0 mmol/L o unos 30-36 mg/dL, tanto la sensibilidad como la especificidad son de alrededor de 80 a 90%.

Se ha sugerido que una combinación de glucosa y lactato sea más útil que cualquiera de las dos por separado⁵⁰. Se requiere una mayor experiencia para confirmar esta hipótesis.

Una segunda aplicación del lactato es la de evaluar a pacientes con traumatismo craneal grave⁵¹, al cabo de 18 hs a un traumatismo craneal grave, con frecuencia se produce una elevación del lactato del LCR ventricular; la disminución a niveles normales constituye una prueba de mejoría clínica. En recién nacidos, los niveles de lactato son más elevados, durante los 2 primeros días de vida presentan niveles de 10-60 mg/dL, de los 3 a los 10 días de 10-40 mg/dL y tras los 10 días de vida, decae a los niveles normales del adulto, unos 10-25 mg/dL^{52,53}.

E) Enzimas

La lactato deshidrogenasa (LDH) normalmente se encuentra en el LCR, siendo singularmente complicado el proporcionar un "rango normal" dado que los métodos de determinación emplean distintas concentraciones de substratos, neutralización, temperatura, etc. A pesar de que el cociente de LDH/plasma mayor a 0.1 se ha considerado como una elevación en la actividad de LDH⁴⁸, los recién nacidos normales, parecen tener cocientes más elevados⁵⁴. Enfermedades del

SNC tales como meningitis, leucemia, necrosis isquémica, linfoma y carcinoma metastásico producen un aumento de LDH⁵⁵. Una aplicación es el diagnóstico diferencial de la punción traumática con la hemorragia intracraneal en los recién nacidos⁵⁴. Aparentemente, la LDH apenas se afecta por la punción traumática, pero se eleva en proporción a la intensidad de la hemorragia del SNC, una estimación razonable de especificidad y sensibilidad es de 70 y 85%, en función a la altura del punto de corte utilizado⁵⁴.

Una segunda aplicación de la LDH en LCR es el diagnóstico diferencial de la meningitis bacteriana con la aséptica^{48,50,54}. Las elevaciones de la LDH en LCR pueden deberse a la lisis del coágulo (isoenzima 1), a lesión de la barrera hematoencefálica y a la liberación de enzimas procedentes del tejido cerebral (isoenzima 2 y 3) o granulocitos (isoenzima 4 a 5).

La *creatincinasa* (CK) suele presentarse como un analito elevado en el caso de meningitis bacterianas, hemorragia subaracnoideas, trombosis cerebral, esclerosis múltiple y otros trastornos desmielinizantes, síndrome de Guillain-Barré, meningoencefalitis vírica, hidrocefalia, traumatismos craneales, vasculitis, aumento de la presión intracraneal y después de convulsiones epilépticas^{56,57}. La fracción más frecuente de CK es la isoenzima CKBB derivada del tejido cerebral, pero recientemente se ha sugerido que sería un buen índice de lesión cerebral en pacientes con paro cardíaco extrahospitalario⁵⁸.

Otras isoenzimas del LCR incluyen la aspartato-amino-transferasa (ASAT), la enzima convertora de la angiotensina (ECA) y la lisozima (muramidasa). El valor clínico de estas determinaciones no está establecido.

F) Amoníaco y glutamina.

Las concentraciones de amoníaco que se observan en el LCR corresponden a aproximadamente una tercera parte del detectable en torrente sanguíneo arterial y su incremento se asocia a la encefalopatía hepática. Los productos amoniacaes del tejido cerebral se combinan con el α -cetoglutarato para la formación de glutamina que protege el SNC de los efectos tóxicos amoniacaes.

La encefalopatía hepática se ha diagnosticado por un aumento en la glutamina cefalorraquídea, pues el amoníaco es difícil de determinar, y dicho aumento refleja un incremento del amoníaco cerebral^{13,59}. No obstante la glutamina puede encontrarse elevada en la encefalopatía séptica y en la secundaria a insuficiencia respiratoria⁶⁰. Por lo que el aumento en un paciente comatoso no es patognomónico de encefalopatía hepática.

G) Electrolitos y equilibrio ácido-base

Las determinaciones de Na^+ y K^+ no son útiles para diagnosticar trastornos neurológicos, el Cl^- ya no se utiliza en el diagnóstico de meningitis tuberculosa por que no posee un valor clínico, el Ca^{2+} refleja el calcio plasmático ionizado, y dado que se dispone de métodos fidedignos para determinar el calcio plasmático ionizado, las determinaciones en LCR apenas tienen valor clínico.

El Mg^{2+} normalmente se mantiene en unos niveles aproximados de un 30% más elevados que en plasma. Estas determinaciones no son útiles para el diagnóstico diferencial.

El pH y la P_{CO_2} se han estudiado extensamente, pero no resultan de utilidad en la atención médica al paciente¹³.

Ensayos Inmunológicos

A) Marcadores tumorales.

El *antígeno carcinoembrionario* del LCR se ha utilizado como marcador del carcinoma meníngeo metastásico^{61,62,63}. La sensibilidad para la detección de metástasis leptomeníngeas de tumores sólidos es solamente del 30% (utilizando un valor de 4 ng/mL) con una especificidad del 90%.

La *alfafetoproteína* se ha utilizado como marcador para el carcinoma embrionario⁵⁸. La *gonadotropina coriónica humana* del LCR se ha empleado como marcador del carcinoma metastásico en el SNC^{64,65}.

B) Medición de Inmunoglobulinas.

El índice de IgG en el LCR y la velocidad de síntesis de la IgG ofrecen una buena sensibilidad para el diagnóstico de la esclerosis múltiple⁶⁶. Aproximadamente el 90% de pacientes con esclerosis múltiples tienen un índice de IgG por encima de 0.77, una velocidad de síntesis por encima de 3 mg/día o ambas cosas. No obstante, también se produce un aumento en otros trastornos neurológicos inflamatorios, como la neurosífilis, las neuropatías inflamatorias, la panencefalitis esclerosante subaguda, las infecciones del SNC por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1), las meningitis criptocócicas y otros procesos^{38,67,68,69}. Una estimación razonable de especificidad puede encontrarse en los límites del 80 al 90% dependiendo del espectro de los "procesos restantes" considerados¹⁵.

A pesar de que se ha sugerido que la IgG del LCR puede tener una sensibilidad y especificidad comparables al índice y a la velocidad de síntesis de la IgG⁷⁰, un informe más reciente, que utiliza curvas características de operación relativa, indica que la IgG del LCR sola es inferior a estos valores derivados⁷¹. Se han mencionado bandas oligoclonales de IgG en el LCR en la panencefalitis esclerosante subaguda, la encefalitis postsarampión, la meningitis criptocócica, la infección por VIH-1, el linfoma de Burkitt, la epilepsia mioclónica progresiva, la polineuropatía recidivante crónica, la neurosífilis (un 60% de pacientes), la meningoencefalitis bacteriana y vírica (un 40% de pacientes), la encefalitis aguda necrosante, el síndrome de Guillain-Barré, la carcinomatosis meníngea, la toxoplasmosis del SNC, la encefalitis por herpes zoster, la encefalitis por virus del herpes simple (VHS-1), la leucoencefalopatía multifocal progresiva y otros procesos^{72,73,74}.

C) Determinación de proteína C reactiva

Se ha sugerido determinar la proteína C reactiva en LCR para el diagnóstico diferencial de meningitis bacteriana frente a la vírica, pues su hallazgo tiene un 100% de sensibilidad y un 94% de especificidad para la meningitis bacteriana^(75,76). Sin embargo otros informes han mostrado un escaso rendimiento diagnóstico, y el valor de esta determinación no está todavía establecido⁷⁷.

D) Pruebas para la neurosífilis.

Desde los primeros años de la década de los setenta se ha utilizado el *anticuerpo treponémico fluorescente* del LCR con *absorción* (FTA-ABS en LCR). Este método ofrece una excelente sensibilidad para la neurosífilis, cercana al 100%, La especificidad es menos satisfactoria: aproximadamente del 96 al 97%^{78,79}. Pueden producirse algunos falsos positivos relacionados con una punción traumática y la contaminación de sangre periférica⁸⁰. Un FTA-ABS sérico no reactivo descarta la infección sifilítica, incluida la neurosífilis, por lo que la *prueba de laboratorio de investigación de enfermedades venéreas* en LCR (VDRL en LCR) no está indicada a en pacientes con un FTA-ABS sérico negativo cuando no hay hallazgos clínicos sugestivos de neurosífilis⁸¹, además su sensibilidad es de apenas el 50 a 60%⁸¹ aunque su especificidad se acerque al 100%. En pacientes seropositivos con signos neuropsiquiátricos, un FTA-ABS negativo hace que el diagnóstico de la neurosífilis activa sea muy improbable. Si es positiva, una VDRL en LCR positiva es evidencia de presunción de neurosífilis (a pesar de que una prueba positiva puede persistir durante muchos años tras un tratamiento con éxito).

Los pacientes con un FTA-ABS en LCR positivo y una VDRL en LCR negativa deben ser evaluados en busca de signos neurológicos consecuentes con una neurosífilis. Del 75 al 80% de pacientes con neurosífilis activa presentan una síntesis intratecal elevada, un índice de IgG elevado y/o bandas oligoclonales en LCR. No obstante como se ha mencionado antes, estos hallazgos no son específicos.

E) Otras pruebas inmunológicas.

Las pruebas para el *antígeno criptocócico* utilizando la aglutinación con látex tiene un valor establecido en el diagnóstico de la meningitis criptocócica⁸², con una sensibilidad que va del 60 al 99%^{15,82,83,84}. En las fases tempranas de la enfermedad y en pacientes no infectados con variedades no encapsuladas de *C.neoformans* pueden producirse resultados falsos negativos, aquellos debidos a un efecto prozona pueden eliminarse estudiando muestras de LCR con una dilución al 1:10 y los debidos a inmunocomplejos, mediante digestión enzimática (pronasa),

haciendo que la unión antigénica esté disponible para la reacción. La especificidad es de aproximadamente 80 al 90%.

Algunos falsos positivos son adjudicados al factor reumático y macroglobulinas similares que pueden ser escindidas por la pronasa. Algunos equipos comerciales se han relacionado con una alta proporción de falsos positivos⁸⁵.

Los antígenos de *Coccidioides immitis* pueden identificarse mediante pruebas serológicas con sensibilidades de 10 al 80% y especificidades del 90 al 99%^{15,83}.

El antígeno de *Mycobacterium tuberculosis* puede detectarse por enzimoimmunosorbencia (ELISA)^{86,87} cuya sensibilidad es de apenas el 50% pero la especificidad de un 96%, se requiere mayor experiencia para valorar el rendimiento diagnóstico de este método.

El antígeno de *Haemofilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus* del grupo B en LCR pueden detectarse mediante aglutinación con látex con una sensibilidad de 90% aproximadamente para *Haemofilus influenza*, de 60% para *Streptococcus pneumoniae*, del 50% para *Neisseria meningitidis* y del 90% para *Streptococcus* grupo B, la especificidad en general oscila entre el 90 y 97%^{15,88}.

A pesar de que la utilización de estas pruebas se ha difundido, apenas ofrecen pocas ventajas sobre la tinción de Gram para el diagnóstico temprano de meningitis bacteriana⁸⁸.

1.4 Estudios Microbiológicos

El LCR y los otros líquidos corporales en condiciones de normalidad son estériles; sin embargo, en caso de infecciones bacterianas, rara vez se recupera más de una especie. Por ende, no es necesario el uso de varios tipos de medios selectivos. En el siguiente cuadro se presenta una lista de microorganismos patógenos que pueden hallarse en LCR y de los medios sugeridos para su recuperación:

Flora comensal (contaminantes)	Patógenos potenciales	Medios de aislamiento aconsejados
Estafilococos coagulasa negativos Muchos estreptococos	<i>Neisseria meningitidis</i>	Agar chocolate (o MTM)
Difteroides	<i>Haemophilus influenzae</i>	Agar chocolate con estria estafilocócica
Lactobacilos	grupo b	o agar CNA
Especies de propionibacterium	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Agar-5% de sangre de camero
Escherichia coli y otras	<i>Listeria monocytogenes</i>	
	<i>E.coli</i> (algunos entéricos)	Agar de McConkey (o EMB)"para entéricos"
	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	Agar-5% de sangre de camero
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Medio de Löwestein-Jensen (LJ) o Middlebrook 7H11

Cuadro 1.4.1. Posibles patógenos a presentarse en muestras de LCR¹³.

La tinción de Gram durante el examen bacteriológico es el paso inicial en la valoración del LCR, su sensibilidad es de un 60 a 90%^{1,5,89} y pueden producirse falsos negativos con menos de 1,000 microorganismos/mL en el LCR, además las tinciones falsas positivas son principalmente debidas a precipitación de colorante, bacterias no viables en las bandejas de punción lumbar, portaobjetos contaminados o soluciones de tinción contaminadas¹⁵.

La sensibilidad de la tinción de Gram puede incrementarse utilizando una concentración citomedular en lugar de una centrifugación regular^{75,90}.

En preparaciones citocentrifugadas de LCR, teñidas mediante técnica de Wrigth, pueden observarse *amebas*²⁹. Sin embargo, cuando estos organismos sufren una degeneración subyacente, su identificación presenta dificultades.

El naranja de acridina, una tinción fluorocrómica, parece ser más sensible que la tinción de Gram. A pesar de que las tinciones de naranja de acridina del LCR no se utilizan profusamente, pueden

resultar útiles en algunos pacientes con hallazgos clínicos de meningitis y una tinción de Gram negativa.

Las tinciones de Ziehl-Neelsen para *M.tuberculosis* tienen una sensibilidad del solamente el 40%⁹¹, sin embargo cuando se examina el líquido de cuatro punciones medulares seriadas, la sensibilidad aumenta hasta el 80 a 90%^{91,92}, la tinción fluorescente de rodamina puede proporcionar un sensibilidad un poco mejor que la tinción de Ziehl-Neelsen.

La preparación con tinta china para *C.neoformans* tiene una sensibilidad aproximada del 25 al 50%, significativamente menor que la de las pruebas de aglutinación con látex para el antígeno criptocócico¹⁵. La especificidad es menor del 100% por que en algunos pacientes las células inflamatorias mononucleares pueden repeler las partículas de carbón de la tinta china, produciendo falsos positivos: se ha sugerido que la utilización de nigrosina, en lugar de tinta china, evita estos falsos positivos^{28,93}. Las causas frecuentes de meningitis incluyen *H.influenzae*, *N.meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae*. Causas menos frecuentes incluye estafilococos, estreptococos, *Listeria monocytogenes*, bacterias coliformes, *Mycobacterium tuberculosis*, *Criptococcus neoformans*, otros hongos, leptospiros, bacterias anaerobias, amebas y parásitos.

Para los tipos frecuentes de meningitis bacteriana, los métodos de cultivo aerobio ofrecen una sensibilidad de alrededor del 80 a 90%¹⁵, sin embargo, si se inicia el tratamiento antibiótico antes de obtener la muestra, puede resultar difícil el aislamiento de las bacterias⁸⁹. Se producen falsos positivos: para los organismos que son contaminantes comunes, la especificidad de un cultivo positivo puede ser inferior al 50%⁹⁴. En pacientes con meningitis tuberculosa, la sensibilidad del cultivo inicial es de alrededor del 50% y aumenta hasta el 80% en los cultivos repetidos²⁷. En estos casos se recomiendan volúmenes importantes de LCR. En la meningitis micótica, la sensibilidad del cultivo inicial

es solamente del 40 al 60%¹⁵, algunas técnicas especiales como la filtración de membrana con volúmenes importantes de LCR (unos 30 mL) pueden proporcionar un sensibilidad poco mejor⁹⁵, la especificidad es menor del 100% debido a falsos positivos excepcionales.

Los cultivos anaerobios de LCR están indicados en pacientes con procesos como otitis media crónica o mastoiditis crónica, sinusitis crónica, infección de la herida de craneotomía o laminectomía, supuración faríngea, neoplasia craneal o de cuello y focos de infección anaerobia, como un epiema o un absceso abdominal. Los cultivos víricos de LCR tienen valor en casos seleccionados⁹⁶. La sensibilidad se encuentra en el rango de 40 a 70%; sin embargo, determinados microorganismos como el VHS-1 requieren biopsia cerebral.

Si se sospecha de meningitis amebiana, basada en ensayos de identificación de microorganismos en las preparaciones citomedulares teñidas con tinción de Wright^{29,97}, pueden utilizarse técnicas de cultivo especiales para la confirmación⁹⁸.

Los microorganismos que habitualmente causan infecciones en LCR suelen ser nutricionalmente exigentes y difíciles de recuperar en cultivos, por ende, siempre debe incluirse el uso de un medio enriquecido como agar chocolate. Dado que *Haemophilus influenzae* es un patógeno común, es adecuado el uso del mencionado agar chocolate además de agar sangre con estría estafilocócica, el agar chocolate también permite la recuperación de otro patógeno común, *Neisseria meningitidis*. Dado que el LCR normalmente no está contaminado con otros microorganismos, no es necesario el uso de medios selectivos como Thayer Martin Modificado (MTM). La inoculación de caldos de enriquecimiento como el tioglicolato o caldo eugónico suele ser útil para la recuperación de microorganismos que se encuentran en cuentas bajas dentro de la muestra.

Otros patógenos incluyendo *Listeria monocytogenes* y *Flavobacterium meningosepticum*, pueden crecer en los medios sugeridos. Las colonias de *L.monocytogenes* son β -hemolíticas y pueden confundirse con estreptococos β -hemolíticos, de los cuales pueden diferenciarse sobre la base de una tinción de Gram y una prueba de catalasa (las listerias son bacilos Gram positivos y catalasa positiva). El *Flavobacterium meningosepticum* es uno de los agentes etiológicos de la sepsis neonatal y puede sospecharse si se observan colonias de color amarillo en la sangre de camero o agar-chocolate en ausencia de crecimiento en agar de MacConkey. También se aconseja la inoculación de un caldo tioglicolato o la de un caldo eugónico enriquecido.

El *Cryptococcus neoformans* crece bien en agar chocolate y agar sangre y no es necesario el uso de medios especiales para hongos. El LCR puede centrifugarse o pasarse a través de un filtro para bacterias de 0.45 μm (Millipore Corporation, Bradford, MA) para concentrar los criptococos. Gotas de sedimento centrifugado deben colocarse sobre la superficie del agar sin diseminación para una recuperación máxima de un bajo número de microorganismos. Los filtros deben colocarse hacia abajo sobre la superficie del agar y cambiarse de lugar cada 3 a 4 días con el objeto de permitir la detección del crecimiento de colonias. Si bien la recuperación de microorganismos en cultivo aún es método de referencia para confirmar el diagnóstico de criptocosis, en muchos laboratorios se realiza solo el antígeno criptocócico en pruebas directas para sangre u orina.

2. Líquido sinovial.

2.1 Naturaleza del líquido

La membrana sinovial reviste los márgenes de las articulaciones diartroïdales, de la bolsa y de las vainas del tendón sinovial, pero no cubre los cartílagos o meniscos articulares. Las células de revestimiento sinovial se encuentran dispuestas libremente en una capa compuesta por una a tres células sobre una matriz de mucopolisacáridos. A diferencia de otras cavidades orgánicas no existe membrana basal y no hay desmosomas que unan las células sinoviales adyacentes. El revestimiento presenta una superficie discontinua a menudo con amplios vacíos entre células sinoviales adyacentes.

El líquido sinovial se produce por diálisis del plasma a través de la membrana sinovial y la secreción de un complejo ácido hialurónico-proteína. A este infiltrado se añaden solo pequeñas cantidades de proteínas de alto peso molecular, como el fibrinógeno y las globulinas⁹⁹. Las concentraciones de proteínas totales e inmunoglobulinas en el líquido sinovial son aproximadamente de un tercio a la mitad del plasma, mientras que la glucosa y el ácido úrico son comparables a los del plasma (cuadro 2.3.3).

El *Cryptococcus neoformans* crece bien en agar chocolate y agar sangre y no es necesario el uso de medios especiales para hongos. El LCR puede centrifugarse o pasarse a través de un filtro para bacterias de 0.45 μm (Millipore Corporation, Bradford, MA) para concentrar los criptococos. Gotas de sedimento centrifugado deben colocarse sobre la superficie del agar sin diseminación para una recuperación máxima de un bajo número de microorganismos. Los filtros deben colocarse hacia abajo sobre la superficie del agar y cambiarse de lugar cada 3 a 4 días con el objeto de permitir la detección del crecimiento de colonias. Si bien la recuperación de microorganismos en cultivo aún es método de referencia para confirmar el diagnóstico de criptocosis, en muchos laboratorios se realiza solo el antígeno criptocócico en pruebas directas para sangre u orina.

2. Líquido sinovial.

2.1 Naturaleza del líquido

La membrana sinovial reviste los márgenes de las articulaciones diartroïdales, de la bolsa y de las vainas del tendón sinovial, pero no cubre los cartílagos o meniscos articulares. Las células de revestimiento sinovial se encuentran dispuestas libremente en una capa compuesta por una a tres células sobre una matriz de mucopolisacáridos. A diferencia de otras cavidades orgánicas no existe membrana basal y no hay desmosomas que unan las células sinoviales adyacentes. El revestimiento presenta una superficie discontinua a menudo con amplios vacíos entre células sinoviales adyacentes.

El líquido sinovial se produce por diálisis del plasma a través de la membrana sinovial y la secreción de un complejo ácido hialurónico-proteína. A este infiltrado se añaden solo pequeñas cantidades de proteínas de alto peso molecular, como el fibrinógeno y las globulinas⁹⁹. Las concentraciones de proteínas totales e inmunoglobulinas en el líquido sinovial son aproximadamente de un tercio a la mitad del plasma, mientras que la glucosa y el ácido úrico son comparables a los del plasma (cuadro 2.3.3).

El ácido hialurónico es un polímero compuesto de repetidas unidades de disacáridos (ácido glucorónico-glucosamina). Su peso molecular varía desde 5 a 10 millones de Daltons en función al grado de polimerización, y está unido con aproximadamente el 2% de proteínas. Aún las grandes articulaciones contienen solo de 0.1 a 20 mL de líquido sinovial, por lo que hay "punciones secas" y en condiciones normales se recogen muestras de 5 a 10 mL en tubos heparinizados estériles para el examen microbiológico, de 1 a 5 mL en un segundo tubo heparinado para el examen microscópico (los oxalatos, la heparina de litio y el E.D.T.A. originan artefactos de interferencia) y el líquido adicional se coloca en un tubo ordinario (sin anticoagulante) según se requiera para otros estudios. El líquido sinovial normal tiene escaso contenido de fibrinógeno, por lo que no coagula, de cualquier forma, el paso inicial del examen microscópico es medir el volumen total y la viscosidad del líquido, estos registros se efectúan al momento de la toma de producto, y la viscosidad puede evaluarse permitiendo que se forme una ristra cuando el líquido gotea de la jeringa terminando de extraer la aguja. El líquido sinovial normal forma una ristra de 4 a 6 cm de longitud, si esta se rompe antes de alcanzar los 3 cm, la viscosidad se encuentra más baja de lo normal¹⁰⁰. La baja viscosidad se asocia con procesos inflamatorios que conducen a la despolimerización del ácido hialurónico. Estos incluyen la artritis séptica, la gotosa y la reumatoide. También puede disminuirse por dilución del ácido hialurónico por un rápido derrame tras un traumatismo. Dado a la inespecificidad de la reducción en la viscosidad, no se hace necesario repetir dicha medición en el laboratorio.

2.2 Evaluación organoléptica.

El aspecto y el color del líquido cefalorraquídeo sinovial normal son cristalinos y amarillos pálidos; debe observarse en un tubo transparente contra un fondo blanco.

La turbidez puede deberse a leucocitosis, un número masivo de cristales (en la artritis crónica se producen cristales de colesterol), gotitas de grasa, fibrina o coágulos de células sinoviales en degeneración, que producen agregados hísticos que flotan libremente¹⁰⁰.

Puede producirse un líquido hemático, en caso de fractura a través de la superficie articular, si hay un tumor que afecte la articulación, en la artritis traumática, en la artropatía neurogénica, en la artritis hemofílica o en la sinovitis vellonodular pigmentada. En ocasiones puede presentarse un líquido sanguinolento en la artritis séptica, en la artritis reumatoide o en la artrosis.

Una punción traumática puede identificarse mediante:

1. Cantidades decrecientes de sangre a medida que continua la aspiración (la sangre excepcionalmente puede aparecer a medida que los tejidos son traumatizados durante la aspiración)
2. La distribución poco uniforme con aspecto veteado en la jeringa.

A pesar de que la xantocromía resulta difícil de evaluar debido al aspecto amarillento del líquido sinovial normal, un sobrenadante rojo oscuro o pardo oscuro es una prueba de hemartrosis antes que una punción traumática.

Un líquido purulento se puede observar en diversas infecciones bacterianas; sin embargo, el aspecto del líquido sinovial puede ser normal durante los estadios precoces de la infección.

Un líquido lechoso o "pseudoquitoso" puede apreciarse en la artritis tuberculosa, la artritis reumatoide crónica o la séptica por *H. Influenzae* puede aparecer un líquido verdoso, así como en la artritis reumatoide crónica y en la sinovitis aguda debida a gota o pseudogota.

2.3 Alteraciones relevantes de parámetros.

Antiguamente, los hallazgos del líquido sinovial se habían clasificado en "tipos de reacción", como se muestra en el cuadro 2.3.1.

Clasificación de los hallazgos del líquido sinovial					
	<u>Normal</u>	<u>No inflamatorio (grupo I)</u>	<u>Inflamatorio leve (grupo II)</u>	<u>Inflamatorio intenso (grupo III)</u>	<u>Séptico (grupo IV)</u>
Aspecto	Amarillo claro	Amarillo claro	Amarillo claro o ligera turbidez	Turbio	Turbio a purulento
Viscosidad	Alta	Alta	Disminuida	Disminuida	Disminuida
Leucocitos/MI	0 – 200	200 - 2,000	2,000 - 5,000	5,000 - 50,000	> 50,000
Glucosa (diferencia sangre-líquido sinovial mg/dl)	0 – 10	0 - 10	0 - 20	0 - 40	20 - 100

Cuadro 2.3.1. Clasificación de hallazgos en líquido sinovial¹⁰¹.

Los *derrames no inflamatorios* (grupo I) presentan característicamente recuentos leucocitarios por debajo de 2000 / μ L, con porcentaje de neutrófilos inferior al 25%. Los procesos típicos asociados con derrames del grupo I incluyen artrosis, artritis traumática, y patología articular neurógena. En ocasiones pueden presentarse hallazgos similares en la fiebre reumática leve, en el lupus eritematoso sistémico o en la primera fase de la infección bacteriana. Con el examen mediante microscopio de contraste de fase, en la artrosis, en la artritis traumática o en la enfermedad articular neurógena pueden observarse fibrillas de colágeno, fragmentos de cartílago o ambos.

Los *derrames inflamatorios leves* (grupo II) característicamente tienen recuentos leucocitarios en líquido sinovial por debajo de 5000 / μ L y un porcentaje de neutrófilos inferior al 50%. Estos pueden producirse en la fase inicial de la fiebre reumática, en la fase inicial del lupus eritematoso sistémico, en la fase inicial de las infecciones bacterianas y en las artritis que acompañan enfermedades sistémicas, como la colitis ulcerosa, la enteritis regional o la psoriasis.

Los *derrames inflamatorios intensos* (grupo III) de forma característica tienen recuentos leucocitarios de líquido sinovial de hasta 50,000, con hasta el 90% de neutrófilos ⁽¹⁰¹⁾. Las causas incluyen la infección bacteriana, la gota, la pseudogota y la artritis reumatoide.

Los *derrames sépticos* (grupo IV) de manera característica tienen recuentos leucocitarios que superan los 50,000/ μ L, con más del 90% de neutrófilos.

Los *derrames hemorrágicos* en ocasiones se consideran un quinto tipo de reacción. Pueden asociarse con traumatismos, fracturas, articulación neurógena, tumores (en particular el hemangioma), sinovitis vellonodular pigmentada, diátesis hemorrágicas o artritis séptica ¹⁰¹.

Es importante recordar que en la misma articulación pueden existir diversos procesos al mismo tiempo: por ejemplo, una artritis séptica y un lupus eritematoso; una artritis séptica y una pseudogota; una artritis séptica y una gota; una gota y una artritis reumatoide, y una artritis séptica y una artritis reumatoide ¹⁰². Asimismo pueden producirse diferentes tipos de cristales en la misma muestra ¹⁰³: cristales de ácido úrico y pirofosfato; cristales de hidroxapatita y pirofosfato, y cristales de ácido úrico e hidroxapatita.

En todos los pacientes con derrames monoarticulares debe considerarse la posibilidad de infección bacteriana (p. Ej., artritis tuberculosa o artritis gonocócica). Las aspiraciones repetidas, los estudios radiológicos de repetición e incluso una biopsia sinovial pueden estar indicados en caso de dudas diagnósticas y ante evidencia clínica de progresión de la enfermedad.

Celularidad.

El límite superior normal para el recuento de leucocitos es de 200/ μ L ¹⁰⁰, dado que puede existir degradación leucocitaria tras 1 h de haberse recogido la muestra ¹⁰⁴, los recuentos deben efectuarse de inmediato.

Una aplicación del recuento leucocitario en líquido sinovial es el diagnóstico de la artritis bacteriana. A pesar de que la artritis séptica a menudo se asocia con leucocitos en más de 20,000/ μ L (al igual que para la gota aguda por ácido úrico o la artritis reumatoide), en la fase temprana de la artritis bacteriana provocada por infecciones gonocócicas son frecuentes los

recuentos leucocitarios bajos^{105,106}, por todo ello, el recuento leucocitario tiene un valor diagnóstico muy limitado.

La preservación de la morfología celular del líquido sinovial se ha observado mucho mejor mediante el proceso de citocentrifugación que por la realizada regularmente¹⁰⁷, y la digestión por hialuronidasa se hace necesaria para muestras muy viscosas¹⁰⁸, aunque deben prepararse extensiones lo más pronto posible a la recepción de la muestra.

El líquido sinovial normal contiene alrededor de un 65% de fagocitos mononucleares (monocitos e histiocitos) aproximadamente un 15% de linfocitos y como un 20% de neutrófilos^{100,101}. Los recuentos diferenciales de líquido sinovial poseen un valor limitado, debido a la notable diferencia existente interlaboratorios¹⁰⁴. La neutrofilia del líquido sinovial (>80%) se asocia con artritis bacteriana, gota por ácido úrico y artritis reumatoide, aunque en esta última se observe un elevado porcentaje de linfocitos (en ocasiones reactivos con aspecto de linfoblastos o de células de Sézary^{109,110}).

La eosinofilia del líquido sinovial (>2% de leucocitos totales) se ha mencionado en el carcinoma metastásico, la fiebre reumática aguda, la artritis reumatoide, en la infestación por *Dranunculus medinensis*, en la enfermedad de Lyme y en la artritis reactiva asociada a la infestación por *Strogyloides*, tras artrografía y radioterapia^{111,112,113}.

La formación de células LE puede producirse como un fenómeno *in vivo*¹¹⁴, algunos pacientes con artritis reumatoide, también presentan células LE, en la artrosis pueden producirse células cartilaginosas multinucleadas^{115,116} y finalmente en la sinovitis vellonodular pigmentada existen células gigantes por cuerpo extraño con hemosiderina y agregados capilares de células sinoviales.

Presentación de cristales

Los dos aspectos más importantes del examen de líquido sinovial son la búsqueda de cristales y el estudio microbiológico, que incluye la tinción de Gram.

Cinco tipos de cristales endógenos pueden precipitar en las articulaciones y alrededor de éstas produciendo síntomas de artritis clínica^{117,118,119}.

- Urato monosódico
- Pirofosfato cálcico
- Hidroxiapatita
- Lípidos
- Oxalato cálcico

Los procesos clínicos correspondientes se denominan gota por ácido úrico, gota por pirofosfatos, gota por hidroxiapatita, gota por lípidos y gota por oxalatos (Cuadro 2.3.2).

Procesos clínicos provocados por cristales endógenos	
<i>Proceso clínico</i>	<i>Cristal</i>
Gota por ácido úrico	Urato monosódico-monohidratado
Gota por pirofosfatos	Pirofosfato cálcico-dihidratado
Gota por hidroxiapatita	Fosfatos cálcicos básicos
Gota por lípidos	Lípidos
Gota por oxalatos	Oxalato cálcico-monohidratado; Oxalato cálcico-dihidratado

Cuadro 2.3.2. Procesos clínicos provocados por procesos endógenos¹¹⁷.

Los cristales exógenos también pueden provocar síntomas de artritis clínica: el polvo de los guantes introducido durante la cirugía articular o la inyección intraarticular de soluciones cristalinas de corticoides. Exceptuando el caso de la hidroxiapatita, que puede requerir técnicas especiales de detección, los restantes pueden identificarse por microscopía de luz polarizada, aunque no se recomienda el uso de microscopios simples adaptados con un par de discos polarizados con una cinta de papel celofán transparente¹²⁰. La búsqueda de cristales debe realizarse a partir de una preparación en fresco tanto con luz de contraste de fases como luz polarizada procurando limpiar el portaobjetos y el cubreobjetos con alcohol o acetona justo antes de realizar el examen para eliminar las partículas de polvo birrefringentes que ocasionan la presencia de artefactos confusos,

así también se debe procurar su secado cuidadosamente con un papel para lentes o una gasa que no deje residuos.

Los cristales de *urato monosódico* (UMS) aparecen como bastones birrefringentes o agujas bajo de 5 a 20M de longitud bajo luz polarizada. Para este análisis debe emplearse un portaobjetos control con cristales conocidos de UMS, y además buscar cristales intracelulares indicativos de la gota aguda por ácido úrico (encontrándose en el 90%¹¹⁹ de los pacientes con este padecimiento).

El UMS también puede observarse en pacientes con gota por ácido úrico más artritis séptica¹¹⁹, no excluyendo por esto a la artritis bacteriana.

Los cristales de *pirofosfato cálcico dihidratado* (CPPD) se observan en pacientes con artrosis y procesos asociados con hipotiroidismo, hiperparatiroidismo, hemocromatosis¹¹⁸, y otros procesos característicos de un grupo denominado "gota por pirofosfatos" o "enfermedad por depósito de cristales de CPPD". Este tipo de cristales aparecen como bastones birrefringentes, rectángulos o rombos de 1 a 20 μ de longitud por hasta 4 μ de amplitud.

Algunos corticoides de inyección intraarticular pueden llegar a confundirse con cristales de CPPD¹²¹, al igual que los cristales de colesterol en derrames crónicos.

Los cristales de *hidroxiapatita* (HA) sirven como prototipo de diversos fosfatos cálcicos básicos, y aunque su detección es muy difícil debido a que no son birrefringentes y de muy pequeñas dimensiones, se puede hacer patente su presencia por agregados microesferoidales que van de 1 a 50 μ de diámetro. Para demostrar la presencia de este tipo de cristales, generalmente se recurre a pruebas especiales como la electromicroscopía analítica¹¹⁹. Estos cristales se asocian a patologías como la artrosis y el síndrome del "hombre de Milwaukee"¹¹⁸.

Los cristales de *lípidos* se han relacionado con la artritis aguda^{118,122} y muestran refringencia con aspecto de cruz de Malta, al contrario de otras partículas lipídicas no birrefringentes.

Los cristales de *oxalato de calcio* se observan en pacientes sometidos a diálisis renal crónica^{118,123} y en un error congénito del metabolismo poco frecuente denominado oxalosis primaria. Pueden presentarse síntomas articulares agudos, subagudos o crónicos por la presencia de los cristales en los fagocitos del líquido sinovial. El oxalato de calcio dihidratado se presenta característicamente

en una forma bipiramidal que se identifica fácilmente por contraste de fase, por otra parte, la forma monohidratada se presenta birrefringente, pero sin aspecto característico.

Los *polvos de los guantes* introducidos por alguna cirugía articular se asemejan a los cristales de *lípidos* teniendo de 5 a 10 μ ^{115,121}.

Los cristales de *corticoides* pueden ser idénticos en apariencia al UMS o CPPD, también pudiendo aparecer como bastones cortos, laminas, fragmentos o agregados¹²⁴ y pueden persistir durante varios meses tras la inyección intraarticular.

Las *fibrillas de colágeno* y las *hebras de fibrina* pueden parecerse a los cristales de UMS con el microscopio de luz ordinaria midiendo de 2 a 100 μ de longitud, sin embargo, bajo luz polarizada no observan refringencia o apenas la demuestran. Para distinguir definitivamente las *fibrillas de colágeno* de las *hebras de fibrina* se hace absolutamente necesaria la microscopía electrónica.

Los *fragmentos de cartílago* pueden tener birrefringencia bajo luz polarizada, pero a diferencia de los UMS y/o los CPPD, no presentan márgenes paralelos y se asocian a las artrosis o las artritis traumáticas. Los cristales de *colesterol*, característicamente aparecen como láminas birrefringentes irregulares a menudo presentando márgenes con muescas, no obstante en los derrames crónicos pueden aparecer como largas agujas birrefringentes o como rombos semejantes a los de UMS o CPPD¹²⁵. Estos derrames crónicos pueden deberse a una artritis tuberculosa o reumatoide.

Ensayos químicos.

El análisis químico "de rutina" del líquido sinovial puede verse obstaculizado por una elevada viscosidad¹²⁶, que puede ser controlada mediante digestión con hialuronidasa previa al análisis^{101 108}.

El cuadro 2.3.3 nos muestra un panorama del estado normal de los constituyentes del líquido sinovial para abordar con mejor visión cada una de las pruebas a mencionar.

Intervalos de referencia de los constituyentes del líquido sinovial		
	Líquido sinovial	Plasma
1) Proteínas	1 - 3 g/dL	6 - 8 g/dL
Albúmina	55 - 70 %	50 - 65 %
a - Globulina	06 - 08 %	03 - 05 %
a ₂ - Globulina	05 - 07 %	07 - 13%
B- Globulina	08 - 10 %	08 - 14 %
G - Globulina	10 - 14 %	12 - 22 %
2) Acido hialurónico	0.3 - 0.4 g/dL	
3) Glucosa	070 - 110 mg/dL	070 - 110 mg/dL
4) Acido úrico	002 - 008 mg/dL	002 - 008 mg/dL

Cuadro 2.3.3. Constituyentes del líquido sinovial en condiciones de normalidad¹²⁶.

A) Prueba de coagulación de mucina.

La adición de ácido acético al líquido sinovial provoca un coágulo de mucina calificable como "adecuado", "leve" o "insuficiente". Un coágulo de "leve" a "insuficiente" refleja la despolarización del ácido hialurónico indicativa de muchos tipos de artritis inflamatoria^{100,101}. Esta prueba pocas veces trasciende sobre cambios en el diagnóstico o tratamiento del paciente^{127,128}, esencialmente aporta la misma información que la viscosidad del líquido sinovial, pudiéndose omitir del análisis de rutina.

B) Glucosa.

Su valor va de 0 a 10 mg/dL más baja que en el plasma, pues el equilibrio entre ambos medios es lento, en condiciones ideales, la muestra de sangre y de líquido sinovial deben obtenerse tras un ayuno de por lo menos 6 hs, sin embargo en la práctica, pocas veces se observa esto^{100,101}.

Unos niveles de glucosa en líquido sinovial disminuidos pueden definirse como :

1. Glucosa en líquido sinovial menor de 40 mg/dL
2. Diferencia plasma-líquido sinovial mayor de 10 mg/dL

En aproximadamente el 50% de pacientes con artritis bacteriana¹⁰⁶, que incluye la artritis tuberculosa¹²⁹, se encuentra una disminución de la glucosa en el líquido sinovial. No obstante, esta disminución también es frecuente en las alteraciones inflamatorias no sépticas, como la artritis reumatoide. La actividad glucolítica de los leucocitos en líquido sinoviales con alto contenido celular puede producir un falso descenso de la glucosa si la determinación no se realiza al cabo de 1 h¹³⁰.

C) Proteínas.

Las proteínas totales en el líquido sinovial se ven aumentadas por numerosos procesos, incluyendo a la artritis reumatoide, la gota y la artritis séptica. Esto se debe muy probablemente a un aumento de la permeabilidad vascular, aunado a un aumento en la síntesis de inmunoglobulinas dentro de la membrana sinovial. Por ende las determinaciones de este tipo casi nunca trascienden sobre el diagnóstico, tratamiento o resultado de los pacientes¹²⁸. Las proteínas totales y el proteinograma electroforético apenas parecen tener valor en el diagnóstico diferencial.

D) Enzimas.

A pesar de que algunos estudios sugieren de que el aumento de la lactato deshidrogenasa en líquido sinovial podría contribuir al diagnóstico diferencial¹⁰⁸, estas determinaciones parecen tener muy poco valor clínico.

E) Ácido úrico.

Algunos informes iniciales sugirieron que las determinaciones de ácido úrico en líquido sinovial tendrían utilidad en el diagnóstico de la gota, no obstante, la posterior experiencia sugiere que carecen de valor clínico^{100,131}.

F) Lactato.

Diversas observaciones sugieren que la determinación de lactato en el líquido sinovial puede favorecer el diagnóstico diferencial del artritis séptica, a pesar del hecho de que en la infección gonocócica, el lactato a menudo es normal^{130,132,133,134}. El aumento del lactato, asociado a artritis séptica, probablemente representa un hallazgo inespecífico, debido a la glucólisis anaerobia asociada a procesos inflamatorios graves. La artritis reumatoide también es asociada a un

aumento del lactato^{135,136,137}, aunque el valor de la medición, no está establecido para su utilización clínica rutinaria.

Ensayos inmunológicos.

A)Medición de inmunoglobulinas.

La concentración de inmunoglobulinas en el líquido sinovial es inferior a la del plasma, sin embargo, estos valores se asemejan durante la artritis reumatoide, lo que probablemente está relacionado a un aumento en la síntesis local de inmunoglobulinas.

B)Factor reumatoide.

Esta prueba puede detectarse en alrededor del 60% de los pacientes con artritis reumatoide, sin embargo, es inespecífico y la determinación de rutina apenas tiene valor^{100,108,127}.

C)Anticuerpos antinucleares.

De pacientes cursantes con Lupus eritematoso sistémico se han comprobado anticuerpos antinucleares en el 70% de pacientes, y en un 20% que cursan con artritis reumatoide¹⁰¹. Sin embargo este hallazgo tiene poco valor clínico.

D)Determinación del complemento.

En líquido sinovial esta determinación tuvo su máximo interés en la década de los setenta, pues una disminución del complemento en este medio se observó en aproximadamente un 80% de pacientes seropositivos con artritis reumatoide (factor reumatoide presente en el suero) y en el 40% de seronegativos. Sin embargo también se observa una disminución del complemento en el líquido sinovial en un 80% de pacientes con lupus sistémico, así como en algunos con fiebre reumática, artritis bacteriana, gota, pseudogota y otros tipos de artritis inflamatoria.

Por ende, las determinaciones de la disminución del complemento en líquido sinovial apenas tienen valor en la atención médica al paciente^{100,108,128}.

2.4 Estudios microbiológicos.

La tinción de Gram debe realizarse como parte de la valoración de rutina del líquido sinovial, la sensibilidad varía dependiendo de la etiología de la artritis séptica.

La tinción de Gram es positiva en alrededor del 75% de los pacientes con infecciones estafilocócicas, del 50% para pacientes con artritis séptica por bacilos gramnegativos y en menos del 25% con artritis gonocócica¹⁰⁶.

La tinción de Ziehl-Neelsen debe llevarse a cabo bajo la sospecha de artritis tuberculosa, sin embargo su sensibilidad es de solo el 20%¹²⁹. Para un diagnóstico rápido se ha recomendado la biopsia sinovial para evitar el retraso de 4 a 6 semanas que requieren los resultados de los cultivos.

Los cultivos de líquido sinovial son positivos en la mayoría de pacientes con artritis bacteriana no gonocócica. Sin embargo, *N. Gonorrhoeae* se obtiene en menos del 50% de articulaciones purulentas de pacientes con infección gonocócica diseminada¹⁰⁶. Asimismo, los cultivos suelen ser negativos en pacientes con infecciones por *Yersinia*¹³⁸. Los cultivos de *M.tuberculosis* son positivos en el 80% de pacientes con artritis tuberculosa¹²⁹. Si los hallazgos clínicos son característicos de artritis tuberculosa. Debe iniciarse el tratamiento antes de que se disponga de los datos del cultivo.

3. *Líquido pleural.*

3.1 Naturaleza del líquido.

Los movimientos interpleurales desarrollan constantemente determinada fricción en las capas de la pleura, esto origina que se requiera un medio que difunda el calor generado y evite el desgaste de una contra la otra, por lo lógica este medio requerirá de mayor espacio intermolecular que permita discipar

2.4 Estudios microbiológicos.

La tinción de Gram debe realizarse como parte de la valoración de rutina del líquido sinovial, la sensibilidad varía dependiendo de la etiología de la artritis séptica.

La tinción de Gram es positiva en alrededor del 75% de los pacientes con infecciones estafilocócicas, del 50% para pacientes con artritis séptica por bacilos gramnegativos y en menos del 25% con artritis gonocócica¹⁰⁶.

La tinción de Ziehl-Neelsen debe llevarse a cabo bajo la sospecha de artritis tuberculosa, sin embargo su sensibilidad es de solo el 20%¹²⁹. Para un diagnóstico rápido se ha recomendado la biopsia sinovial para evitar el retraso de 4 a 6 semanas que requieren los resultados de los cultivos.

Los cultivos de líquido sinovial son positivos en la mayoría de pacientes con artritis bacteriana no gonocócica. Sin embargo, *N. Gonorrhoeae* se obtiene en menos del 50% de articulaciones purulentas de pacientes con infección gonocócica diseminada¹⁰⁶. Asimismo, los cultivos suelen ser negativos en cientos con infecciones por *Yersinia*¹³⁸. Los cultivos de *M.tuberculosis* son positivos en el 80% de pacientes con artritis tuberculosa¹²⁹. Si los hallazgos clínicos son característicos de artritis tuberculosa. Debe iniciarse el tratamiento antes de que se disponga de los datos del cultivo.

3. *Líquido pleural.*

3.1 Naturaleza del líquido.

Los movimientos interpleurales desarrollan constantemente determinada fricción en las capas de la pleura, esto origina que se requiera un medio que difunda el calor generado y evite el desgaste de una contra la otra, por lo lógica este medio requerirá de mayor espacio intermolecular que permita discipar

energía, esto es, un medio líquido. Se ha estimado que la cantidad de líquido es de 1 a 15mL y está producido por la pleura parietal y absorbido por la pleura visceral según un proceso continuo.

El líquido pleural es formado por filtración plasmática a través del endotelio capilar, a una velocidad controlada por la presión capilar, la presión osmótica plasmática y la permeabilidad capilar. La reabsorción se efectúa a través de los capilares de los linfáticos en la pleura visceral. Las proteínas no se reabsorben a través de los capilares vasculares, sino a través de los linfáticos¹³⁹.

Durante la formación del líquido pleural, las proteínas difunden a velocidades que dependen del tamaño y de la estructura molecular.

Comparado con el plasma, el líquido pleural presenta un patrón electroforético de un aumento en la proporción de albúmina, aunque con una disminución de la β -globulina y del fibrinógeno.

A pesar de que el líquido pleural normal no coagula, las muestras deben ser recogidas en tubos heparinizados, ya que los líquidos patológicos contienen fibrinógeno que puede ocasionar su coagulación.

Las acumulaciones de líquido en el espacio pleural se denominan derrames. Los trasudados son acumulaciones de líquido por un aumento en la presión hidrostática de los capilares pleurales o por una disminución de la presión oncótica plasmática.

Las causas incluyen la insuficiencia cardíaca congestiva, la cirrosis hepática y el síndrome nefrótico.

Los exudados pueden estar causados por un aumento de la permeabilidad capilar o una disminución en la reabsorción linfática. Las causas que influyen en la aparición de los exudados incluyen las infecciones pleurales las neoplasias y los procesos inflamatorios no sépticos como la enfermedad reumática (cuadro 3.1.1).

Clasificación de los derrames pleurales		
<i>Trasudados:</i> Aumento de la presión hidrostática o disminución de presión oncótica en plasma	<i>Exudados:</i> Aumento de la permeabilidad capilar o disminución de la reabsorción linfática	<i>Líquido de origen extrapleural</i>
Insuficiencia cardíaca congestiva	Infecciones (Tuberculosis con alto porcentaje de linfocitos, Neumonía bacteriana, Neumonía vírica o por micoplasmas)	Pancreatitis (aumento de la actividad amilasa en el líquido de derrame)
Cirrosis hepática	Neoplasias (Carcinoma broncogénico, Carcinoma metastásico, Linfoma, Mesotelioma con aumento de ácido hialurónico en el líquido de derrame)	Rotura esofágica (aumento de la actividad amilasa y pH bajo)
Hipoproteinemia (p. ej., síndrome nefrótico)	Infarto pulmonar (puede asociarse con derrame hemorrágico)	
	Transtorno inflamatorio no infeccioso con afectación de la pleura (Enfermedad reumática con su habitual glucosa baja o Lupus eritematoso sistémico con células LE ocasionales)	

Cuadro 3.1.1. Clasificación de los derrames pleurales¹⁴⁰.

Clásicamente las proteínas del líquido pleural se utilizan para distinguir los trasudados de los exudados. La concentración normal del líquido pleural es de 1- 2 g/dL. Los líquidos con valores superiores a los 3 g/dL a menudo se son considerados exudados y aquellos por debajo de dicho valor son considerados trasudados.

Los siguientes criterios para definir un exudado son los siguientes¹⁴⁰:

1. Cociente de proteínas del líquido pleural/sérico mayor de 0.5
2. LDH (lactato-deshidrogenasa) en líquido pleural mayor de 200U (límite superior de lo normal en suero igual a 300U) un coiente de líquido pleural/sérico mayor de 0.6.

En un estudio más reciente, se propone que el colesterol puede distinguir los trasudados de los exudados¹⁴¹.

Los líquidos con un colesterol mayor de 60mg/dL o un cociente de colesterol en líquido pleural/sérico mayor de 0.3 se consideran exudados.

Hasta la actualidad no existe un conjunto de criterios único que separe los exudados de los trasudados en todos los pacientes.

3.2 Evaluación organoléptica.

En general los trasudados se presentan como líquidos claros amarillo pálido que no coagulan, presentando sangre del 10 al 25% con recuentos hemáticos de más de 10,000/ μ L¹⁴⁰.

Para distinguir una punción traumática de un derrame hemorrágico habrá que evaluar la distribución de la sangre en el líquido, un derrame presenta una distribución uniforme, y una punción traumática se aclara gradualmente al proseguir con la aspiración y puede formar pequeños coágulos. Un líquido opaco o turbio puede deberse a grandes cantidades de leucocitos, asociados con una inflamación séptica o no séptica, como infección bacteriana, tuberculosis, enfermedad reumática o fiebre reumática.

Un líquido "lechoso" es característico de los derrames quilosos o pseudoquilosos.

Los derrames quilosos verdaderos están provocados por la lesión u obstrucción del conducto tráquico con extravasación del quilo en la cavidad pleural (o peritoneal).

Los derrames pseudoquilosos están causados por la rotura de lípidos celulares en los derrames crónicos.

Los criterios del diagnóstico diferencial se exponen en el cuadro 3.2.1^{142,143}. También se han expuesto técnicas de tinción lipofílica¹⁴⁴ aunque pocas veces se utilizan.

Derrames quilosos y pseudoquilosos		
	<u><i>Derrame quiloso</i></u>	<u><i>Derrame pseudoquitoso</i></u>
Aspecto	Lechoso, al levantarlo puede formar una capa cremosa	Lechoso, verdoso o semejante a purpurina
Examen microscópico	Linfocitos y finas gotitas de grasa	Reacción celular mixta con cristales de colesterol
Triglicéridos	2-8 x triglicéridos séricos	Inferiores a los séricos
Colesterol	Inferior al colesterol sérico	A menudo mayor al sérico
Electroforesis de lipoproteínas	Quilomicrones predominantes	Escasos quilomicrones o ausentes
Ingestión de colorante lipofílico	El colorante aparece en el derrame	El colorante no aparece en el derrame
Cultivo	Siempre estéril	Habitualmente estéril (comprobar tuberculosis u hongos)
Etiología	Lesión u obstrucción torácica	Derrame crónico de cualquier etiología (p. ej., líquido quístico, enfermedad reumática, tuberculosis, mixedema)

Cuadro 3.2.1. Clasificación de derrames de líquido pleural¹⁴².

3.3 Alteraciones relevantes de parámetros.

Celularidad

Los recuentos eritrocitarios apenas tienen valor en el diagnóstico diferencial^{140,145,146}. Los recuentos leucocitarios como se expuso anteriormente se usan para distinguir los trasudados de los exudados según un nivel de punto de corte de 1,000 leucocitos / μ L. Sin embargo existe un solapamiento considerable y esta determinación tiene un valor limitado^{140,146}. Aproximadamente el 90% de derrames por nemonía, infarto pulmonar o pancreatitis causando inflamación aguda, han reportado un predominio de neutrófilos, semejandose a un 10% de trasudados que también presentan elevada proporción de neutrófilos¹⁴⁶. En el 80 al 90% de derrames por tuberculosis, linfoma, quilotórax verdadero, pleuritis reumática, lupus eritematoso sistémico y en los derrames

urémicos se ha iniciado un predominio linfocitario. De todas formas, alrededor del 10% de trasudados también presentan un recacción neutrofílica antes que linfocítica^{140,147,148}.

Los derrames eosinofílicos se caracterizan por presentar eosinófilos en porcentaje mayor al 10% como una reacción inespecífica a la lesión pleural y puede asociarse a diversos procesos como pneumotórax, derrames postoperatorios, derrames postneumonía, traumatismos torácicos cerrados, infarto pulmonar, insuficiencia cardíaca congestiva, derivación ventriculopleural, infecciones micóticas, enfermedades parasitarias, síndromes de hipersensibilidad, lupus eritematoso sistémico, poliarteritis, pleuritis reumática, enfermedad de Hodgkin y mesotelioma^{147,149,150,151}. La formación de células LE *in vivo* no es frecuente, aunque pueden presentarse en el líquido pleural, asociada con un lupus eritematoso diseminado¹⁵².

Ensayos químicos

A) Proteínas.

El hecho de determinar proteínas totales en líquido pleural posee cierto valor de diagnóstico diferencial de los trasudados frente a los exudados. Sin embargo, no son de utilidad procesos más finos de fraccionamiento como la electroforesis u otros métodos.

B) Glucosa.

La glucosa puede verse disminuida en el líquido pleural (menos de 60mg/dL o un cociente pleural/sérico menor de 0.5) por diversos padecimientos, tales como la pleuritis reumática (sensibilidad del 85%), el empiema (sensibilidad del 80%), el derrame neoplásico (sensibilidad del 15 al 30%), en la pleuritis tuberculosa (sensibilidad del 20%) y en la rotura esofágica^{142,155}. Una estimación razonable de la especificidad en un descenso de glucosa en líquido pleural es del 80%.

C) Enzimas.

La *actividad lactato-deshidrogenasa* (LDH) tiene cierto valor en el diagnóstico diferencial de los trasudados con los exudados. Una LDH muy elevada se asocia a un derrame paraneumónico complicado, con la pleuritis reumática y con algunos derrames malignos^{140,153}. El término derrame

paraneumónico se refiere a los exudados debidos a neumonía o a absceso pulmonar. Los derrames paraneumónicos complicados son tabicados o están asociados con un empiema.

La *actividad amilasa* se eleva (aproximadamente al doble que la sérica) en la pancreatitis aguda, en el pseudoquiste pancreático y en la rotura esofágica^{140,153}. Una estimación razonable de sensibilidad se sitúa entre el 80 y 90%. Alrededor del 10% de los derrames neoplásicos presentan un aumento de la actividad amilasa.

D) pH.

La combinación entre un pH bajo (menor a 7.3) y un abatimiento de glucosa es indicativo de un derrame paraneumónico complicado^{140,154,155}. Un pH aún más bajo (menor de 6.3) indica rotura esofágica, aunque también en casos de empiema grave^{155,156}.

La combinación de un pH bajo y un cociente de creatinina mayor a la unidad, se ha observado en el urotórax, una causa excepcional de derrames pleurales asociados con obstrucción del tracto urinario¹⁵⁷. Presumiblemente, la orina drena por acumulación en el espacio perirrenal hasta el espacio pleural por vía linfática. Estos líquidos tienen una disminución de proteínas característica de los trasudados. Otras causas de disminución del pH incluyen la artritis reumatoide, los tumores malignos, la tuberculosis, la pleuritis lúpica, el hemotórax y el pseudoquiste pancreático^{155,158,159,160}.

Las muestras del líquido para las determinaciones de pH deben recogerse en forma anaerobia en jeringas heparinizadas, colocadas en hielo y el pH debe medirse con la misma precaución que al determinar un gas en sangre arterial. Puesto que la glucosa y el pH pueden ser relativamente normales en las fases tempranas de los derrames paraneumónicos, debe ser necesaria la toracocentesis de repetición para identificar el descenso de la glucosa y del pH, a medida que se desarrolla el empiema o la tabicación.

E) Lactato

La aplicación del lactato en el líquido pleural es el diagnóstico de derrames debidos a infección bacteriana o tuberculosa^{161 162}. De todos modos, el lactato en líquido pleural también puede encontrarse elevado en otros procesos, como la enfermedad reumática. Utilizando 6 mmol/L como

punto de corte, un estimación razonable de sensibilidad se sitúa alrededor del 80 al 90%. Con el mismo punto de corte, una estimación razonable de especificidad sería del 50% para "los diversos derrames pleurales" y del 90% para los trasudados debidos a insuficiencia cardíaca congestiva.

F) Marcadores tumorales

El *antígeno carcinoembrionario* (CEA) en el líquido pleural tiene una sensibilidad aproximada del 60 al 70% para las neoplasias pulmonares y del 40 al 50% para otras neoplasias a un punto de corte de 5 mg/mL^{163,164,165}. Una estimación razonable de especificidad con este mismo punto de corte sería del 90%.

G) Lípidos

Las determinaciones de los lípidos son útiles para el diagnóstico diferencial del quilotórax frente al derrame pseudoquiloso (cuadro 3.2.1). Unos niveles de triglicéridos elevados con la presencia de quilomocrones en la electroforesis lipoproteica, son carcterísticos del derrame quiloso.

Los líquidos pseudoquilosos tienen unos niveles de triglicéridos inferiores a 50 mg/dL con ausencia de quilomicrones en la electroforesis lipoproteica. Para distinguir los trasudados de los exudados se ha propuesto la medición de colesterol con un punto de corte de 60 mg/dl¹⁴¹. Se requieren estudios adicionales para valorar esta aplicación de las determinaciones de colesterol.

Ensayos inmunológicos.

A)Factor reumatoide.

El *factor reumatoide* puede encontrarse en los derrames pleurales asociados con enfermedad reumática seropositiva. Sin embargo dado que también se encuentra en el 40% de los derrames paraneumónicos, el 20% de neoplásicos y el 15% de tuberculosos, apenas tiene valor en el diagnóstico diferencial.

B) Complemento.

Una disminución en los niveles de *complemento* puede observarse en los derrames debidos a enfermedad reumática o lupus eritematoso. Sin embargo, estas determinaciones apenas tienen valor en el diagnóstico diferencial¹⁶⁶.

C) Anticuerpos antinucleares.

Los *títulos de anticuerpos antinucleares* se han utilizado para el diagnóstico de los derrames asociados con lupus eritematoso; sin embargo, este hallazgo es inespecífico por que también se producen títulos en otros procesos¹⁵³.

3.4 Estudios microbiológicos.

Las bacterias asociadas con más frecuencia a derrames paraneumónicos son *Staphylococcus aureus*, y especies coliformes. Dado que las bacterias anaerobias pueden observarse en el 35 al 40% de estos derrames, deben llevarse a cabo tanto cultivo de aerobios como anaerobios.

Existen escaso datos sobre la sensibilidad de la tinción de Gram en el diagnóstico. Una estimación razonable de la sensibilidad sería del 50 al 80%¹⁶⁵.

La sensibilidad de las tinciones acido-alcohol-resistentes para la tuberculosis se ha estimado entre un 10 y un 25%¹⁵³. La sensibilidad de los cultivos para las bacterias aerobias y anaerobias no está bien documentada. Una estimación razonable se situaría en el rango del 80%. La sensibilidad del cultivo para la tuberculosis es de tan solo el 30%^{153,167}. Mediante la combinación de biopsia pleural, tinción ácido-alcohol-resistente y cultivo, la sensibilidad puede aumentar hasta el 75-90%. La sensibilidad de la biopsia sola es del 50 al 75%^{154,167,168}.

La equinocosis que afecta el espacio pleural puede diagnosticarse mediante los escólex, identificados por tinción de Papanicolaou o de Wright¹⁶⁹.

4. Líquido pericárdico.

4.1 Naturaleza del líquido.

Suele haber solo una pequeña cantidad de líquido pericárdico, si se aumenta en la cavidad pericárdica, puede deberse a inflamación, tumor o hemorragia. El cuadro 4.1.1 enumera algunas causas frecuentes de derrame pericárdico. El valor de la clasificación de estos derrames como trasudados o exudados no está establecido.

Los *títulos de anticuerpos antinucleares* se han utilizado para el diagnóstico de los derrames asociados con lupus eritematoso; sin embargo, este hallazgo es inespecífico por que también se producen títulos en otros procesos¹⁵³.

3.4 Estudios microbiológicos.

Las bacterias asociadas con más frecuencia a derrames paraneumónicos son *Staphylococcus aureus*, y especies coliformes. Dado que las bacterias anaerobias pueden observarse en el 35 al 40% de estos derrames, deben llevarse a cabo tanto cultivo de aerobios como anaerobios.

Existen escaso datos sobre la sensibilidad de la tinción de Gram en el diagnóstico. Una estimación razonable de la sensibilidad sería del 50 al 80%¹⁶⁵.

La sensibilidad de las tinciones acido-alcohol-resistentes para la tuberculosis se ha estimado entre un 10 y un 25%¹⁵³. La sensibilidad de los cultivos para las bacterias aerobias y anaerobias no está bien documentada. Una estimación razonable se situaría en el rango del 80%. La sensibilidad del cultivo para la tuberculosis es de tan solo el 30%^{153,167}. Mediante la combinación de biopsia pleural, tinción ácido-alcohol-resistente y cultivo, la sensibilidad puede aumentar hasta el 75-90%. La sensibilidad de la biopsia sola es del 50 al 75%^{154,167,168}.

La equinococosis que afecta el espacio pleural puede diagnosticarse mediante los escólex, identificados por tinción de Papanicolaou o de Wright¹⁶⁹.

4. Líquido pericárdico.

4.1 Naturaleza del líquido.

Suele haber solo una pequeña cantidad de líquido pericárdico, si se aumenta en la cavidad pericárdica, puede deberse a inflamación, tumor o hemorragia. El cuadro 4.1.1 enumera algunas causas frecuentes de derrame pericárdico. El valor de la clasificación de estos derrames como trasudados o exudados no está establecido.

Etiología de los derrames pericárdicos						
<i>Infección</i>	<i>Neoplasias</i>	<i>Infarto de miocardio</i>	<i>Hemorragia</i>	<i>Metabólica</i>	<i>Enfermedad reumática</i>	<i>Lupus eritematoso sistémico</i>
Pericarditis bacteriana	Carcinoma metastásico	X	Traumatismos	Uremia	X	X
Tuberculosis	Linfoma	X	Anticoagulantes	Mixedema	X	X
<i>Infección</i>	<i>Neoplasias</i>	<i>Infarto de miocardio</i>	<i>Hemorragia</i>	<i>Metabólica</i>	<i>Enfermedad reumática</i>	<i>Lupus eritematoso sistémico</i>
Pericarditis micótica	X	X	Extravasación de aneurisma aórtico	X	X	X
Pericarditis vírica o por micoplasma	X	X	X	X	X	X

Cuadro 4.1.1. Origen de los derrames pericárdicos.

Fuente¹⁷⁰.

4.2 Evaluación organoléptica.

El líquido pericárdico es claro, de color amarillo pálido y varía entre 10 a 50mL de volúmen. Los derrames hemorrágicos pueden producirse en una amplia variedad de procesos, que incluyen pericarditis hemorrágica idiopática, síndrome del infarto posmiocárdico, síndrome pospericardiectomía, pericarditis tuberculosa, enfermedad reumática, lupus eritematoso sistémico, carcinoma metastásico, pericarditis bacteriana, pericarditis urémica y extravasación de un aneurisma. En el cuadro 4.2.1 se enumeran los criterios para el diagnóstico diferencial entre los derrames hemorrágicos y la aspiración inadvertida de sangre intracardiaca¹⁷⁰. Los derrames con un aspecto lechoso pueden representar líquido quiloso verdadero o pseudoquiloso¹⁷¹.

Diagnóstico diferencial entre derrame pericárdico hemorrágico y aspiración de sangre procedente de la cavidad cardíaca		
	<i>Derrame hemorrágico</i>	<i>Aspiración de sangre</i>
Coágulos	En el tubo no se forman	Habitualmente presentes
PCO ₂	Mayor que venosa o arterial	Comparable a venosa o arterial
PO ₂	Menor que venosa o arterial	Comparable a venosa o arterial
pH	Menor que venoso o arterial	Comparable a venoso o arterial
Hematocrito	Suele ser menor al venoso	Comparable a venoso o arterial

Cuadro 4.2.1. Diagnóstico diferencial entre derrames hemorrágicos y aspiración intracardiaca. Fuente¹⁷⁰.

4.3 Alteraciones relevantes de parámetros.

Celularidad.

El recuento de hematíes y el hematocrito resultan de utilidad para documentar derrames hemorrágicos, pero apenas tienen valor en el diagnóstico diferencial.

El recuento leucocitario total tiene cierto valor en el diagnóstico diferencial. A pesar de que los recuentos leucocitarios de más de 10,000/ μ L, sugieren pericarditis bacteriana, tuberculosa o neoplásica, en estos procesos pueden producirse recuentos leucocitarios bajos¹⁷². Los recuentos diferenciales poseen un valor muy limitado en el diagnóstico diferencial de los derrames pericárdicos. A pesar de que se han descrito células LE en el líquido pericárdico¹⁷³, este hallazgo es poco habitual.

Ensayos químicos.

A) Proteínas.

Las determinaciones de proteínas son de escaso valor en el diagnóstico diferencial de derrames pericárdicos.

B)Glucosa.

La glucosa puede estar asociada a derrames por infección bacteriana, tuberculosa, enfermedad reumática o neoplasias¹⁴⁵, mostrándose abatida (menor a 40mg/dL), sin embargo en el diagnóstico diferencial posee un valor muy limitado.

C)pH.

Un pH marcadamente ácido, de menos de 7.0, puede encontrarse en los derrames purulentos o en la enfermedad reumática¹⁷⁴, algunos derrames hemorrágicos pueden tener un pH bajo. El valor de esta determinación no está muy bien establecido.

D)Lípidos.

Las determinaciones de colesterol y triglicéridos, junto con la electroforesis de las lipoproteínas, pueden ser de utilidad en el diagnóstico diferencial entre los derrames quilosos y los pseudoquilosos como se muestra en el cuadro 3.2.1 de la sección anterior.

Ensayos inmunológicos.

A)Anticuerpos antinucleares.

En los derrames asociados con lupus eritematoso se han descrito títulos elevados de *anticuerpos antinucleares*.

4.4 Estudios microbiológicos.

En la pericarditis bacteriana, unas estimaciones razonables de la sensibilidad de la tinción de Gram y de los cultivos serían del 50 y 80% respectivamente.

En la pericarditis tuberculosa, las sensibilidades de la tinción ácido-alcohol-resistente y del cultivo son de aproximadamente el 50%¹⁷². Sin embargo la pericardiectomía con examen del tejido extirpado durante la cirugía ofrece una sensibilidad mayor al 90%.

5. Líquido peritoneal.

5.1 Naturaleza del líquido.

Como ocurre con el líquido pleural y pericárdico, el líquido peritoneal (líquido ascítico) es un infiltrado del plasma, cuya formación depende del equilibrio entre la presión hidrostática capilar, la presión oncótica plasmática, la permeabilidad capilar y la resorción linfática. En el cuadro 5.1.1 se presentan

algunas causas frecuentes de ascitis.

Etiología de los derrames peritoneales	
<i>Trasudados:</i> aumento de la presión hidrostática o disminución de la presión oncótica plasmática	<ul style="list-style-type: none"> • Insuficiencia cardíaca congestiva • Cirrosis hepática • Hipoproteïnemia (p. ej., síndrome nefrótico)
<i>Exudados:</i> aumento de la fragilidad capilar o disminución de la reabsorción linfática	<ul style="list-style-type: none"> • Peritonitis bacteriana espontánea • Peritonitis bacteriana secundaria • Tuberculosis
<i>Neoplasias</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma metastásico • Mesotelioma • Hepatoma • Linfoma
<i>Traumatismos</i>	
<i>Pancreatitis</i>	
<i>Peritonitis biliar</i>	Perforación de vesícula biliar
<i>Derrame quiloso:</i> alteración u obstrucción del conducto torácico	<ul style="list-style-type: none"> • Infestación parasitaria • Traumatismo • Carcinomas • Linfoma • Tuberculosis

Cuadro 5.1.1. Origen de los derrames peritoneales.

Fuente¹⁷⁵.

Los criterios para distinguir los trasudados de los exudados no están claramente definidos. Algunos autores^{175,176} sugieren el cálculo del gradiente albumina suero-líquido ascítico como albúmina

sérica menos albúmina del líquido ascítico. Los trasudados de forma característica, tiene una albúmina sérica de al menos 1.1 g/dL mayor que la albúmina del líquido ascítico, mientras que los exudados tienen una diferencia menor.

Como ocurre con el líquido pleural, ningún criterio único separa todos los trasudados de todos los exudados en todos los pacientes.

5.2 Evaluación organoléptica.

El líquido peritoneal normal, es claro, de color amarillo pálido y de escasa cantidad (menor a 50mL). Una aspiración con sangre macroscópica o un líquido teñido con sangre debe distinguirse de una punción traumática, la cual presenta aclaramiento al continuar con la aspiración.

Un líquido opaco o turbio puede deberse a un apendicitis, pancreatitis, estrangulación o infarto intestinales, perforación intestinal tras un traumatismo, o peritonitis bacteriana espontánea.

En caso de úlcera duodenal perforada, intestino perforado, colecistitis, perforación de un cálculo biliar y pancreatitis aguda se ha descrito un líquido verdoso¹⁷⁷. A pesar de que un cálculo biliar perforado con una peritonitis biliar puede ser rápidamente fatal, la bilis estéril puede ser muy bien tolerada por algunos pacientes¹⁷⁸.

Un líquido lechoso puede ser debido a un derrame quiloso o pseudoquiloso. Los derrames quilosos verdaderos pueden estar causados por una lesión o un bloqueo del conducto torácico, debido a linfoma, carcinoma, tuberculosis, infestación parasitaria, adherencias o cirrosis hepáticas¹⁷⁹.

Lavado peritoneal.

Una aplicación del lavado peritoneal es la valoración de pacientes con un traumatismo contuso o penetrante del abdomen¹⁸⁰. Si pueden extraerse menos de 15 ml de sangre macroscópica, se realiza el lavado peritoneal mediante infusión de 1L de Ringer lactato (20 mg/kg en niños) con recuperación por gravedad del drenaje. Se realiza un recuento de hematíes y de leucocitos en el líquido del lavado. Puesto que pueden producirse complicaciones, deben considerarse cuidadosamente las indicaciones y las contraindicaciones¹⁸¹.

En el cuadro 5.2.1 se describe un conjunto de criterios estandar para interpretar los resultados.

Algunos autores documentan los resultados no concluyentes como positivos.

Criterios estándar para la evaluación del lavado peritoneal	
<i>Resultado positivo</i>	<i>Resultado negativo</i>
Aspiración de >15mL de sangre macroscópica con la colocación del catéter	Recuento eritrocitario < 50,000/ μ L tras traumatismo contuso
Recuento eritrocitario >100,000/ μ L tras traumatismo contuso	Recuento eritrocitario < 1,000/ μ L tras traumatismo penetrante
Recuento eritrocitario >50,000/ μ L tras traumatismo penetrante	Recuento leucocitario < 100/ μ L
Resultado no concluyente	
Pequeñas cantidades de sangre macroscópica al colocar el catéter	
Recuento eritrocitario 50000-100000/ μ L tras traumatismo contuso	
Recuento eritrocitario 1000-50000/ μ L tras traumatismo contuso	
Recuento leucocitario, 100-500/ μ L	

Cuadro 5.2.1. Criterios estándar para evaluación del lavado peritoneal¹⁸¹.

Las valoraciones adicionales que suelen llevarse a cabo en el líquido del lavado incluyen la amilasa, la bilirrubina, las fosfatasas alcalinas y la tinción de Gram¹⁸², sin embargo estas determinaciones pocas veces proporcionan información de utilidad¹⁸³.

Para la valoración de pacientes traumatizados, algunos clínicos utilizan estimaciones visuales de los eritrocitos en el líquido del lavado. Más de 15 mL en 1L de líquido del lavado produce un líquido rojo brillante, lo suficientemente opaco como para impedir la lectura de un periódico a través del tubo del lavado¹⁸⁴. Esta cantidad de sangre corresponde a un recuento de hematíes de alrededor de 100,000/ μ L, el aspecto macroscópico del líquido "ofrece información inmediata" de utilidad cuando no se dispone de los recuentos de hematíes(cuadro 5.2.2)

Cuantificación visual de sangre en el líquido de lavado peritoneal		
<i>Aspecto del líquido de lavado en el tubo</i>	<i>Aspecto del líquido en el frasco</i>	<i>Cantidad de sangre requerida para producir el aspecto</i>
Sangre macroscópica: opaco	Sangre macroscópica (4+)	> 100 mL/L
Rojo brillante; opaco	Rojo brillante (3+)	15-100 mL/L
Rosado	Rojo brillante (2+)	5-10 mL/L
Claro	Rosado (1+)	1-2 mL/L
Claro	Rosado pálido (indicios)	8 gotas/L
Claro	Claro	0

Cuadro 5.2.2. Cuantificación visual de sangre en lavado peritoneal¹⁸⁶.

La segunda aplicación del lavado peritoneal es la valoración de pacientes con pancreatitis aguda: las determinaciones tanto de amilasa como de lipasa pueden ser de gran utilidad¹⁸⁵.

Una tercera aplicación del lavado peritoneal es la valoración de pacientes con sospecha de peritonitis aguda^{186,187}, empleándose también la aspiración citológica de la cavidad peritoneal con esta finalidad¹⁸⁸.

5.3 Alteraciones relevantes de parámetros.

Celularidad

Para distinguir las ascitis debidas a una cirrosis no complicada de una peritonitis bacteriana espontánea (PBE), causada por el paso de bacterias desde la sangre hasta el líquido ascítico, se ha utilizado el recuento leucocitario total. Aproximadamente el 90% de pacientes con una PBE tienen un recuento leucocitario en líquido ascítico de más de 500/ μ L, con más del 50% de neutrófilos^{188,189}. Una estimación razonable de especificidad con este punto de corte es de 90%. Los recuentos de neutrófilos absolutos se han utilizado con un punto de corte de 240 a 500 neutrófilos/ μ L para el diagnóstico de la PBE. La sensibilidad y la especificidad se sitúan en el 90%¹⁹⁰.

El recuento leucocitario del líquido ascítico puede cambiar intensamente debido a desviaciones del líquido extracelular¹⁹¹, durante la diuresis, el recuento leucocitario del líquido ascítico puede aumentar desde menos de 300/ μ L hasta más de 1,000/ μ L. La diuresis también puede producir cambios en el gradiente albúmina sérica-líquido ascítico.

La eosinofilia en líquido peritoneal no es frecuente aunque se reportado asociada con insuficiencia cardíaca congestiva, diálisis peritoneal crónica, vasculitis, linfoma abdominal y rotura de un quiste hidatídico¹⁹². En algunos pacientes se han encontrado células LE en el líquido peritoneal¹⁹³.

Ensayos químicos.

A) Proteínas.

Como se ha expuesto previamente, el gradiente albúmina sérica-líquido ascítico puede ser útil para clasificar los derrames peritoneales como trasudados o exudados^{175,176}. No obstante, en la PBE la concentración de proteínas del líquido ascítico puede ser relativamente baja y esta clasificación posee un valor limitado¹⁹⁴. Asimismo, la concentración de proteínas del líquido ascítico puede modificarse intensamente por cambios en el líquido extracelular, asociados con formación o reabsorción de líquido ascítico¹⁹¹.

B) Glucosa.

Del 30 a 50% de pacientes con peritonitis tuberculosa muestran glucosas en líquido ascítico menores a los 60 mg/mL, al igual que el 50% de pacientes con carcinomatosis peritoneal^{194,195}. Un cociente de glucosa en líquido ascítico sérico inferior a 1.0 puede producirse en el 70 a 80% de pacientes con PBE y alrededor del 30% de los trasudados del líquido ascítico¹⁹⁶. Dadas sus bajas sensibilidad y especificidad, la determinación de la glucosa en líquido ascítico posee un valor muy limitado.

C) Enzimas

La actividad *amilasa* en líquido ascítico está elevada en más del 90% de pacientes con pancreatitis aguda, traumatismo pancreático o pseudoquiste pancreático¹⁹⁷. En estos pacientes, el cociente de amilasa en líquido ascítico/sérico de forma característica se sitúa por encima de 2.0.

También puede producirse un aumento de la amilasa en líquido ascítico en la perforación gastroduodenal, en la trombosis venosa mesentérica aguda, en la estrangulación intestinal o en la necrosis^{198,199}.

Un aumento en la actividad *fosfatasa alcalina* del líquido ascítico (el doble del límite superior en plasma) se ha detectado en cerca del 90% de pacientes con estrangulación o perforación del intestino delgado^{196,200,201}. De todos modos, el valor de esta determinación no está bien establecido.

La actividad *lactato-deshidrogenasa* (LDH) a menudo se encuentra elevada en pacientes con PBE: un cociente de LDH en líquido ascítico/sérico mayor de 0.4 tiene una sensibilidad del 70 al 80% y una especificidad del 70%¹⁹⁶. A pesar del que la actividad de la LDH en el líquido ascítico puede estar elevada en los derrames neoplásicos^{202,203}, probablemente otros marcadores tumorales y el examen citológico son más sensibles y específicos.

D) Lactato.

El *lactato* se ha utilizado para distinguir la PBE de la ascítis no complicada^{161,190,204}, a un punto de corte de aproximadamente 40 mg/dL, sensibilidad y la especificidad son de alrededor del 90%¹⁹⁰.

E) Amoníaco

Se ha mencionado un aumento del amoníaco en líquido peritoneal (el doble del límite superior de lo normal en plasma) en la úlcera péptica perforada, en la apendicitis perforada y en la estrangulación del intestino delgado o grueso²⁰⁵. Se requieren estudios adicionales para confirmar el valor clínico de esta determinación.

F) Creatinina y urea.

Puede observarse un aumento de la creatinina y urea en líquido ascítico en caso de la rotura de la vejiga urinaria y de extravasación de orina a la cavidad peritoneal. En estos pacientes, la urea sérica se encuentra elevada en forma característica (debido a la difusión retrógrada) con una creatinina normal.

G) pH.

El pH en el líquido ascítico se ha utilizado para distinguir la PBE de las ascitis no complicadas^{190,206,207}: un pH inferior a 7.3 o un gradiente de pH arterial/ascítico mayor de 1.0 ofrecen una sensibilidad y una especificidad del 90%.

H) Lípidos.

El colesterol en líquido ascítico se ha utilizado en el diagnóstico diferencial de la ascitis no complicada y la causada por neoplasias²⁰⁸. Aun punto de corte de aproximadamente 50 mg/dL, la sensibilidad y la especificidad son del orden del 90%. Se requieren estudios adicionales para confirmar el valor clínico de esta determinación.

Ensayos inmunológicos.

A) Antígeno carcinoembrionario (CEA).

El CEA en líquido ascítico se ha utilizado como marcador tumoral, tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de la respuesta al tratamiento^{164,209}. Sin embargo, cuando se utiliza para el diagnóstico, la sensibilidad es de solo el 40 al 50% con una especificidad aproximada del 90% (punto de corte en 3 ng/mL).

B) Antígeno CA-125.

También ha sido empleado como marcador tumoral en líquido ascítico, con un punto de corte de 1,000 µg/mL, un aumento del CA-125 tendría una sensibilidad de alrededor del 85% y una especificidad de alrededor del 95% para el carcinoma metastásico del ovario, de la trompa de Falopio y del endometrio²¹⁰.

5.4 Estudios microbiológicos.

En la PBE la sensibilidad de la tinción de Gram es sólo del 25 al 50%¹⁸⁹. No obstante, los cultivos del líquido ascítico son positivos en alrededor de un 90% de pacientes²¹¹. Pueden concentrarse grandes cantidades del líquido por centrifugación o filtración antes del cultivo.

En la peritonitis tuberculosa, la sensibilidad de la tinción ácido-alcohol-resistente es solamente del 20 al 30%. La sensibilidad del cultivo es del 50 al 70%²¹¹. En pacientes con hallazgos clínicos compatibles con peritonitis tuberculosa puede ser adecuado empezar el tratamiento antes de disponer de un cultivo positivo²¹¹.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los cultivos de líquidos orgánicos el médico se ve obligado a iniciar su terapia mucho antes del resultado final de los mismos, únicamente orientado por un reporte preliminar de la tinción de Gram que se realiza a la muestra remitida. Ahora bien, aún empleando la centrifugación sugerida en el cultivo convencional de líquidos orgánicos^{12,214}, en la práctica existen sensibilidades muy deficientes para la tinción de Gram en los diferentes tipos de cultivos^{12,215}, por ello, el enriquecimiento y la elevación del título original de microorganismos en un corto tiempo es una condición indispensable para mejorar su utilidad^{212,216}. Los viales FAN del sistema BacT/Alert tienen la capacidad de poder nulificar la antibioterapia iniciada muchas veces antes de la colección de la muestra por lo que permiten una recuperación más plena y oportuna en el cultivo^{217,218,219,220} y se proponen como una herramienta a evaluar para conseguir dicha condición.

OBJETIVOS

1. **General:** Comparar los tiempos de detección de microorganismos provenientes de líquidos orgánicos por el sistema BacT/Alert para hemocultivos y el sistema convencional.
2. **Específicos:**
 - 2.1 Conocer las ventajas y desventajas en el empleo de sistemas automatizados para cultivos de líquidos orgánicos .
 - 2.2 Justificar el uso de sistemas automatizados para la elaboración de dichos cultivos.
 - 2.3 Marcar la pauta en el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo para líquidos orgánicos que permitan optimizar la herramienta diagnóstica para este tipo de infecciones.

En la peritonitis tuberculosa, la sensibilidad de la tinción ácido-alcohol-resistente es solamente del 20 al 30%. La sensibilidad del cultivo es del 50 al 70%²¹¹. En pacientes con hallazgos clínicos compatibles con peritonitis tuberculosa puede ser adecuado empezar el tratamiento antes de disponer de un cultivo positivo²¹¹.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los cultivos de líquidos orgánicos el médico se ve obligado a iniciar su terapia mucho antes del resultado final de los mismos, únicamente orientado por un reporte preliminar de la tinción de Gram que se realiza a la muestra remitida. Ahora bien, aún empleando la centrifugación sugerida en el cultivo convencional de líquidos orgánicos^{12,214}, en la práctica existen sensibilidades muy deficientes para la tinción de Gram en los diferentes tipos de cultivos^{12,215}, por ello, el enriquecimiento y la elevación del título original de microorganismos en un corto tiempo es una condición indispensable para mejorar su utilidad^{212,216}. Los viales FAN del sistema BacT/Alert tienen la capacidad de poder nulificar la antibioterapia iniciada muchas veces antes de la colección de la muestra por lo que permiten una recuperación más plena y oportuna en el cultivo^{217,218,219,220} y se proponen como una herramienta a evaluar para conseguir dicha condición.

OBJETIVOS

1. **General:** Comparar los tiempos de detección de microorganismos provenientes de líquidos orgánicos por el sistema BacT/Alert para hemocultivos y el sistema convencional.
2. **Específicos:**
 - 2.1 Conocer las ventajas y desventajas en el empleo de sistemas automatizados para cultivos de líquidos orgánicos .
 - 2.2 Justificar el uso de sistemas automatizados para la elaboración de dichos cultivos.
 - 2.3 Marcar la pauta en el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo para líquidos orgánicos que permitan optimizar la herramienta diagnóstica para este tipo de infecciones.

En la peritonitis tuberculosa, la sensibilidad de la tinción ácido-alcohol-resistente es solamente del 20 al 30%. La sensibilidad del cultivo es del 50 al 70%²¹¹. En pacientes con hallazgos clínicos compatibles con peritonitis tuberculosa puede ser adecuado empezar el tratamiento antes de disponer de un cultivo positivo²¹¹.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los cultivos de líquidos orgánicos el médico se ve obligado a iniciar su terapia mucho antes del resultado final de los mismos, únicamente orientado por un reporte preliminar de la tinción de Gram que se realiza a la muestra remitida. Ahora bien, aún empleando la centrifugación sugerida en el cultivo convencional de líquidos orgánicos^{12,214}, en la práctica existen sensibilidades muy deficientes para la tinción de Gram en los diferentes tipos de cultivos^{12,215}, por ello, el enriquecimiento y la elevación del título original de microorganismos en un corto tiempo es una condición indispensable para mejorar su utilidad^{212,216}. Los viales FAN del sistema BacT/Alert tienen la capacidad de poder nulificar la antibioterapia iniciada muchas veces antes de la colección de la muestra por lo que permiten una recuperación más plena y oportuna en el cultivo^{217,218,219,220} y se proponen como una herramienta a evaluar para conseguir dicha condición.

OBJETIVOS

1. **General:** Comparar los tiempos de detección de microorganismos provenientes de líquidos orgánicos por el sistema BacT/Alert para hemocultivos y el sistema convencional.
2. **Específicos:**
 - 2.1 Conocer las ventajas y desventajas en el empleo de sistemas automatizados para cultivos de líquidos orgánicos .
 - 2.2 Justificar el uso de sistemas automatizados para la elaboración de dichos cultivos.
 - 2.3 Marcar la pauta en el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo para líquidos orgánicos que permitan optimizar la herramienta diagnóstica para este tipo de infecciones.

2.4 Estimar la existencia de algún tipo de fluido corporal cuyo cultivo se muestre favorecido por el sistema BacT/Alert.

2.5 Observar si existe algún patrón de desarrollo de algún microorganismo determinado en asociación a algún tipo de líquido en particular para ser evaluado en otro proyecto.

HIPÓTESIS

El uso de un sistema de detección que monitoree constantemente el desarrollo bacteriano y que además incremente las facilidades de crecimiento y recuperación, supone un decremento en los tiempos de detección bacteriológica sobre el sistema convencional de cultivo de líquidos orgánicos. Esto a su vez se reflejará en un mejor uso de los recursos empleados para el tratamiento de infecciones localizadas en fluidos orgánicos específicos.

DISEÑO DE INVESTIGACION.

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico, analítico experimental y transversal, para lo cual se cultivaron a la par líquidos orgánicos de diversas fuentes por el sistema BacT/Alert y por el sistema convencional.

Los líquidos sometidos a evaluación provinieron de pacientes conforme a los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

1. Criterios de inclusión.

- Sin restricción de edad, sexo, posición socioeconómica o área geográfica de residencia.
- Hospitalizados o ambulatorios que remitan muestras bajo requisición de investigación microbiológica por cuadros clínicos indicativos de:

2.4 Estimar la existencia de algún tipo de fluido corporal cuyo cultivo se muestre favorecido por el sistema BacT/Alert.

2.5 Observar si existe algún patrón de desarrollo de algún microorganismo determinado en asociación a algún tipo de líquido en particular para ser evaluado en otro proyecto.

HIPÓTESIS

El uso de un sistema de detección que monitoree constantemente el desarrollo bacteriano y que además incremente las facilidades de crecimiento y recuperación, supone un decremento en los tiempos de detección bacteriológica sobre el sistema convencional de cultivo de líquidos orgánicos. Esto a su vez se reflejará en un mejor uso de los recursos empleados para el tratamiento de infecciones localizadas en fluidos orgánicos específicos.

DISEÑO DE INVESTIGACION.

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico, analítico experimental y transversal, para lo cual se cultivaron a la par líquidos orgánicos de diversas fuentes por el sistema BacT/Alert y por el sistema convencional.

Los líquidos sometidos a evaluación provinieron de pacientes conforme a los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

1. Criterios de inclusión.

- Sin restricción de edad, sexo, posición socioeconómica o área geográfica de residencia.
- Hospitalizados o ambulatorios que remitan muestras bajo requisición de investigación microbiológica por cuadros clínicos indicativos de:

2.4 Estimar la existencia de algún tipo de fluido corporal cuyo cultivo se muestre favorecido por el sistema BacT/Alert.

2.5 Observar si existe algún patrón de desarrollo de algún microorganismo determinado en asociación a algún tipo de líquido en particular para ser evaluado en otro proyecto.

HIPÓTESIS

El uso de un sistema de detección que monitoree constantemente el desarrollo bacteriano y que además incremente las facilidades de crecimiento y recuperación, supone un decremento en los tiempos de detección bacteriológica sobre el sistema convencional de cultivo de líquidos orgánicos. Esto a su vez se reflejará en un mejor uso de los recursos empleados para el tratamiento de infecciones localizadas en fluidos orgánicos específicos.

DISEÑO DE INVESTIGACION.

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico, analítico experimental y transversal, para lo cual se cultivaron a la par líquidos orgánicos de diversas fuentes por el sistema BacT/Alert y por el sistema convencional.

Los líquidos sometidos a evaluación provinieron de pacientes conforme a los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

1. Criterios de inclusión.

- Sin restricción de edad, sexo, posición socioeconómica o área geográfica de residencia.
- Hospitalizados o ambulatorios que remitan muestras bajo requisición de investigación microbiológica por cuadros clínicos indicativos de:

1. Meningitis bacteriana
2. Artritis bacteriana de cronicidad establecida o agudizada
3. Pleuritis infecciosa
4. Pericarditis o endocarditis de etiología bacteriana
5. Peritonitis séptica

2. Criterios de exclusión.

- Cuyo volúmen de recolección sea menor o igual a 2mL.
- Cuyo espécimen no sea colectado por punciones y/o drenados en condiciones de esterilidad o asepsia adecuada a la demanda de un estudio microbiológico como por ejemplo el uso de campos, soluciones sanitizantes en forma adecuada, el uso de guantes, cubrebocas y material nuevo y estéril. »

El material de laboratorio empleado fue:

- 1.- Agujas de ventilación
- 2.- Asas bacteriológicas
- 3.- Mechero de gas tipo Fisher.
- 4.- Portaobjetos
- 5.- Tubos estériles con tapón de rosca (13X100)
- 6.- Jeringas desechables de 5 mL
- 7.- Torundas
- 8.- Gasas estériles

Los medios y reactivos fueron:

- 1.- Gelosa sangre de carnero al 5%*
- 2.- Gelosa chocolate*
- 3.- Agar McConkey*
- 4.- Fenol al 15%
- 5.- Alcohol etílico al 70%
- 6.- Cristal violeta
- 7.- Lugol
- 8.- Safranina
- 9.- Alcohol-acetona

El equipo utilizado fue:

- 1.- Sistema automatizado de hemocultivos **BacT/Alert** (Organon Teknika)

a)Hardware

- a.1) Incubador de 240 o 120 frascos
- a.2) Batería de seguridad para alimentación en fallas de suministro eléctrico.
- a.3) Reflectómetros compactos situados en cada celda.
- a.4) Computador (CPU-pantalla-teclado) que puede manejar hasta 6 módulos incubadores.

b)Software

- b.1) Notificación inmediata de positivos.
- b.2) Chequeo y diagnóstico automático de problemas.
- b.3) Programa informático completo y flexible.
- b.4) MODEM integrado, con servicio o asesoría técnica por 24hs/día
- b.5) INTERFACES de intercambio bi-direccional BacT/LINK.
- b.6) Control de calidad interno.
- b.7) Generación de gran variedad de reportes, incluyendo reportes epidemiológicos y estadísticos.

2.- Frascos para hemocultivo.

a)FRASCO DE HEMOCUTLIVO AEROBICO PEDIATRICO:

Frascos de vidrio 75mL con membrana permeable al CO₂, sensor de CO₂, atmósfera de CO₂, 20mL de caldo de infusión cerebro corazón (BHI), adicionado con: hemina,menadionina y piridoxina. SPS como anticoagulante y volumen de muestra de 0.5 -4.0mL.

b)FRASCO DE HEMOCULTIVO PARA NEUTRALIZACIÓN DE AGENTES TÓXICOS - FAN AEROBICO -.Frascos de vidrio 75mL con membrana permeable al CO₂, sensor de CO₂, 40mL de caldo de infusión cerebro corazón (BHI), adicionado de: hemina, menadionina, piridoxina y **ECOSORB** sustancia activa neutralizante. SPS como anticoagulante y volumen de muestra de 5-10mL.

3.- Microscopio fotónico simple (o de campo claro).

4.- Estufa bacteriológica

5.-Cámara para CO₂ de 4 a 5% y humectación saturada.

6.-Centrífuga de velocidad constante Beckman.

7.-Campana de flujo laminar con lampara de emisión de luz ultravioleta.

El material biológico utilizado fue:

1. Líquido cefalorraquídeo (LCR)
2. Líquido sinovial (LSN)
3. Líquido pleural (LPL)
4. Líquido peritoneal (LPO)
5. Líquido de derrame pericárdico (LDP)

TECNICA

- **Fase preanalítica**

La colección de las muestras siempre fue realizada por personal médico capacitado y bajo los lineamientos citados para cada caso en el marco teórico anteriormente expuesto. Una vez remitida la muestra al laboratorio acompañada de la requisición correspondiente en la que se proporcionaban los datos del paciente y la petición de un estudio microbiológico por cultivo, acompañada de la firma del médico solicitante, se procedió a la asignación de un número único de identificación de la muestra al momento de su ingreso en el sistema de computo conocido como HLS (Hospital Laboratory System) Este proceso proporciona una etiqueta de identificación con un código de barras mediante el cual se interfazan todos los aparatos automatizados de las diferentes secciones hacia el computador central y las terminales de consulta. Las etiquetas son adheridas a las muestras y procesadas así en forma segura. Para el sistema BacT/Alert, esta identificación se ve reforzada con un código de barras impreso en cada vial, el cual lo identifica dentro del módulo de incubación-agitación-detección, y a través del él, este módulo se ve comunicado con la unidad central de datos del sistema, proporcionando así la forma de monitoreo continuo y la emisión de resultados en forma independiente celda por celda.

Tanto la etiqueta proporcionada por el HLS como el código de barras desprendible que se nos facilita en cada vial, quedaron asentados en una libreta especial que constituyó un registro interno de la sección de bacteriología, este registro contiene la información del paciente, el tipo de muestra procesada, el número de registro en el sistema de computo, la fecha y hora de recepción de la muestra. Una vez plenamente identificada la muestra, es procesada como a continuación se menciona:

- **Fase analítica.**

Dentro de la sección de bacteriología el líquido se somete a centrifugación vertiéndolo dentro del "area segura" que proporciona la campana de flujo laminar a un tubo estéril de 13x100mm con tapón de rosca y con el auxilio de una pipeta Pasteur estéril también. La muestra se centrifuga a 2000 rpm durante 10 min. y se traslada nuevamente a la campana de flujo laminar, hay que tener cuidado de separar dos alícuotas para el caso en el que se requieren estudios citoquímicos, pues estas alícuotas deberán remitirse cuanto antes sin ninguna manipulación previa (exceptuando la separación) a las secciones de química clínica y hematología para su procesamiento bajo la premura requerida.

Del botón sedimentado, se toma muestra con una pipeta pasteur para inocular los siguientes medios de cultivo en el orden que se indica:

- Gelosa sangre de camero al 5%
- Gelosa chocolate enriquecido.
- Agar MacConkey
- Agar Sabouraud (de manera opcional)

De este mismo botón se frota un poco en un portaobjetos para realizar tinción de Gram, y para el caso de LCR, se preparan dos laminillas más, una para realizar una tinción de Ziehl-Neelsen, Kinyoun, o técnica con naranja de acridina todas ellas para la búsqueda de bacilos ácido-alcohol-resistentes, y otra para depositar una gota en fresco a la tinta china para la búsqueda de *Criptococcus neoformans*.

Las placas inoculadas son estriadas mediante estría cruzada o estafilocócica en cuatro cuadrantes para reportar un desarrollo semicuantitativo (leve, escaso, moderado o abundante) si es necesario y se incuban de 35 a 37°C en atmósfera parcial de CO₂ para el caso de la gelosa chocolate enriquecido y bajo atmósfera ambiental para el caso de las demás placas. Mientras se espera la centrifugación de la alícuota tomada, se puede inocular rápidamente un vial del sistema BacT/Alert e introducirlo al aparato de la siguiente manera. Con una jeringa estéril de 10 o 5 mL,

tomar de 0.5 a 4 mL de líquido sin centrifugar y debidamente homogenizado inocular un vial Pedi/BacT flameando con alcohol previamente la boca del vial. O bien tomar de 5 a 10 mL e inocular de igual forma un vial FAN-aeróbico. Con los viales inoculados pasar el scanner del sistema por el código de barras del vial para informar en el menu primario que se introducirá esa muestra al módulo de incubación, retirar la fracción del código de barras que se sabe desprendible y registrarla en la libreta especial de registro conjuntamente con la etiqueta proporcionada por el HLS y asegurándose de que el vial quede también identificado. Todos los cultivos se mantuvieron con monitoreo y agitación constantes a 37°C y por un periodo de 7 días; una vez detectados como positivos por el sistema, se resembraron en placas Petri con gelosa sangre de carnero al 5% (GSC), gelosa chocolate (GCH) y agar McConkey (MC), o bien, en su caso se reportaron como negativos al término de 7 días de incubación. Para todos los viales positivos se realizó tinción de Gram al momento de su resiembra. También se verificaron falsos negativos mediante tinción de Gram al término de los 7 días de incubación.

Retomando el procedimiento por placas, éstas fueron monitoreadas cada 24 h. Para observar o no desarrollo. Y se concluyeron todos los cultivos positivos con pruebas de susceptibilidad e identificación.

- **Fase postanalítica.**

La emisión de resultados se realizó mediante un formato libre en el sistema HLS conjugado con la impresión de reporte proporcionada por el sistema empleado para las pruebas de identificación y susceptibilidades (sistemas Microscan o Vitek según el caso). Todo ello por parte de la sección de microbiología, que al entregar el resultado al cuerpo administrativo, también se encargaba de elaborar el archivo correspondiente al examen finalizado. La entrega de resultados directamente al paciente, fue labor del cuerpo administrativo, así como el envío de resultados preliminares al médico o de copias a consultorio u otras áreas hospitalarias con el objeto de mejorar la comunicación del laboratorio con el cuerpo médico y poder así brindar mejor oportunidad y servicio.

RESULTADOS.

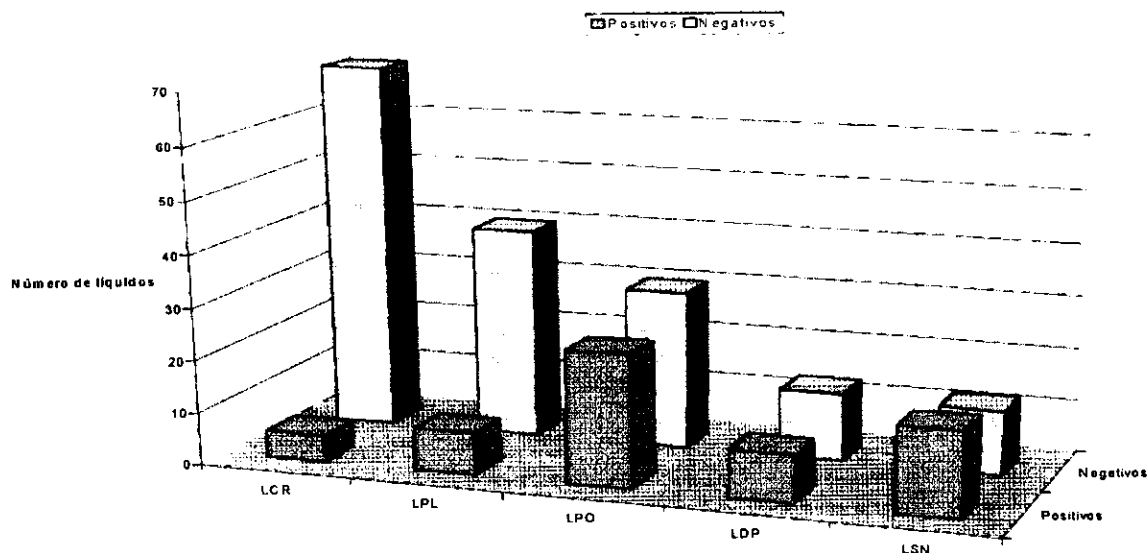
El proyecto realizado arrojó en general una valiosa información, que si bien satisface el objetivo general y cubre los requerimientos establecidos por los objetivos específicos, también nos proporciona un panorama más amplio sobre la potencialidad que ofrece la incorporación de tecnología de punta a la investigación microbiológica clínica. En forma concisa, en cuanto al objetivo general se refiere, se lograron recopilar los siguientes datos:

Resultados generales de proceso			
Líquido	Positivos	Negativos	Totales
LCR	5	70	75
LPL	8	40	48
LPO	19	24	43
LDP	9	13	22
LSN	16	12	28
Totales	57	159	216

Tabla 6. Resultados generales de proceso

(ver gráfico 0).

Gráfico 0: Resultados generales de proceso



En este gráfico podemos observar el volumen total de proceso (216 líquidos en general), notando que para cada categoría de líquido siempre es mayor la proporción de cultivos sin desarrollo, exceptuando al líquido sinovial, también observamos que la mayor cantidad de líquidos remitidos pertenece al LCR, contra el LDP que observa mucho menor frecuencia. La probabilidad de desarrollo bacteriano en un LCR remitido laboratorio es de 0.06, mientras que para un LDP es de 0.41, así podemos referir también para cada líquido, y estimar posibles incrementos en los porcentajes de recuperación al modificar una técnica en el trabajo cotidiano de laboratorio.

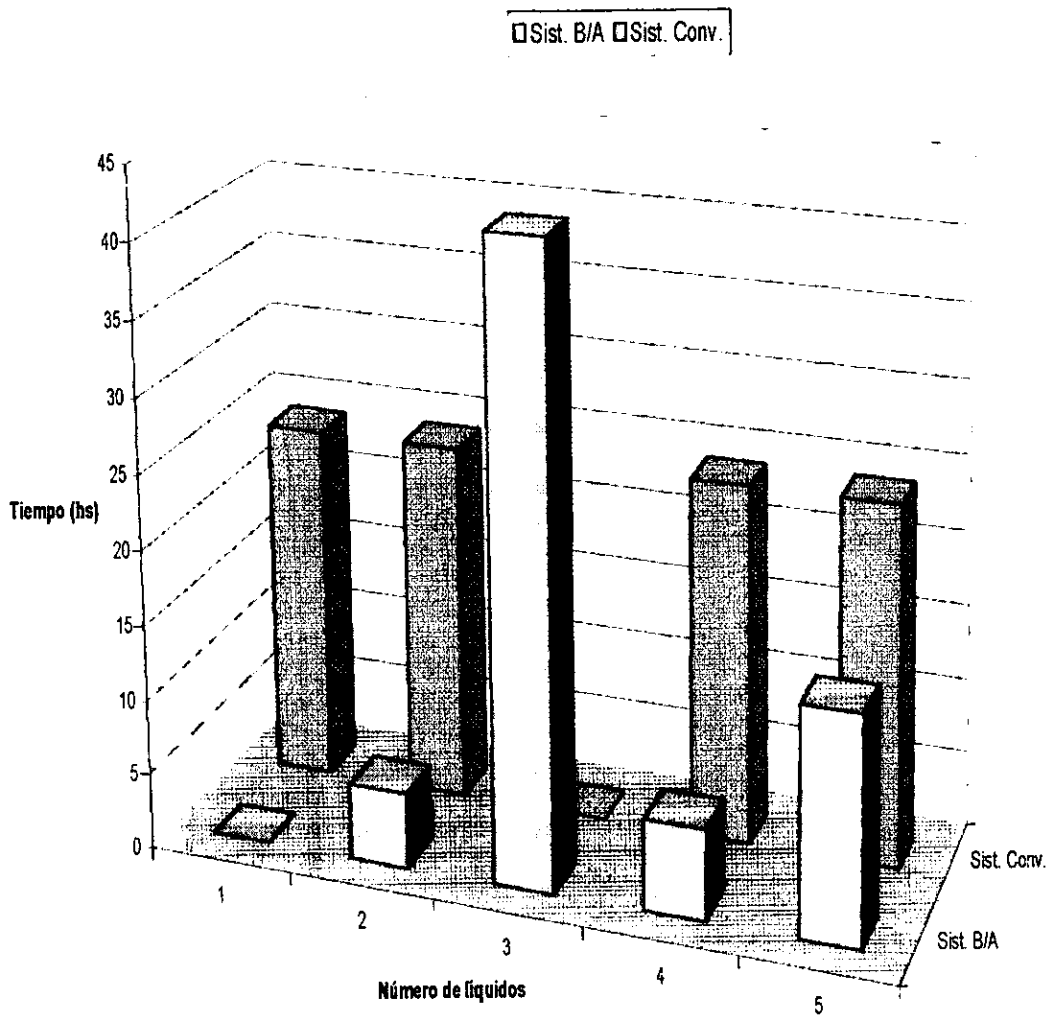
Comparación de los tiempos de detección para LCR (hs)		
LCR	Sist. Conv.	Sist. B/A
1	24	
2	24	5
3		42
4	24	6
5	24	15
Promedios	24	17
Sist. Conv. = Sistema convencional.		
Sist. B/A = Sistema BacT/Alert		

Tabla α Comparación de los tiempos de detección para LCR (ver gráfico A)

Comparación de los tiempos de detección para LPL (hs)		
LPL	Sist.Conv.	Sist. B/A
1	24	10
2	24	2
3	48	14
4		26
5	24	6
6	24	7
7	24	18
8	24	5
Promedios	27	11

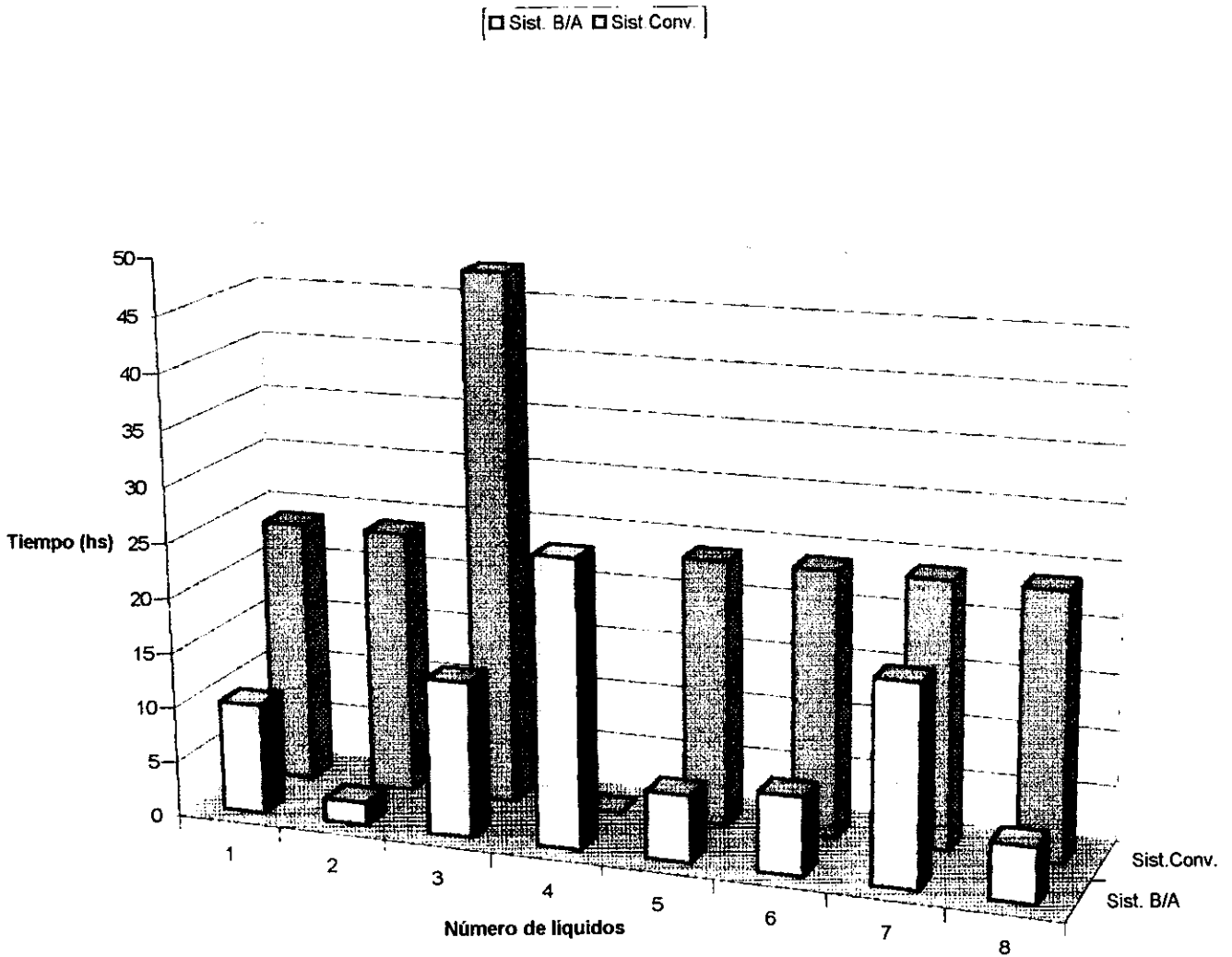
Tabla β Comparación de los tiempos de detección para LPL (ver gráfico B)

Gráfico A: Comparación de los tiempos de detección para LCR



Este gráfico muestra la reducción en el tiempo de detección mediante el uso del sistema BacT/Alert, que determina un promedio de 17hs, contrastado con 24 hs del sistema Convencional, como puede observarse en las columnas 1, 2, 4 y 5 para el caso del sistema convencional, y 2, 4 y 5 para el sistema BA, ya que son las correspondientes al mismo tipo de microorganismo (*Streptococcus pneumoniae*), pues cada género y aún especie de microorganismo contemplan distintas curvas de crecimiento y no son comparables entre sí. Las dos columnas abatidas al origen, en realidad reflejan datos de indeterminación, pues fueron muestras sin ningún desarrollo y no se contemplan en el universo.

Gráfico B: Comparación de los tiempos de detección para LPL

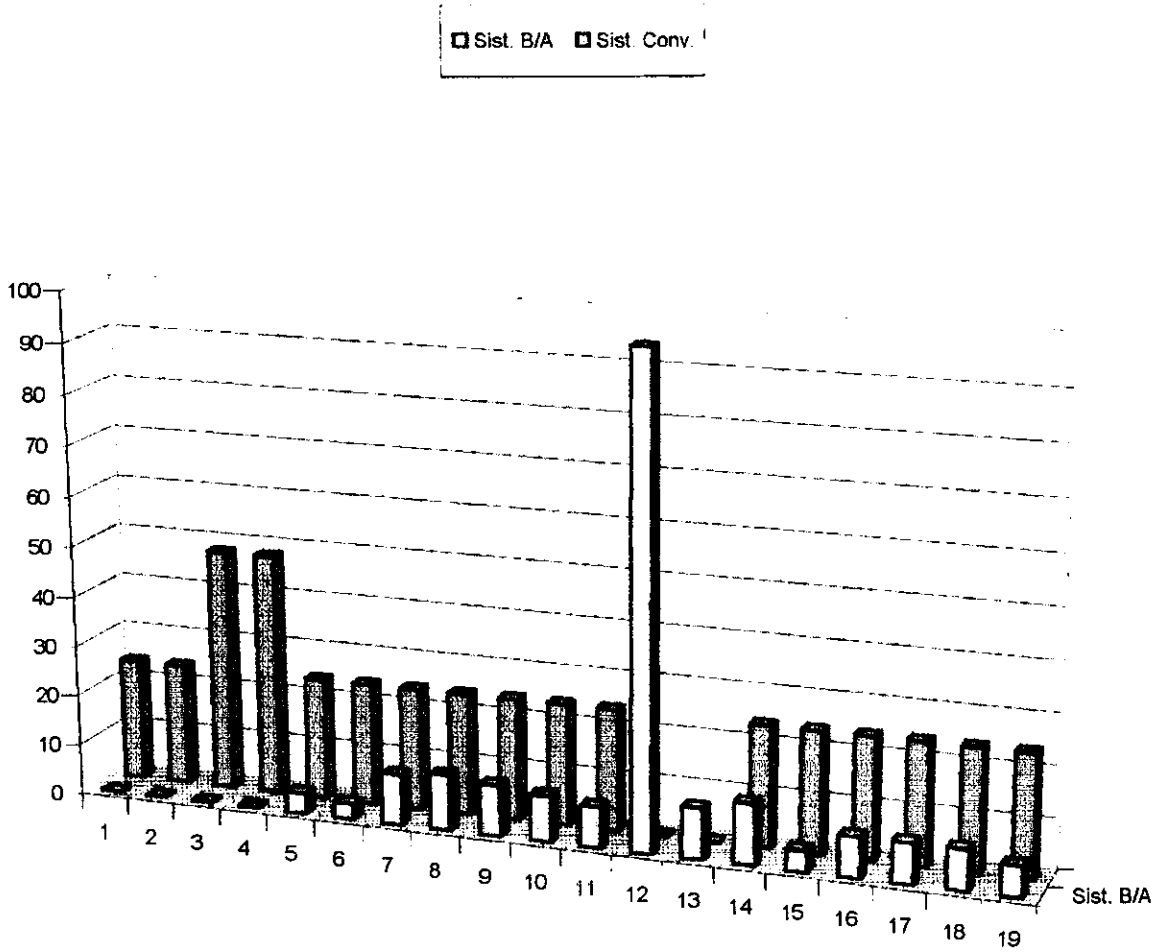


Para el caso del LPL la gráfica nos indica una mejor recuperación por parte del sistema BA, ya que éste no muestra columnas abatidas al origen. También se muestra que los tiempos de detección son favorablemente más bajos para el sistema BA aún cuando no exista un patrón de reducción con respecto al sistema convencional, esto es justificable por la razón mencionada en el gráfico A con respecto a las curvas de crecimiento, pero bien en términos globales y determinando un tiempo promedio de detección para el sistema convencional de 27 hs y de 11 hs para el sistema BA conforme a lo mostrado por las columnas, se puede expresar un decremento del 59.3% en el tiempo de detección del sistema convencional mediante el uso del sistema BA.

Comparación de los tiempos de detección para LPO (hs)		
LPO	Sist. Conv.	Sist. B/A
1	24	
2	24	
3	48	
4	48	
5	24	4
6	24	3
7	24	10
8	24	11
9	24	10
10	24	9
11	24	8
12		96
13		10
14	24	12
15	24	4
16	24	8
17	24	8
18	24	8
19	24	6
Promedios	26.8	13.8

Tabla γ : Comparación de tiempos de detección para LPO. (ver gráfico G.

Gráfico G: Comparación de los tiempos de detección para LPO



En esta figura en particular, se pone de manifiesto la baja sensibilidad del sistema BA (0.76) ante el sistema convencional, pues se observan los líquidos del 1-4 completamente abatidos, mientras que para el sistema convencional son solo las columnas 12 y 13, enfatizando en que la columna 12 necesitó aún de bastante tiempo por el sistema BA para alcanzar un título detectable de crecimiento, en esta ocasión, el decremento en el tiempo de detección del sistema BA sobre el sistema convencional es del 48.5% de 26.8 en tiempo promedio para el sistema convencional contra el 13.8 para el sistema BA.

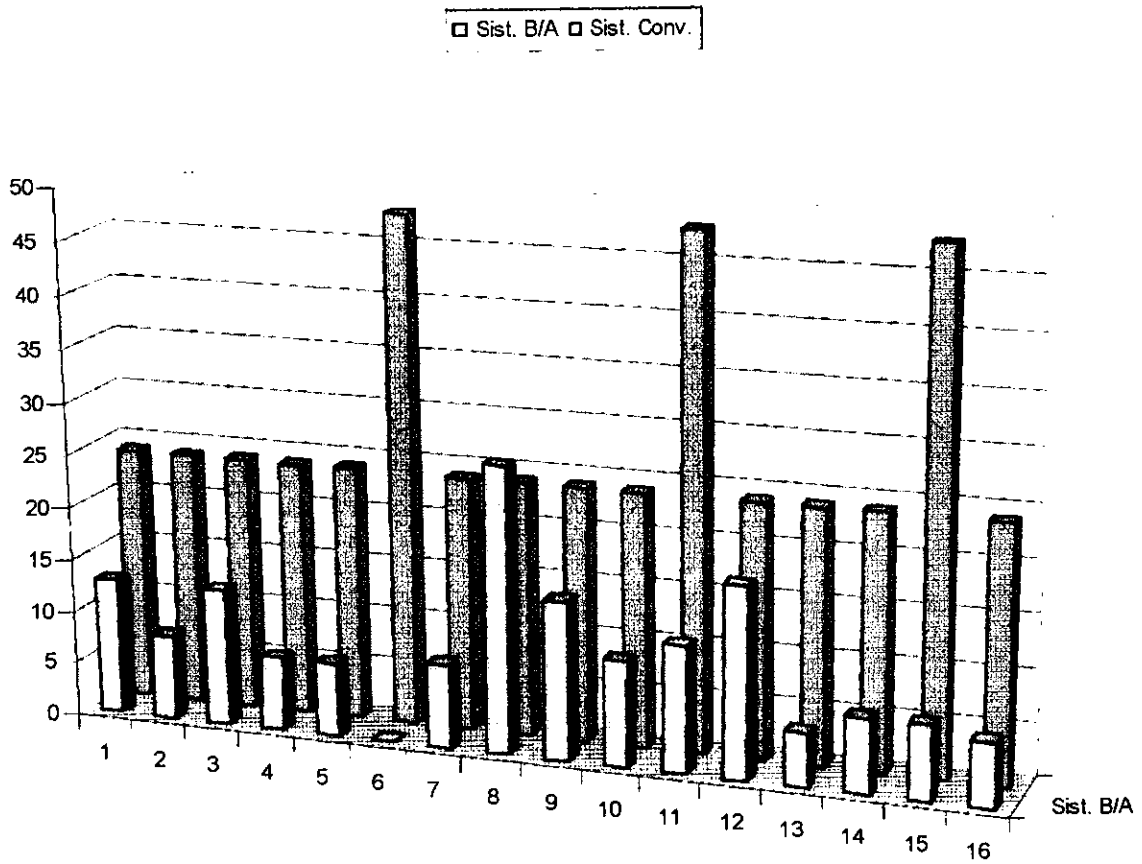
Comparación de los tiempos de detección para LSN (hs)		
LSN	Sist. Conv.	Sist. B/A
1	24	13
2	24	8
3	24	13
4	24	7
5	24	7
6	48	
7	24	8
8	24	27
9	24	15
10	24	10
11	48	12
12	24	18
13	24	5
14	24	7
15	48	7
16	24	6
Promedios	28	11

Tabla δ: Comparación de los tiempos de detección para LSN. (ver gráfico D.)

Comparación de los tiempos de detección para LDP (hs)		
LDP	Sist. Conv.	Sist. B/A
1	24	35
2	24	8
3	24	12
4	24	4
5	24	48
6	24	23
7	48	96
8		2
9	24	
Promedios	27	28

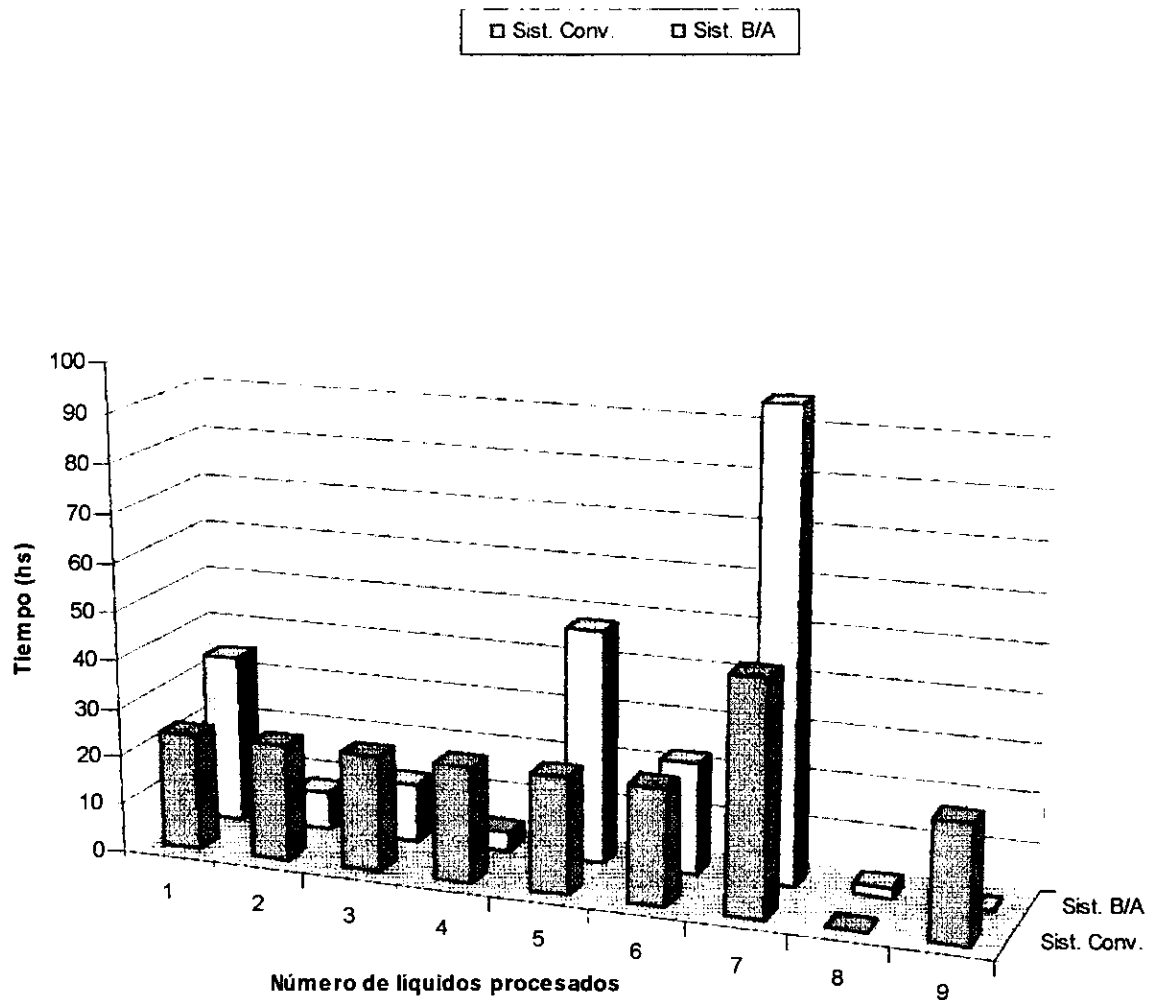
Tabla ε: Comparación de tiempos de detección para LDP. (ver gráfico E).

Gráfico D: Comparación de los tiempos de detección para LSN



La sensibilidad de sistema BA frente al sistema convencional se ve aparentemente comprometida en el líquido de registro 6, aunque se sabe por el análisis estadístico que en general es de 0.94, por otra parte, el decremento en los tiempos de detección es muy notorio, determinándose en un 60.8%, pues los promedios observados en las columnas son de 28hrs para el sistema convencional y 11 hrs para el sistema BA

Gráfico E: Comparación de los tiempos de detección para LDP



Finalmente el líquido de derrame pericardico según esta gráfica puede considerarse como una muestra inadecuada para el implemento del sistema BA, pues su sensibilidad es baja (0.87) y también se incrementa el tiempo de detección en un 3.7% conforme al criterio de comparación aritmética utilizado en todos los esquemas. Sin embargo, claramente se nota que esto es un efecto engañoso que propicia la columna perteneciente al líquido 7, por encontrar-se tan disparada con respecto al comportamiento general de la gráfica, pues además la potencia diagnóstica es de 0.99 y su especificidad es de 0.96.

Además de la información proporcionada, se pensó interesante visualizar la incidencia que presenta cada tipo de microorganismo aislado con respecto al tipo de fuente de la que provino. Por ello, se presentan también las siguientes tablas que nos indican la prevalencia porcentual presentada por cada tipo de microorganismo aislado de una fuente determinada.

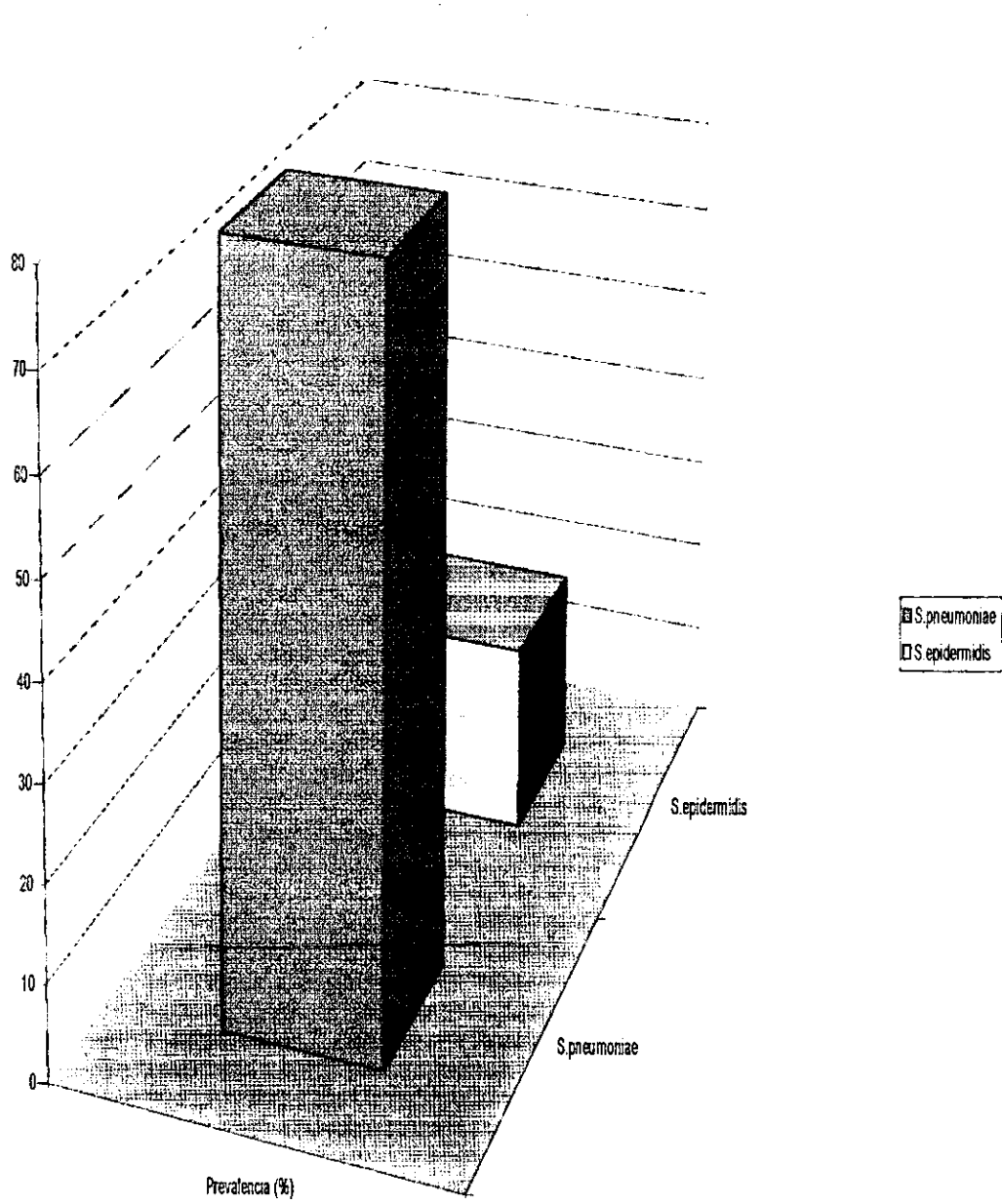
<i>Incidencia de microorganismos por tipo de fuente</i>			
Fuente	# positivos	Microorganismo	Prevalencia (%)
LCR	5	<i>S.pneumoniae</i>	80
		<i>S.epidermidis</i>	20

Tabla 1. Incidencia de microorganismos en Líquido cefalorraquídeo (prevalencia porcentual, ver gráfico 1)

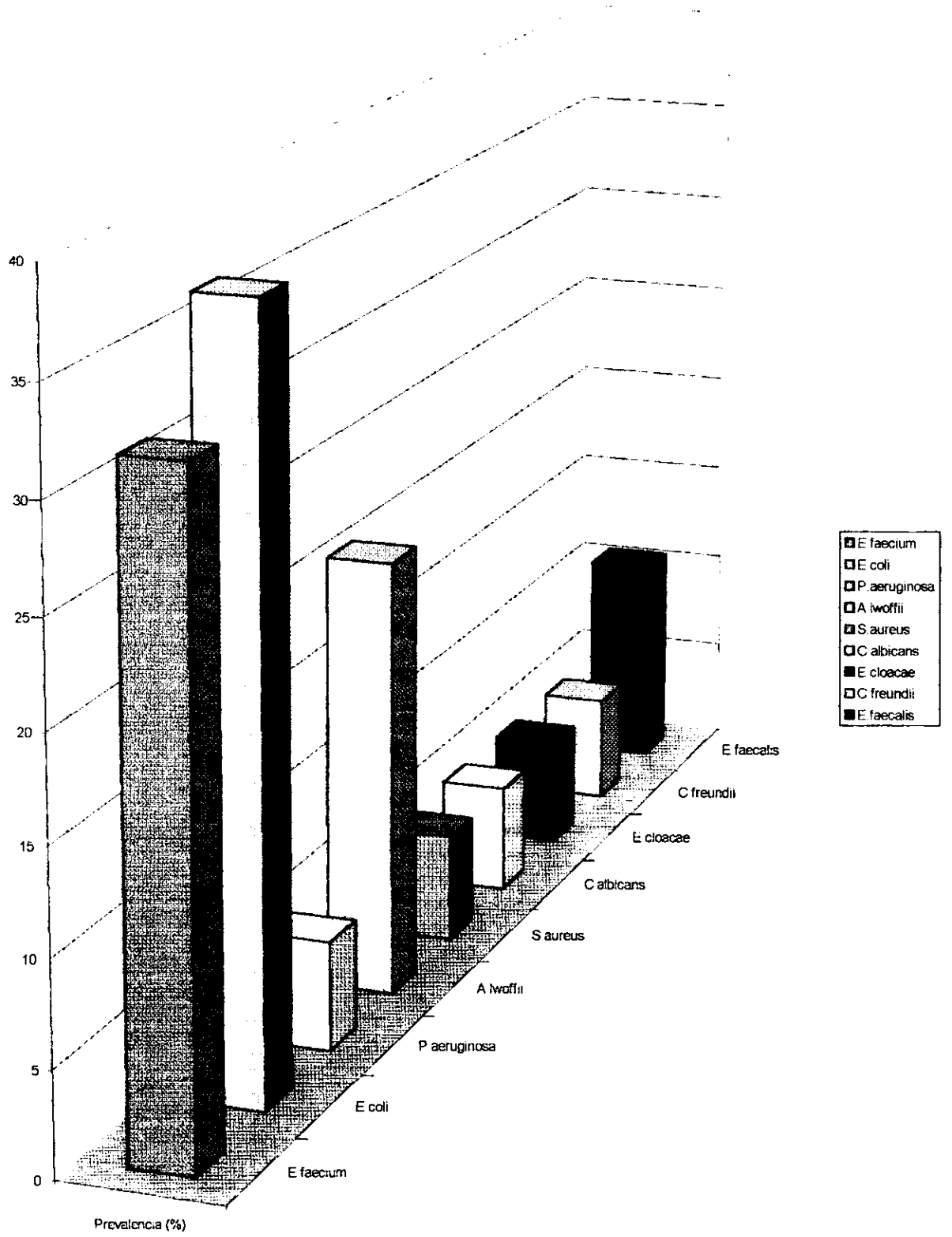
<i>Incidencia de microorganismos por tipo de fuente</i>			
Fuente	# positivos	Microorganismo	Prevalencia (%)
LPO	19	<i>E.faecium</i>	31.58
		<i>E.coli</i>	36.84
		<i>P.aeruginosa</i>	5.26
		<i>A.twoffii</i>	21.05
		<i>S.aureus</i>	5.26
		<i>C.albicans</i>	5.26
		<i>E.cloacae</i>	5.26
		<i>C.freundii</i>	5.26
		<i>E.faecalis</i>	10.52

Tabla 2. Incidencia de microorganismos en Líquido peritoneal (prevalencia porcentual, ver gráfico 2)

Incidencia de microorganismos en LCR



Incidencia de microorganismos en LPO



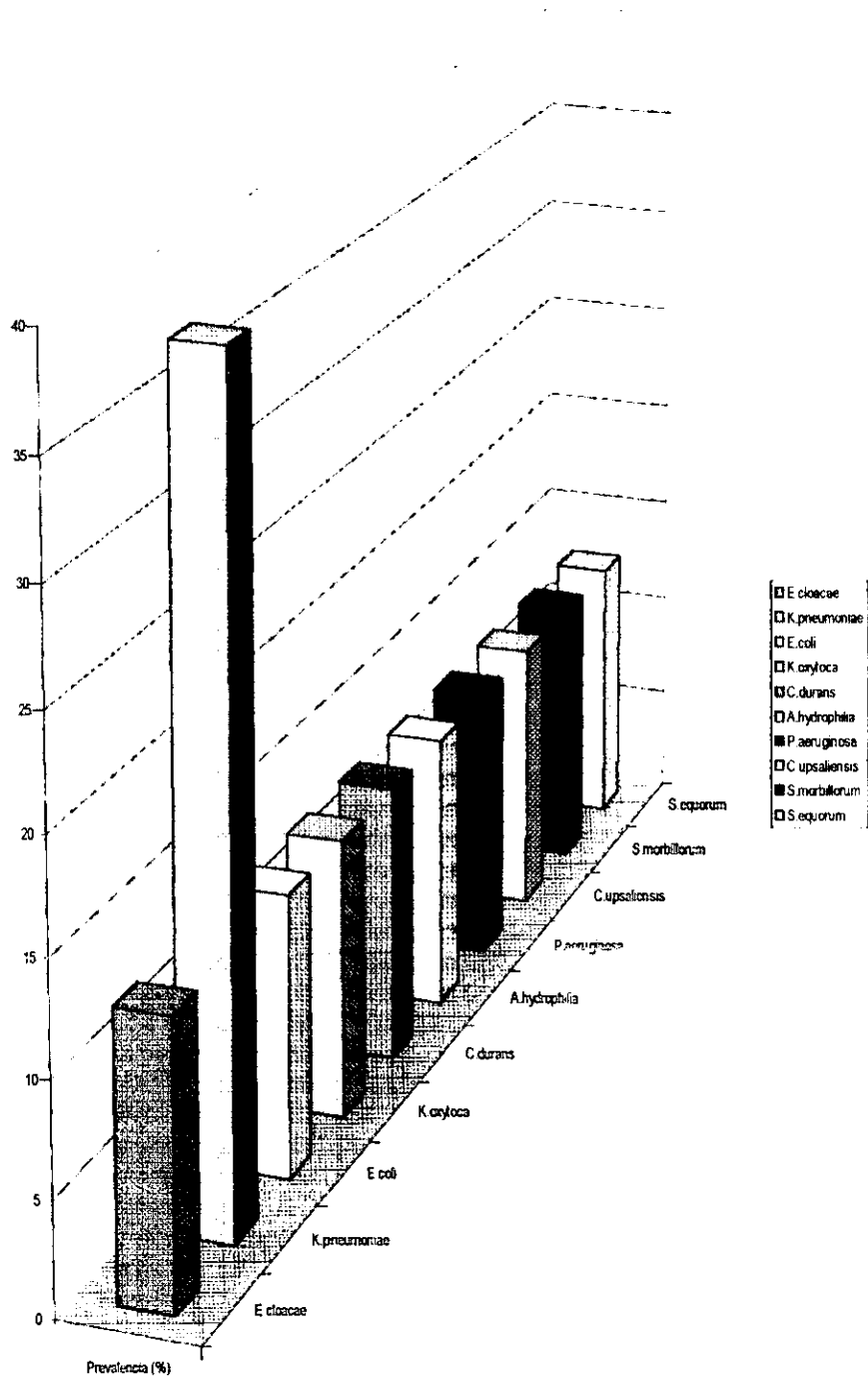
Incidencia de microorganismos por tipo de fuente			
Fuente	# positivos	Microorganismo	Prevalencia (%)
LPL	8	<i>E.cloacae</i>	12.5
		<i>K.pneumoniae</i>	37.5
		<i>E.coli</i>	12.5
		<i>K.oxytoca</i>	12.5
		<i>C.durans</i>	12.5
		<i>A.hydrophilia</i>	12.5
		<i>P.aeruginosa</i>	12.5
		<i>C.upsaliensis</i>	12.5
		<i>S.morbilorum</i>	12.5
		<i>S.equorum</i>	12.5

Tabla 3. Incidencia de microorganismos en Líquido pleural (prevalencia porcentual, ver gráfico 3).

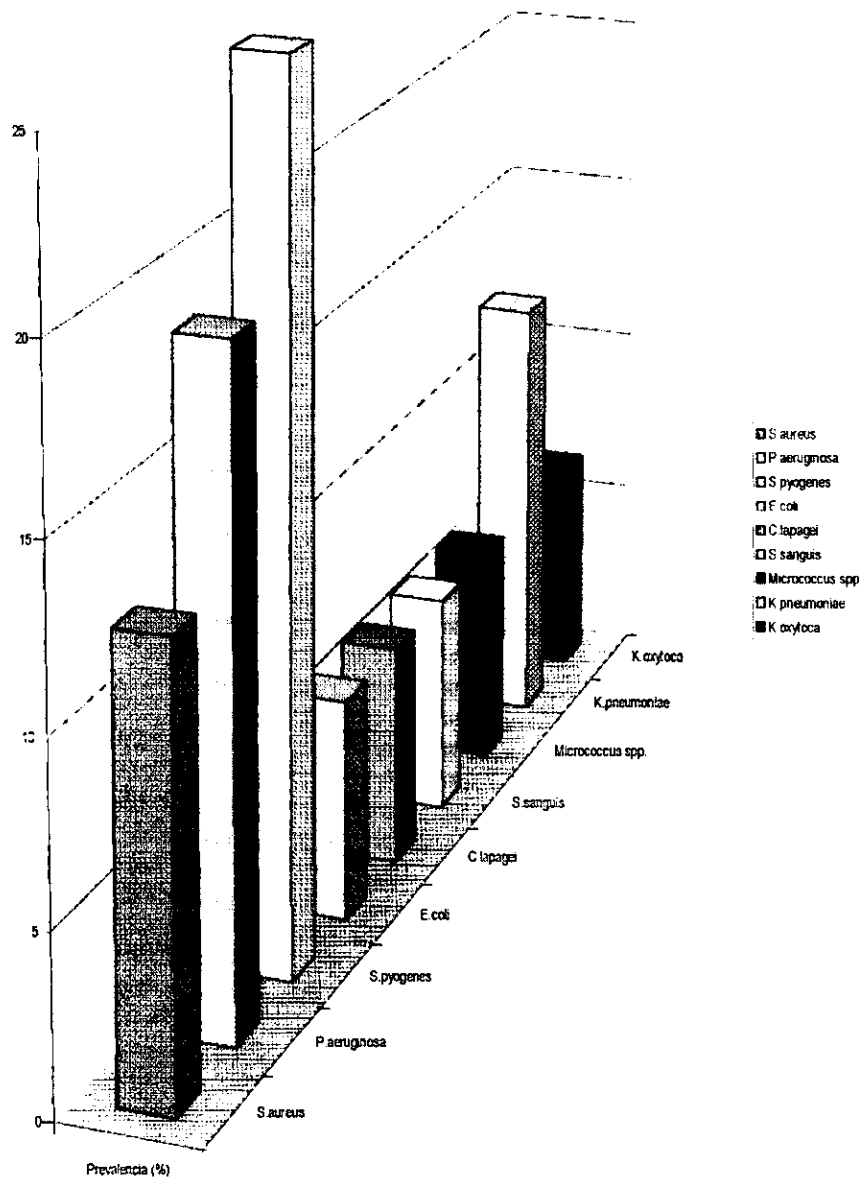
Incidencia de microorganismos por tipo de fuente			
Fuente	# positivos	Microorganismo	Prevalencia (%)
LSN	16	<i>S.aureus</i>	12.5
		<i>P.aeruginosa</i>	18.75
		<i>S.pyogenes</i>	25
		<i>E.coli</i>	6.25
		<i>C.lapagei</i>	6.25
		<i>S.sanguis</i>	6.25
		<i>Micrococcus spp.</i>	6.25
		<i>K.pneumoniae</i>	12.5
		<i>K.oxytoca</i>	6.25

Tabla 4. Incidencia de microorganismos en Líquido sinovial (prevalencia porcentual, ver gráfico 4).

Incidencia de microorganismos en LPL



Incidencia de microorganismos en LSN



Incidencia de microorganismos por tipo de fuente			
Fuente	# positivos	Microorganismo	Prevalencia (%)
LDP	9	<i>C.albicans</i>	22.22
		<i>S.aureus</i>	11.11
		<i>P.aeruginosa</i>	22.22
		<i>K.oxytoca</i>	11.11
		<i>S.pyogenes</i>	33.33
		<i>S.sanguis</i>	11.11
		<i>E.faecium</i>	11.11
		<i>S.agalctiae</i>	11.11

Tabla 5. Incidencia de microorganismos en Líquido de derrame pericárdico (prevalencia porcentual, ver gráfico 5).

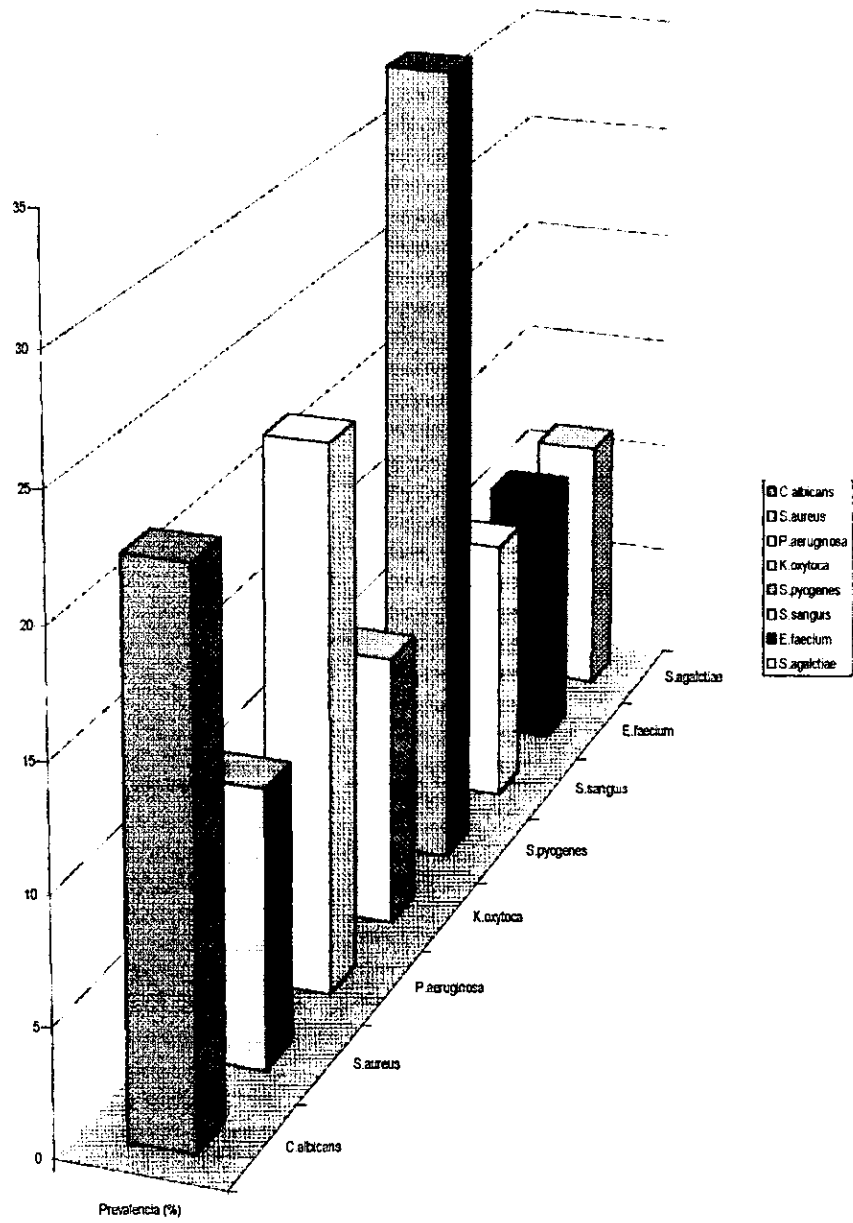
Finalmente se hará mención de otro de los datos recopilados en el presente trabajo, esto es la información que proporcionaron las tinciones de Gram realizadas a cada muestra procesada, para ello, se sintetizó la tabla 6 que presenta la información burda de correlación entre un reporte de presencia bacteriana preliminar a través de la tinción y la confirmación o la corrección de dicho reporte a través del cultivo positivo o negativo en el caso correspondiente.

Cultivos	TGP	TGN	TOTAL
Positivos	24	21	45
Negativos	15	144	159
	41	175	216

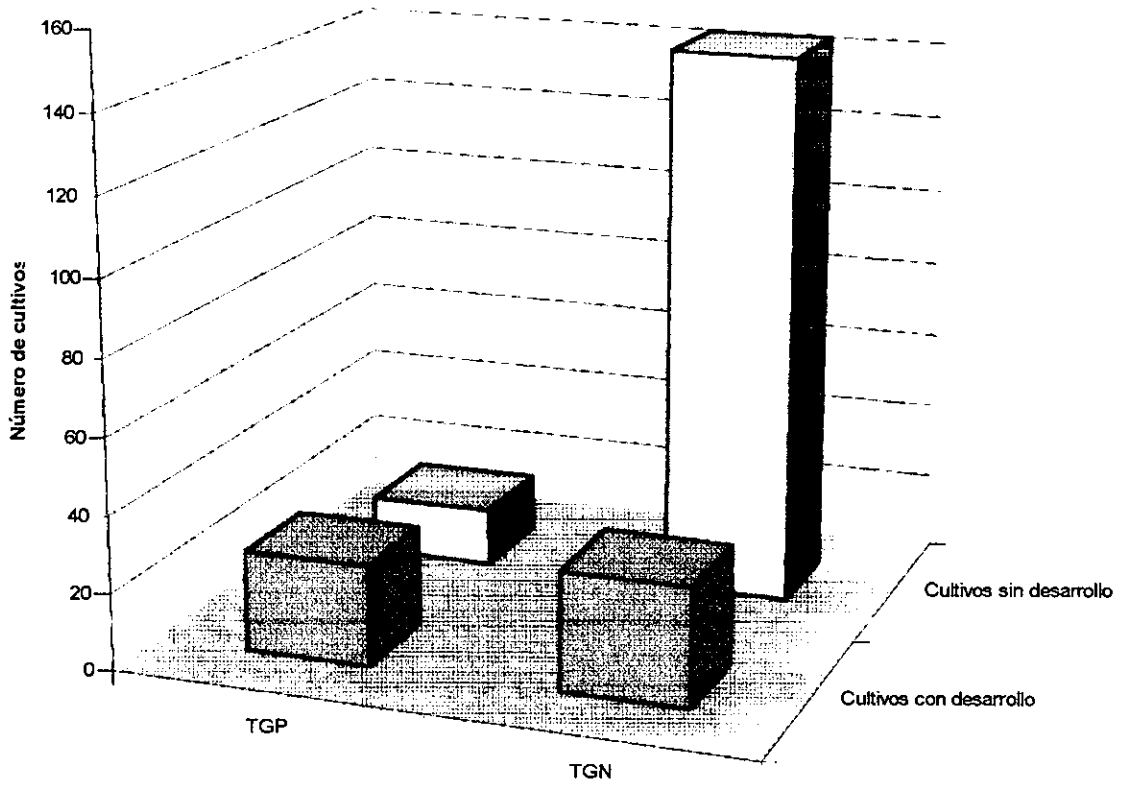
TGP = Tinción de Gram positiva
TGN = Tinción de Gram negativa

Tabla 6. Tinciones de Gram.(ver gráfico 6)

Incidencia de microorganismos en LOP



Sensibilidad aparente de la tinción de Gram



■ Cultivos con desarrollo

■ Cultivos sin desarrollo

Discusión de resultados.

Para discutir los resultados expuestos, se debe recordar primero el objetivo general de este proyecto, el cual consistió en hacer una comparación de los tiempos de detección microbiana en muestras de líquidos orgánicos entre el sistema convencional de cultivo, y el uso del sistema automatizado Bact/Alert para hemocultivos. A este respecto, es menester establecer una comparación entre los métodos analíticos utilizados para poder partir del hecho de que se trabaja con un sistema lo suficientemente competente con respecto al sistema utilizado como estándar por la NCCLS (National Comité Clinical Laboratories Standar) para el cultivo de líquidos orgánicos, los resultados arrojan los siguientes cuadros tetracóricos con sus respectivos cálculos de sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y potencia diagnóstica (PD):

Diseño estadístico del teorema de Bayes

Pba de est./Pba de ref.	Enfermos	Sanos
Positiva	A	B
Negativa	C	D

De donde:

- A = verdaderos positivos
- B = Falsos positivos
- C = Falsos negativos
- D = Verdaderos negativos

Así, para el cálculo de los parámetros expuestos en el párrafo anterior tenemos que:

$$\begin{aligned} S &= A / A+C \\ E &= D/B+D \\ VPP &= A/A+B \\ VPN &= D/C+D \\ PD &= A+D/A+B+C+D \end{aligned}$$

Análisis paramétrico para Líquido cefalorraquídeo:

Sistema BA/Sistema conv.	Crecimiento	No crecimiento	Totales
Crecimiento	3	1	4
No crecimiento	1	70	71
Totales	4	71	75

Conforme a los criterios del teorema de Bayes y realizando las operaciones correspondientes tenemos que:

$$\begin{aligned}S &= 3/(3+1) = 0.75 \\E &= 70/(70+1) = 0.98 \\VPP &= 3/(3+1) = 0.75 \\VPN &= 70/(70+1) = 0.98 \\PD &= (3+70)/(3+1+1+70) = 0.97\end{aligned}$$

Análisis paramétrico para Líquido Pleural:

Sistema BA/Sistema conv.	Crecimiento	No crecimiento	Totales
Crecimiento	7	1	8
No crecimiento	0	40	40
Totales	7	41	48

$$\begin{aligned}S &= 7/(7+0) = 1 \\E &= 40/(40+1) = 0.96 \\VPP &= 7/(7+1) = 0.87 \\VPN &= 40/(40+0) = 1 \\PD &= (7+40)/(7+1+0+40) = 0.99\end{aligned}$$

Análisis paramétrico para Líquido Peritoneal:

Sistema BA/Sistema conv.	Crecimiento	No crecimiento	Totales
Crecimiento	13	2	15
No crecimiento	4	24	28
Totales	17	26	43

$$\begin{aligned}S &= 13/(13+4) = 0.76 \\E &= 24/(24+2) = 0.92 \\VPP &= 13/(13+2) = 0.86 \\VPN &= 24/(24+4) = 0.85 \\PD &= (13+24)/(13+2+4+24) = 0.86\end{aligned}$$

Análisis paramétrico para Líquido Sinovial:

Sistema BA/Sistema conv.	Crecimiento	No crecimiento	Totales
Crecimiento	15	0	15
No crecimiento	1	12	13
Totales	16	12	28

$$S = 15/(15+1) = 0.94$$

$$E = 12/(12+0) = 1$$

$$VPP = 15/(15+0) = 1$$

$$VPN = 12/(12+1) = 0.92$$

$$PD = (15+12)/(15+12+1+0) = 0.96$$

Análisis paramétrico para Líquido de derrame pericárdico:

Sistema BA/Sistema conv.	Crecimiento	No crecimiento	Totales
Crecimiento	7	1	8
No crecimiento	1	13	14
Totales	8	14	22

$$S = 7/(7+1) = 0.87$$

$$E = 13/(13+1) = 0.92$$

$$VPP = 7/(7+1) = 0.87$$

$$VPN = 13/(13+1) = 0.92$$

$$PD = (7+13)/(7+13+1+1) = 0.99$$

Conclusiones.

Es recomendable el uso del sistema Bact/Alert para hemocultivos en el cultivo de líquido orgánicos como LCR, LPL, LPO y LSN ya que muestran reducciones en el tiempo de detección de cultivos positivos de 70.8%, 59.3%, 48.5% y 60.8% respectivamente, además de mostrar potencias diagnósticas para el método propuesto de 0.97, 0.99, 0.86 y 0.96 en el orden mencionado.

No así para el caso del LDP que muestra un retraso en el tiempo de detección del 3.7% sobre el sistema convencional, y aunque su sensibilidad (0.87), especificidad (0.92) y potencia diagnóstica (0.99) son bastante buenas, no logra el objetivo general del proyecto.

En cuanto a los objetivos específicos se refiere, se observan ciertos patrones (no evaluados estadísticamente en este proyecto) de prevalencia en ciertos microorganismos con relación a un

Análisis paramétrico para Líquido Sinovial:

Sistema BA/Sistema conv.	Crecimiento	No crecimiento	Totales
Crecimiento	15	0	15
No crecimiento	1	12	13
Totales	16	12	28

$$S = 15/(15+1) = 0.94$$

$$E = 12/(12+0) = 1$$

$$VPP = 15/(15+0) = 1$$

$$VPN = 12/(12+1) = 0.92$$

$$PD = (15+12)/(15+12+1+0) = 0.96$$

Análisis paramétrico para Líquido de derrame pericárdico:

Sistema BA/Sistema conv.	Crecimiento	No crecimiento	Totales
Crecimiento	7	1	8
No crecimiento	1	13	14
Totales	8	14	22

$$S = 7/(7+1) = 0.87$$

$$E = 13/(13+1) = 0.92$$

$$VPP = 7/(7+1) = 0.87$$

$$VPN = 13/(13+1) = 0.92$$

$$PD = (7+13)/(7+13+1+1) = 0.99$$

Conclusiones.

Es recomendable el uso del sistema BacT/Alert para hemocultivos en el cultivo de líquido orgánicos como LCR, LPL, LPO y LSN ya que muestran reducciones en el tiempo de detección de cultivos positivos de 70.8%, 59.3%, 48.5% y 60.8% respectivamente, además de mostrar potencias diagnósticas para el método propuesto de 0.97, 0.99, 0.86 y 0.96 en el orden mencionado.

No así para el caso del LDP que muestra un retraso en el tiempo de detección del 3.7% sobre el sistema convencional, y aunque su sensibilidad (0.87), especificidad (0.92) y potencia diagnóstica (0.99) son bastante buenas, no logra el objetivo general del proyecto.

En cuanto a los objetivos específicos se refiere, se observan ciertos patrones (no evaluados estadísticamente en este proyecto) de prevalencia en ciertos microorganismos con relación a un

tipo de líquido en particular, como por ejemplo el *Streptococcus pneumoniae* (80%) para el cultivo de LCR, la *Escherichia coli* (36.8%) para el LPO, la *Klebsiella pneumoniae* (37.5%) en el LPL o el *Streptococcus pyogenes* (25% y 33.3%) en el LSN y el LDP respectivamente.

También se determinó al LDP como inadecuado para cultivarse complementariamente con el sistema BacT/Alert y se observó la desventaja de no poder sustituir al sistema convencional para la recuperación total del microorganismo patógeno y con esto se dio la pauta para investigar la forma de lograr la identificación final y el patrón de susceptibilidad sin esperar un desarrollo mínimo de 18hs en placas de cultivo como se mencionará en la sección de propuestas.

Propuestas.

El proyecto aquí presentado, enmarca un estudio del uso de sistemas de monitoreo continuo automatizado en la recuperación de cultivos positivos para líquidos o fluidos orgánicos, empleando específicamente dentro de la gama comercial al sistema BacT/Alert de Organon Teknika, ya que los fabricantes manejan como indicación primaria de empleo a los hemocultivos, y solo como monitoreo "adicional" al cultivo convencional para el caso de otros fluidos, y más aún, tratándose únicamente de líquido cefalorraquídeo y líquidos de diálisis²²¹.

Algunos fabricantes, incluso han desarrollado suplementos a los viales para el caso de su empleo en otros fluidos diferentes a la sangre, tal es el caso del sistema BACTEC en sus diferentes modelos en los que se recomienda el uso de su suplemento FOS²²² para la siembra de líquido cefalorraquídeo, con ventaja en la recuperación de especies como *Haemophilus* y *Neisseria*.

Empleando los resultados de este proyecto, podrán estimarse las bases para estandarizar los volúmenes adecuados de cultivo en vial, en el caso de ser adecuada esta metodología para algún tipo de líquido en particular, desarrollarse nuevas técnicas que omitan el período de incubación en placas de medios de cultivo, o en su defecto establecer para qué tipo de muestras ofrece mayores ventajas el uso del sistema convencional en placas de cultivo, también podrán innovarse metodologías para favorecer la detección de microorganismos que se muestren reuentes a ser identificados o al menos mostrarse presentes a través de la tinción de Gram^{213,215,217} y de los cuales

tipo de líquido en particular, como por ejemplo el *Streptococcus pneumoniae* (80%) para el cultivo de LCR, la *Escherichia coli* (36.8%) para el LPO, la *Klebsiella pneumoniae* (37.5%) en el LPL o el *Streptococcus pyogenes* (25% y 33.3%) en el LSN y el LDP respectivamente.

También se determinó al LDP como inadecuado para cultivarse complementariamente con el sistema BacT/Alert y se observó la desventaja de no poder sustituir al sistema convencional para la recuperación total del microorganismo patógeno y con esto se dio la pauta para investigar la forma de lograr la identificación final y el patrón de susceptibilidad sin esperar un desarrollo mínimo de 18hs en placas de cultivo como se mencionará en la sección de propuestas.

Propuestas.

El proyecto aquí presentado, enmarca un estudio del uso de sistemas de monitoreo continuo automatizado en la recuperación de cultivos positivos para líquidos o fluidos orgánicos, empleando específicamente dentro de la gama comercial al sistema BacT/Alert de Organon Teknika, ya que los fabricantes manejan como indicación primaria de empleo a los hemocultivos, y solo como monitoreo "adicional" al cultivo convencional para el caso de otros fluidos, y más aún, tratándose únicamente de líquido cefalorraquídeo y líquidos de diálisis²²¹.

Algunos fabricantes, incluso han desarrollado suplementos a los viales para el caso de su empleo en otros fluidos diferentes a la sangre, tal es el caso del sistema BACTEC en sus diferentes modelos en los que se recomienda el uso de su suplemento FOS²²² para la siembra de líquido cefalorraquídeo, con ventaja en la recuperación de especies como *Haemophilus* y *Neisseria*.

Empleando los resultados de este proyecto, podrán estimarse las bases para estandarizar los volúmenes adecuados de cultivo en vial, en el caso de ser adecuada esta metodología para algún tipo de líquido en particular, desarrollarse nuevas técnicas que omitan el período de incubación en placas de medios de cultivo, o en su defecto establecer para qué tipo de muestras ofrece mayores ventajas el uso del sistema convencional en placas de cultivo, también podrán innovarse metodologías para favorecer la detección de microorganismos que se muestren reuentes a ser identificados o al menos mostrarse presentes a través de la tinción de Gram^{213,215,217} y de los cuales

se tenga una alta probabilidad de permanencia debido a los datos clínicos, en fin, se podrán abordar múltiples situaciones en pro a la superación de las herramientas existentes en el diagnóstico de infecciones bacterianas en líquidos orgánicos. Para el caso de investigar formas de lograr la identificación y antibiograma del microorganismo causal en un menor tiempo al del sistema convencional, en algunos laboratorios se ha trabajado conjuntamente con un sistema de automatización bacteriológica dinámico como lo es el sistema Vitek logrando identificaciones con antibiogramas para el caso de coliformes en lapsos de 7 hs. La metodología seguida ha sido a grandes rasgos la siguiente:

1. El equipo da la alarma de un vial positivo.
2. El vial es descargado del equipo y se le realiza una tinción de GramCon base en la morfología microscópica se seleccionan los medios de resiembra y se lleva a cabo.
3. Se toma una alícuota del vial y se coloca en tubos Vacutainer con gel para separar los restos celulares y de grandes partículas.
4. Se separa el sobrenadante mediante una pipeta Pasteur y se deja una capa fina de bacterias concentradas sobre el gel.
5. Se seleccionan las tarjetas de identificación y sesceptibilidad pertinentes con respecto a la tinción de Gram.
6. Se prepara una suspensión al estándar de McFarland correspondiente al microrganismo en cuestión (0.5 para Gram +, 1.0 para Gram -, 2.0 para levaduras y 3.0 para *Neisseria sp.* y *Haemophilus sp.*) para inocular las tarjetas.
7. Se inoculan y se sellan las tarjetas en el módulo mecánico y se cargan en la gradilla del lector-incubador.

Este procedimiento requiere validarse y estandarizarse, además de mejorar la separación de las bacterias de otros agentes propios del vial o de la muestra para poder realizar confiablemente

pruebas rápidas de apoyo al equipo, como lo son catalasas, oxidasas, determinaciones de indol, etc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hughes DE. Wimpenny JWT. Oxygen metabolism of microorganisms. *Adv Microb Physiol* 1989; 3:197.
2. Alexander M. *Microbial Ecology*. New York: Wiley, 1991; 589-591.
3. (Brock TD. *Microbial growth under extreme conditions*. Presentado en: 19th Symp Soc Gen Microbiol. 1989. Cambridge Univ Press).
4. Davis BD. Dulbecco R. Eisen HN. Ginsberg HS. *Tratado de microbiología*. 3a edición. México: Salvat Mexicana de Ediciones S.A. de C.V., 1990: 74-77,494,677,678
5. Emery T. Hydroxamic acids of natural origin. *Adv Enzymol* 1991; 35:135.
6. (Thomas. *Continuous culture methods and their application in recent progress in microbiology*. Presentado en: 7th Internancional Congress of Microbiology. 1959. Springfield 11 Stokholm).
7. Wilson ML. Weinstein MP. Reimer L.G. Mirretts. Reller LB. Controlled comparison of the BacT/Alert and BACTEC 660/730 nonradiometric blood culture system. *Journal Clinical Microbiology* 1992; 30:323-329.
8. Guirard BM. Snell EE. In Gunsalus IC, Stainer RY (eds). *Nutritional requirements of microorganisms. The bacteria*. New York: Academic Press, 1982: Vol 4: 33.
9. (Akzo Nobel, BacT/Alert -ORGANON TEKNIKA- Provedora Teknimex S.A deC.V. Geprgia N° 15 Col. Nápoles, México D.F., c.p. 03810. "Folleto técnico").
- 10.(Bryant DH. Enhanced recovery with the aerobic FAN culture bottle for the BacT/Alert microbial detection system. Organon Teknika Corporation Durham NC Poster Presentation ASM. May 1994. Las Vegas).
- 11.Clifford L. McDonald et col. Clinical importance of increased sensitivity of BacT/Alert FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles. *J of Clinical Microbiology* Sept 1996, 34 (9):2180-2184.

pruebas rápidas de apoyo al equipo, como lo son catalasas, oxidasas, determinaciones de indol, etc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hughes DE. Wimpenny JWT. Oxygen metabolism of microorganisms. *Adv Microb Physiol* 1989; 3:197.
2. Alexander M. *Microbial Ecology*. New York: Wiley, 1991; 589-591.
3. (Brock TD. *Microbial growth under extreme conditions*. Presentado en: 19th Symp Soc Gen Microbiol. 1989. Cambridge Univ Press).
4. Davis BD. Dulbecco R. Eisen HN. Ginsberg HS. *Tratado de microbiología*. 3a edición. México: Salvat Mexicana de Ediciones S.A. de C.V., 1990: 74-77,494,677,678
5. Emery T. Hydroxamic acids of natural origin. *Adv Enzymol* 1991; 35:135.
6. (Thomas. *Continuous culture methods and their application in recent progress in microbiology*. Presentado en: 7th Internancional Congress of Microbiology. 1959. Springfield 11 Stokholm).
7. Wilson ML. Weinstein MP. Reimer L.G. Mirretts. Reller LB. Controlled comparison of the BacT/Alert and BACTEC 660/730 nonradiometric blood culture system. *Journal Clinical Microbiology* 1992; 30:323-329.
8. Guirard BM. Snell EE. In Gunsalus IC, Stainer RY (eds). *Nutritional requirements of microorganisms. The bacteria*. New York: Academic Press, 1982: Vol 4: 33.
9. (Akzo Nobel, BacT/Alert -ORGANON TEKNIKA- Provedora Teknimex S.A deC.V. Geprgia N° 15 Col. Nápoles, México D.F., c.p. 03810. "Folleto técnico").
- 10.(Bryant DH. Enhanced recovery with the aerobic FAN culture bottle for the BacT/Alert microbial detection system. Organon Teknika Corporation Durham NC Poster Presentation ASM. May 1994. Las Vegas).
- 11.Clifford L. McDonald et col. Clinical importance of increased sensitivity of BacT/Alert FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles. *J of Clinical Microbiology* Sept 1996, 34 (9):2180-2184.

12. Henry JB. Nelson DA. Tomar RH. Washington JA. Threatte GA. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 9a edición. México: Salvat Ciencia y Cultura Latinoamericana S.A. deC.V.; 1993: 459-485.
13. Fishman RA. Cerebrospinal fluid in diseases of the nervous system. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1980.
14. Milhorat TH. Cerebrospinal fluid and the brain edemas. New York: Neuroscience Society of New York, 1987.
15. Marton KI. & Gean A.D. The spinal tap: A new look at an old test. *Ann. Intern Med.* 1995; 104:840
16. Walton JN. Subarachnoid haemorrhage. Edinbrugh: Livingstone, 1956.
17. Kjellin KG. & Soderstrom CE. Diagnostic significance of CSF spectrophotometry in cerebrovascular diseases. *J. Neurol. Sci.* 1974; 23:359.
18. Bergvall U. Kjellin K.G. Levander V. et al. Computer tomography of the brain and spectrophotometry of the CSF in cerebral concussion and contusion. *Acta Radiol.* 1978; 19:705.
19. Britton M. Hultman E. Murray V. et al. The diagnostics accuracy of CSF analyses in stroke. *Acta. Med. Scand.* 1983; 214:3.
20. Vermeulen M. Van Gijn J. & Blijenberg BG. Spectrophotometric analysis of CSF after subarachnoid haemorrhage: Limitations in the diagnosis of re bleeding. *Neurology* 1983; 33:112.
21. Pappu LD. Purohit DM. Levkoff AH. et al. CSF cytology in the neonate. *Am. J. Dis. Child.* 1982; 136:297.
22. Tastad I. Electronic counting of spinal fluid cells. *Am. J. Clin. Pathol.* 1984; 81:506.
23. Hayward RA. & Oye RK. Are polymorphonuclear leukocytes an anormal finding in cerebrospinal fluid? Results of 225 normal cerebrospinal fluid specimens. *Arch. Intern. Med.* 1988; 148:1623.
24. Kruskall MS. Carter SR. & Ritz LP. Contamination of cerebrospinal fluid by vertebral bown-marrow cells during lumbar puncture. *N. Engl. J. Med.* 1983; 308:697.
25. Kolmel HW. Atlas of Cerebrospinal Fluid Cells. New York: Springer-Verlag, 1977.
26. Mengel M. The use of the cycentrifuge in the diagnosis of meningitis. *Am. J. Clin. Pathol.* 1985; 84:212.

27. Kennedy DH. & Fallon RJ. Tuberculous meningitis. JAMA 1979; 241:264.
28. Bernard PG. Szyfelbein WM. Weiss HD. et al. Diagnosis of Cryptoccal meningitis by cytologic methods: An old technique revisited. Neurology 1980; 30:102.
29. Benson RL. Ansbacher L. Hutchinson RE. et al. Cerebrospinal fluid centrifuge analysis in primary amebic meningoencephalitis due to *Naegleria fowleri*. Arch. Pathol. Lab. Med. 1985; 109:668.
30. Scott EN. Kauffman L. Brown AC. et al. Serologic studies in the diagnosis and management of meningitis due to *Sporothrix scchenkii*. N. Engl. J. Med. 1987; 317:935.
31. Glasser L. Payne C. & Corrigan JJ. The *in vivo* development of plasma cells: A morphologic study of human cerebrospinal fluid. Neurology 1977; 27:448.
32. Kuberski T. Eosinophils in the cerebrospinal fluid. Ann. Intern. Med. 1979; 91:70.
33. Kjeldsberg CR. & Knight JA. Body fluids. Chicago: American Society of Clinical Pathologists Press, 1986.
34. Nosanchuk JS. & Kim CW. Lupus erythematous cells in CSF. JAMA 1976; 25:2883.
35. Sheth KV. Cerebrospinal and body fluids cell morphology. Chicago: ASCP Workshop Manual. American Society of Clinical Pathologists Press, 1977.
36. Lott JA. & Warren P. Estimation of reference intervals for total protein in cerebrospinal fluid. Clin. Chem. 1989; 35:1766.
37. Tourtellotte W. Staugaitis SM. Walsh MJ. et al. The basis of intra-blood-brain-barrier IgG synthesis. Ann. Neurol. 1985; 17:21.
38. Swanson JW. Multiple sclerosis: Update in diagnosis and review of prognostic factors. Clin. Proc., May 1989; 64:577.
39. Hart RG. & Sherman DG. The diagnosis of multiple sclerosis. JAMA 1982; 247:498.
40. Jacque C. Delassalle A. Rancurel G. et al. Myelin basic protein in CSF and blood. Arch. Neurol. 1982; 39:557.
41. Mukherjee A. Vogt RF. & Linthicum DS. Measurements of myelin basic protein by radioimmunoassay in closed head trauma, multiple sclerosis and other neurological diseases. Clin. Biochem. 1985; 18:304.

42. Gupta MK, Whitaker JN, Johnson C, et al. Measurement of immunoreactive myeline basic protein peptide in cerebrospinal fluid. *Ann. Neurol.* 1988; 23:274.
43. Powers WJ. Cerebrospinal fluid to serum glucose ratios in diabetes mellitus and bacterial meningitis. *Am. J. Med.* 1981; 71:217.
44. Rutledge J, Benjamin D, Hood L, et al. Is the CSF lactate measurement useful in the management of children with suspected bacterial meningitis?. *J. Pediatr.* 1981; 98:20.
45. Herold DA, Savory J, & Bruns DE. Lactic acid in cerebrospinal fluid: Evaluation and application of an automated enzymatic assay. *Ann Clin. Lab. Sci.* 1981; 11:416.
46. Berg B, Gardsell P, & Skansberg P. Cerebrospinal fluid lactate in the diagnosis of meningitis. *Scand. J. Infect. Dis.* 1982; 14:111.
47. Jordan GW, Statland B, & Halstad C. CSF lactate in disease of the CNS. *Arch. Intern. Med.* 1983; 143:85.
48. Donald PR, & Malan C. Cerebrospinal fluid lactate and lactate dehydrogenase activity in the rapid diagnosis of bacterial meningitis. *S. Afr. Med. J.* 1986; 69:39.
49. Body BA, Oneson RH, & Herold DA. Use of cerebrospinal fluid lactic acid concentration in the diagnosis of fungal meningitis. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1987; 17:429.
50. Landaas S, & Von Der Lippe B. Chemical analyses for early differential diagnosis between bacterial and viral meningitis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1985; 45:525.
51. DeSalles AAF, Kontos HA, Becker DP, et al. Prognostic significance of ventricular CSF lactic acidosis in severe head injury. *J. Neurosurg.* 1986; 65:615.
52. Mathew OP, Bland H, Boxerman SB, et al. CSF lactate levels in high risk neonates with and without asphyxia. *Pediatrics* 1980; 66:224.
53. McGuinness GA, Weisz SC, & Bell WE. CSF lactate levels in neonates. *Am. J. Dis. Child.* 1983; 137:48.
54. Engelke S, Bridgers S, Saldanha RL, et al. Cerebrospinal fluid lactate dehydrogenase in neonatal intracranial hemorrhage. *Am. J. Med. Sci.* 1986; 291:391.

55. Twijnstra A. Van Zanten AP. Hart AAM. et al. Serial lumbar and ventricular cerebrospinal fluid lactate dehydrogenase activities in patients with leptomeningeal metastases from solid and haematological tumours. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1987; 50:313.
56. Pfeiffer FE. Homburger HA. & Yanagihara T. Creatine kinase BB isosymes in CSF in neurologic disease. *Arch. Neurol.* 1983; 40:169.
57. Rabow L. DeSalles AAF. Becker DP. et al. CSF brain creatine kinase level and lactic acidosis in severe head injury. *J. Neurol. Surg.* 1986; 65:625.
58. Roine RO. Somer H. Kaste M. et al. Neurological outcome after out-of-hospital cardiac arrest. Prediction by cerebrospinal fluid enzyme analysis. *Arch. Neurol.* 1989; 46:753.
59. Gross S. & Khayam-Bashi. Measurement of L-glutamine in cerebrospinal fluid utilizing the Ektachem 400. *Clin Chem.* 1984; 30:989.
60. Mizock BA. Dubin A. & Rackow EC. Elevated cerebrospinal fluid glutamine in septic encephalopathy. *J. Clin. Gastroenterol.* 1989; 11:362.
61. Yap B. Yap H. Fritsche HA. et al. CSF carcinoembryonic antigen in meningeal carcinomatosis from breast cancer. *JAMA* 1980; 244:1601.
62. Schold SC. Wassenstrom WR. Fleisher M. et al. Cerebrospinal fluid biochemical markers of central nervous system metastases. *Ann. Neurol.* 1980; 8:597.
63. Twijnstra A. Nooyen WJ. Van Zanten AP. et al. Cerebrospinal fluid carcinoembryonic antigen in patients with metastatic and nonmetastatic neurological diseases. *Arch. Neurol.* 1986; 43:269.
64. Bagshawe KD. & Hardland S. Immunodiagnosis and monitoring of gonadotrophin-producing metastases in the central nervous system. *Cancer.* 1976; 38:112.
65. Chen JH. Measurement of gonadotropin in cerebrospinal fluid. *N. Engl. J. Med.* 1977; 297:114.
66. Mattesson EL. Flagler DG. & Mesara BW. IgG synthesis rate in evaluation of multiple sclerosis in a community hospital. *Neurology* 1987; 37:847.
67. Markowitz H. & Kokman E. Neurologic diseases and the cerebrospinal fluid immunoglobulin profile. *Mayo Clin. Proc.* 1983; 58:273.

68. Lefreit A. & Link H. IgG production within central nervous system: A critical review of proposed formulae. *Ann. Neurol.* 1985; 17:13.
69. Marshall DW. Breg RL. Cahill WT. et al. Spectrum of cerebrospinal fluid findings in various stages of human immunodeficiency virus infection. *Arch. Neurol.* 1988; 45:954.
70. Caroscio JT. Kochwa S. Sacks H. et al. Quantitative cerebrospinal fluid IgG measurements as a marker of disease activity in multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 1986; 43:1129.
71. Rudick RA. French CA. Breton D. et al. Relative diagnostic value of cerebrospinal fluid kappa chains in MS: Comparison with other immunoglobulin tests. *Neurology* 1989; 39:964.
72. Livanainen M. Leinikki P. Taskinen E. et al. CSF oligoclonal bands, immunoglobulins and viral antibodies in progressive myoclonus epilepsy. *Arch Neurol.* 1981; 38:206.
73. Wallen WC. Biggar RJ. Levine PH. & Livanainen MV. Oligoclonal IgG in CSF of patients with african Burkitt's lymphoma. *Arch. Neurol.* 1983; 40:11.
74. Grimaldi LME. Castagna A. Lazzarin A. et al. Oligoclonal IgG bands in cerebrospinal fluid and serum during asymptomatic human immunodeficiency virus infection. *Ann. Neurol.* 1988; 24:277.
75. Martin WJ. Rapid and reliable techniques for the laboratory detection of bacterial meningitis. *Am. J. Med.* 1983; 75(Suppl 1B):119.
76. Clark D. & Cost K. Use of C-reactive protein in differentiating septic from aseptic meningitis in children. *J. Pediatr.* 1983; 102:718.
77. Phillip AGS. & Baker CJ. Cerebrospinal fluid C-reactive protein in neonatal meningitis. *J. Pediatr.* 1983; 102:715.
78. Jaffe WH. The laboratory diagnosis of syphilis. *Ann. Intern. Med.* 1975; 83:846.
79. Davis LE. & Schmith JW. Clinical significance of cerebrospinal fluid test for neurosyphilis. *Ann. Neurol.*, 1989; 25:50.
80. Davis LE. & Sperry S. The CSF-FTA test and the significance of blood contamination. *Ann Neurol.* 1979; 6:68.
81. Dans PE. Cafferty L. Otter SE. et al. Inappropriate use of the cerebrospinal fluid Venereal Diseases Research Laboratory (VDRL) test to exclude neurosyphilis. *Ann. Intern. Med.* 1986; 104:86.

82. Kaufman L. & Reiss E. Serodiagnosis of fungal diseases. *In* Rose NR. Friedman H. & Fahey JL. (eds.). *Manual of clinical immunology*. 3rd ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1986: 457.
83. Drutz DJ. Antigen detection in fungal infections. *N. Engl. J. Med.* 1986; 314:115.
84. Coovadia YM. & Solwa Z. Sensitivity and specificity of a latex agglutination test for detection of cryptococcal antigen in meningitis. *S. Afr. Med. J.* 1987; 18:510.
85. Mackinnon S. Kane JG. & Parker RH. False positive cryptococcal antigen test and cervical prevertebral abscess, *JAMA* 1978; 240:1982.
86. Kadival GV. Samuel AM. Mazarelo TB. et al. Radioimmunoassay for detecting *Mycobacterium tuberculosis* antigen in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis. *J. Infect. Dis.* 1987; 155:608.
87. Watt G. Zaraspe G. Bautista S. et al. Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by using an enzyme-linked immunosorbent assay to detect mycobacterial antigen and antibody in cerebrospinal fluid. *J. Infect. Dis.* 1988; 158:681.
88. Buck GE. Nonculture methods for detection and identification of microorganisms in clinical specimens. *Pediatr. Clin. North Am.* 1989; 36(1):95.
89. Dougherty JM. and Jones J. Cerebrospinal fluid cultures and analysis. *Ann Emerg. Med.* 1986; 15:317.
90. Shanholtzer CJ. Shaper PJ. and Peterson LR. Concentrated Gram stain smears prepared with cytopsp in centrifuge. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 16:1052.
91. Daniel TM. New approaches to the rapid diagnosis of tuberculous meningitis. *J. Infect. Diseases.* 1987; 155:599.
92. Sheller JR. & DesPrez RM. CNS tuberculosis. *Neurol. Clin.* 1986; 4(i):143.
93. Portnoy D. & Richards GK. Cryptococcal meningitis: Misdiagnosis with India ink. *Can. Med. Assoc. J.* 1981; 124:891.
94. Nashamkin I. & Dalton HP. The clinical significance of streptococcal species isolated from cerebrospinal fluid. *Am. J. Clin. Pathol.* 1983; 79:195.

95. McGinnis MR. Detection of fungi in cerebrospinal fluid. *Am. J. Med.* 1983; 75 (Suppl 1B):129.
96. Chonmaitree T. Menegus MA. & Power KR. The clinical relevance of CSF viral culture: *JAMA* 1982; 247:1843.
97. Boyle AL. Friedman TA. Braunstein H. et al. Rapid diagnosis of primary meningoencephalitis due to *Naegleria*: Detection of organisms with bacterial stains. *J. Clin. Pathol.* 1979; 32:306.
98. Bia FJ. & Barry M. Parasitic infection of the central nervous system. *Neurol. Clin.* 1986; 4(i):171.
99. Harris ED. Biology of the joint. *In* Kelley WN. Harris ED. Ruddy S. Sledge CB. (eds). *Textbook of Rheumatology*. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1981: 255.
100. Gatter RA. A practical Handbook of Joint Fluid Analysis. Philadelphia: Lea & Febiger, 1984: 387-392
101. Cohen AS. & Goldenberg D. Synovial fluid. *In* *Laboratory Diagnostic Procedures in the Rheumatic Diseases*. 3rd ed. New York: Grune & Stratton, 1985: 289.
102. Goldenberg DL. Infectious arthritis complicating rheumatoid arthritis and other chronic rheumatic disorders. *Arthritis Rheum.* 1989; 32:496.
103. Dieppe P. Champion G & Doherty M. Mixed crystal deposition. *Rheum Dis. Clin. North. Am.* 1988; 14(2):415.
104. Schumacher HR. Jr. Sieck M.S. Rothfuss S. et al. Reproducibility of synovial fluid analyses. *Arthritis Rheum.* 1986; 29:770.
105. Sharp JT. Lidsky MD. Duffy J. et al. Infectious arthritis. *Arch. Intern. Med.* 1979; 139:1125.
106. Goldengerg DL. & Reed JI. Bacterial arthritis. *N. Engl. J. Med.* 1985; 312:764.
107. Villanueva TG. & Schumacher HR. Jr. Cytologic examination of synovial fluid. *Diagn. Cytopathol.* 1987; 3:141.
108. Kjeldsberg CR. & Knight JA. *Body Fluids: Laboratory examination of cerebrospinal synovial and serous fluids. A textbook Atlas*. Chicago: American Society of Clinical Pathologists, 1986.
109. Traycoff RB. Pascual E. & Schumacher HR. Mononuclear cells in human synovial fluid. Identification of lymphoblasts in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1976; 19:743.

110. Van Leeuwen. AWFM. Meyer CJLM. Van de putte LBA. et al. Sézary type cells in rheumatoid synovial fluid. *Lancet* 1976; 1:248.
111. Podell TE. Ault M. Sullam P. et al. Synovial fluid eosinophilia. *Arthritis Rheum.* 1980; 23:1060.
112. Foray G. Dhondt JL. Leloire V. et al. Reactive arthritis and *Strongyloides*. *JAMA* 1988; 259:2546.
113. Kay J. Eichendield AH. Athrega BH. et al. Synovial fluid eosinophilia in Lyme disease. *Arthritis Rheum.* 1988; 31:1384.
114. Hunder GG. & Pierre RU. *In vivo* cell LE formation in synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 1970; 13:448.
115. Naib ZM. Cytology of synovial fluids. *Acta Cytol.* 1973; 17:299.
116. Broderick PA. Converse N. Pierik MG. et al. Exfoliative cytology interpretation of synovial fluid in joint disease. *J. Bone Joint Surg.* 1976; 58A:396.
117. Simkin PA. Articular oxalate crystals and the taxonomy of gout. *JAMA* 1988; 260:1285.
118. McCarty DJ. Crystal identification in human synovial fluids. Methods and interpretation. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 1988; 14(2):253.
119. Rubenstein J. and Pritzker KPH. Crystal-associated arthropaties. *AJR* 1989; 152:685.
120. Fagan TJ. & Lidsky MD. Compensated polarized light microscopy using cellophane adhesive tape. *Arthritis Rheum.* 1974; 17:256.
121. Wild JH. & Zvaifler NJ. An office technique for identifying crystals in synovial fluid. *Am. Fam. Physician* 1975; 12:72.
122. Weinstein J. Synovial fluid leukocytosis associated with intracellular lipid inclusions. *Arch. Intern. Med.* 1980; 140:560.
123. Rosenthal A. Ryan LM. & McCarty DJ. Arthritis associated with calcium oxalate crystals in an anephric patient treated with peritoneal dialysis. *JAMA* 1988; 260:1280.
124. Kahn CB. Hollander JL. & Schumacher HR. Corticosteroid crystals in synovial fluid. *JAMA* 1970; 211:807.
125. Meyers OL. & Watermeyer GS. Cholesterol rich synovial effusions. *S. Afr. Med. J.* 1976; 50:973.

126. Georgewill DA. Graham GA. & Schoen I. Applicability of the Ektachem 400 analyzer for assaying analyses in miscellaneous body fluids. *Clin. Chem.* 1988; 314:2534.
127. Sibley JT. Harth M. & Burnns DE. The mucin clot test and the synovial fluid rheumatoid factor as diagnostic criteria in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 1983; 10:889.
128. Eisenberg JM. Schumacher HR. Davidson PK. et al. Usefulness of synovial fluid analysis in the evaluation of joint effusions. *Arch. Intern. Med.* 1984; 144:715.
129. Wallace R. & Cohen AS. Tuberculous arthritis. A report of two cases with review of biopsy and synovial fluid findings. *Am. J. Med.* 1976; 61:277.
130. Paulsen O. & Berghard G. Synovial fluid lactate determinations as a diagnostic aid in cases of monoarticular arthritis. *Scand J. Infect. Dis.* 1981; 13:239.
131. Kolba KS. The approach to the acute joint and synovial fluid examination. *Primary Care* 1984; 11(2):211.
132. Brook I. Reza MJ. Bricknell KS. et al. Synovial fluid lactic acid. A diagnostic aid in septic arthritis. *Arthritis Rheum.* 1978; 21:774.
133. Mossman SS. Coleman JM. Gow PJ. et al. Synovial fluid acid in septic arthritis. *N.Z. Med. J.* 1981; 93:115.
134. Curtis GD. Neuman RJ. and Slack MP. Synovial fluid lactate and the diagnosis of septic arthritis. *J. Infect.* 1983; 6:239.
135. Falchuk KH. Goetzel EJ. Kulka JP. Respiratory gases of synovial fluids. *Am. J. Med.* 1970; 49:223.
136. Treuhart PS. & McCarty DJ. Synovial fluid pH, lactate, oxygen and carbon dioxide partial pressure in various joint diseases. *Arthritis Rheum.* 1971; 14:475.
137. Goetzel EJ. Rynes RI. & Stillman JS. Abnormalities of respiratory gases in synovial fluid of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1974; 17:450.
138. Granfors K. Jalkanen S. Von Essen C. et al. Yersinia antigens in synovial fluid cells from patients with reactive arthritis. *N. Engl. J. Med.* 1989; 320:216.
139. Black LE. The pleural space and pleural fluid. *Clin. Proc.* May 1972; 47:493.

140. Light RW, MacGregor MI, Luchsinger PC, et al. Pleural effusions: The diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann. Intern. Med.* 1972; 77:507.
141. Hamm H, Brohan U, Bohmer R, et al. Cholesterol in pleural effusions. A diagnostic acid. *Chest* 1987; 92:296.
142. Seriff NS, Cohen ML, Samuel P, et al. Chylotorax: Diagnosis by lipoprotein electrophoresis of serum and pleural fluid. *Thorax* 1977; 32:98.
143. Staats BA, Ellefson RD, Budahn LL, et al. The lipoprotein profile of chylous and nonchylous pleural effusions. *Mayo Clin. Proc.* 1980; 55:700.
144. Klepser RG, & Berry JF. The diagnosis and surgical management of chylotorax with the aid of lipophilic dyes. *Dis. Chest* 1954; 25:409.
145. Carr DT. Diagnostic studies of pleural fluid. *Surg. Clinics North Am.* 1973; 53 (4):80.
146. Cheson BD. Clinical utility of body fluid analyses. *Clin. Lab. Med.* 1985; 5(2):195.
147. Spriggs AI, & Boddington MM. *The Cytology of Effusions*. London: Heinemann, 1968.
148. Berger WH, Rammohan G, Neff MS, et al. Uremic pleural effusion. *Ann. Intern. Med.* 1975; 82:362.
149. Venes JL. Pleural fluid effusion and eosinophilia following ventriculopleural shunting. *Den. Med. Child. Neurol.* 1974; 16:72.
150. Kumar UN, Varkey B, & Mathai G. Post traumatic pleural fluid and blood eosinophilia. *JAMA* 1975; 234:625.
151. Askin FB, McCann BG, & Kuhn C. Reactive eosinophilic pleuritis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1977; 101:187.
152. Osamura RY, Shioya S, Handa K, et al. Lupus erythematosus cells in pleural fluid: Cytologic diagnosis of two patients. *Acta Cytol.* 1977; 21:215.
153. Sahn SA. Pleural fluid analysis: Narrowing the differential diagnosis. *Semin. Respir. Med.* 1987; 9(1):22.
154. Potts DE, Taryle DA, & Sahn S.A. The glucose pH relationship in parapneumonic effusion. *Arch. Intern. Med.* 1978; 138:1378.

155. Good JT. Jr. Teryle DA. Mautiltz RM. et al. The diagnostic value of pleural fluid pH. *Chest* 1980; 78:55.
156. Dye RA. & Laforet EG. Esophageal rupture: Diagnosis by pleural fluid pH. *Chest* 1974; 66:454.
157. Miller KS. Wooten S. & Sahn SA. Urinothorax : A cause of low pH transudative pleural effusion. *Am. J. Med.* 1988; 85:448.
158. Houston MC. Pleural effusion: Diagnostic value of measurements of pO₂, pCO₂, and pH. *South. Med. J.* 1981; 74:585.
159. Light RW. MacGregor MI. Ball WC. et al. Diagnostic significance of pleural fluid pH and pCO₂. *Chest* 1973; 64:591.
160. Light RW. Girard WM. Jenkinson SG. et al. Parapneumonic effusions. *Am. J. Med.* 1980; 69:507.
161. Brook I. Measurement of lactic acid in pleural fluid. *Respiration* 1980; 40:344.
162. Gästrin B. & Lövestad A. Diagnostic significance of pleural and pulmonary disease. *Scand J. Infect. Dis.* 1988; 20:85.
163. Tamura S. Nishigaki T. Moriwaki Y. et al. Tumor markers in pleural effusion diagnosis. *Cancer* 1988; 61:298.
164. Mezger J. Permmannetter W. Gerbes AL. et al. Tumour associated antigens in diagnosis of serious effusions. *J. Clin. Pathol.* 1988; 41:633.
165. Kjeldsberg CR. & Marty J. Use of immunologic tumor markers in body fluid analysis. *Clin. Lab. Med.* 1985; 5(2):233.
166. Pattersson T. Klockars M. & Hellström PE. Chemical and immunological features of pleural effusions: Comparison between rheumatoid arthritis and other diseases. *Thorax* 1982; 37:354.
167. Prakash LBS. Comparison of needle biopsy with cytologic analysis for the evaluation of 414 cases. *Mayo Clin. Proc.* 1985; 60:158.
168. Jay SJ. Pleural effusions, 2. Definitive evaluation of the exudate. *Postgrad. Med.* 1986; 80(2):181.
169. Jacobson ES. A case of secondary echinococcosis diagnosed by cytologic examination of pleural fluid and needle biopsy of pleura. *Acta Cytol.* 1973; 17:76.

- 170.Mann W. Millen JE. & Glauser FL. Bloody pericardial fluid. The value of both gas measurements. JAMA 1978; 239:2151.
- 171.Hudspeth AS. & Miller HS. Isolated (primary) chylopericardium. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1966; 51:528.
- 172.Agner RC. & Gallis HA. Pericarditis. Differential diagnosis considerations. Arch. Intern. Med. 1979; 139:407.
- 173.Seaman AJ. & Chisterson JW. Demonstration of LE cells in pericardial fluid. JAMA 1952; 149:145.
- 174.Kinding JR. & Goodman MR. Clinical utility of pericardial fluid pH determinations. Am. J. Med. 1983; 75:1077.
- 175.Pare P. Talbot J. & Hoefs JC. Serum-ascites albumin concentration gradient: A physiologic approach to the differential diagnosis of ascites. Gastroenterology 1983; 85:240.
- 176.Rector WG. & Reynolds TB. Superiority of the serum ascites albumin difference over the ascites total protein concentration in separation of "transudative" and "exudative" ascites. Am. J. Med. 1984; 77:83.
- 177.McCoy J. & Wolma FJ. Abdominal tap. Am. J. Surg. 1971; 122:693.
- 178.Diamonon JS. & Barnes JP. Choleperitoneum. Am. Surg. 1964; 30:331.
- 179.Lesser GT. Bruno MS. & Enselberg K. Chylous ascities. Arch. Intern. Med. 1970; 125:1073.
- 180.Feied CF. Diagnostyic peritoneal lavage. Postgrad. Med. 1989; 85(4):40.
- 181.Sherman JC. Delaurier GA. Hawkins ML. et al. Percutaneous peritoneal lavage in blunt trauma patients: A safe and accurate diagnostic method. J. Trauma 1989; 29:801.
- 182.Ryan JJ. Kyes FN. Horner WR. et al. Critical analysis of open peritoneal lavage in blunt abdominal trauma. Am. J. Surg. 1986; 151:221.
- 183.Feliciano DV. Bitondo CG. Steed G. et al. Five hundred opens taps or patients lavage in patients with abdominal satb wounds. Am. J. Surg. 1984; 148:772.
- 184.Olsen WR. Redman HC. & Hildreth DH. Quantitative peritoneal lavage in blunt abdominal trauma. Arch. Surg. 1972; 104:536.

185. Robert JH. Meyeer P. Rohner A. Can serum and peritoneal amylase and lipase determination help in the early prognosis of acute pancreatitis? *Ann. Surg.* 1986; 203:163.
186. Richardson JD. Flint ML. & Polk HC. Jr. Peritoneal lavage: A useful diagnostic adjunct for peritonitis. *Surgery* 1983; 94:826.
187. Hoffman J. Lanng C. & Skokouh-Amiri MH. Peritoneal lavage in the diagnosis of acute peritonitis. *Am. J. Surg.* 1988; 155:359.
188. Stewart RJ. Gupta RK. Purdie GL. et al. Fine-catheter aspiration cytology of peritoneal cavity improves decision-making about difficult cases of acute abdominal pain. *Lancet* 1986; 2:1414.
189. Ward PCJ. Interpretation of ascitic fluid data. *Posgrad. Med.* 1982; 71(2):171.
190. Stassen WN. McCullough AJ. Bacon BR. et al. Immediate diagnostic criteria for bacterial infection of ascitic fluid. *Gastroenterology* 1986; 90:1247.
191. Hoefs JC. Increase in ascites with blood cell and protein concentration during diuresis in patients with chronic liver disease. *Hepatology* 1981; 1:249.
192. Adams HW. & Mainz DI. Eosinophilic ascites. *Am. J. Digest. Dis.* 1977; 22:40.
193. Metzger AL. Coyne M. & Lee S. *In vivo* LE cell formation in peritonitis due to SLE. *J. Rheumatol.* 1974; 1:130.
194. Polak M. & Torres DAC. Diagnostic value of the estimation of glucose in ascitic fluid. *Digestion* 1973; 8:347.
195. Brown JD. & An ND. Tuberculous peritonitis. *Am. J. Gastroenterol.* 1976; 66:277.
196. Lee HH. Carlson - R.W. & Bull DM. Early diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis: Values for ascitic fluid variables. *Infection* 1987; 15:232.
197. Rumyon BA. Amylase levels in ascitic fluid. *J. Clin. Gastroenterol.* 1989; 9:172.
198. Gray EB. Jr. & Amador E. Acute mesenteric venous thrombosis simulating acute pancreatitis: The value of peritoneal and fluid analysis *JAMA* 1958; 167:1734.
199. Amerson JR. Howard JM. and Vowles KDJ. The amylase concentration in serum and peritoneal fluid following acute perforation of gastroduodenal ulcers. *Ann. Surg.* 1958; 147:245.

200. Rush BE. Host WR. Fewel J. et al. Intestinal ischemia and some organic substances in serum and abdominal fluid. *Arch, Surg.* 1972; 109:151.
201. Delany HM. Moss CM. & Carnevale N. The use of enzyme analysis of peritoneal blood in the clinical assessment of abdominal organ injury. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1976; 142:167.
202. Boyer TD. Kahn AM. & Reynolds TB. Diagnostic value of ascitic fluid lactic dehydrogenase, protein and WBL-levels *Arch. Intern. Med* 1978; 138 1103.
203. Green LS. Levine R. Gross MJ. et al. Distinguishing between malignant and cirrhotic ascites by computerized step-wise discriminant functional analysis of its biochemistry, *Am. J. Gastroenterol.* 1978; 70:448.
204. Garcia Tsao G. Conn HO. & Lerner E. The diagnosis of bacterial peritonitis: Comparison of pH, lactate concentration and leukocyte count. *Hepatology* 1985; 15.
205. Mansberger AR. The diagnostic value of abdominal paracentesis with special reference to peritoneal fluid ammonial levels. *Am. J. Gastroenterol.* 1964; 42:150.
206. Gitlin N. Stauffer JL. & Silvestri RC. The pH and ascitic fluid in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 1982; 2:408.
207. Attali P. Turner K. & Peletier G. pH of ascitic fluid: Diagnostic and prognostic value in cirrhotic and non cirrhotic patients. *Gastroenterology* 1986; 90:1255.
208. Jungst D. Gerbes AL. Martin R. et al. Value of ascitic lipids in the differentiation between cirrhotic and malignant ascites. *Hepatology* 1986; 6:239.
209. Lowenstein MS. Rottgers RA. Feinerman AE. et al. Carcinoembryonic antigen assays of ascites and detection of malignancy. *Ann. Intern. Med.* 1978; 88:635.
210. Pinto MM. Bernstein LH. Brogan DA. et al. Immunoradiometric assay of CA-125 in effusions: Comparison with carcinoembryonic antigen. *Cancer* 1987; 59:218.
211. Reimer LG. Approach to the analysis of body fluids for the detection of infection. *Clin. Lab. Med.* 1985; 5(2):209.
212. (Bernard D. Et al. Clinical comparison of the FAN and standard BacT/Alert blood culture media. Laboratory of Bacteriology University Hospital Gent Belgium).

- 213.(Petruzzello G. Et al. Comparison of BacT/Alert blood culture system to the conventional two bottle culture system. Boston MA: Brigham and women's hospital).
- 214.Koneman EW. Allen SD. Dowell VR. Janda WM. Sommers HM. Winn WC. Diagnóstico microbiológico texto y atlas color. 3er ed. Argentina: Panamericana; 1992: 182,161,787.
- 215.(Patel M. Et al. An evaluation of the performance of the BacT/Alert blood culture system. Toronto Ontario: Mount Sinai and Princess Margaret hospitals).
- 216.(Steele J. Lovell R. Rectenwald J. Five vs seven day incubation of BacT/Alert blood cultures. Augusta GA. Medical College of Georgia).
- 217.Wilson LM. Weinstein MP. Mirrett S. Reimer LG. Feldman RJ. Chuard CR. & Reller LB. Controlled evaluation of BacT/Alert standard anaerobic and FAN anaerobic blood culture bottles for the detection of bacteremia and fungemia. J.Clin. Microbiol. 1995; 33(9):2265-2270.
- 218.(Stieritz D. Et al. Effect of delayed entry on time to positivity. Philadelphia PA. Hahnemann University).
- 219.(Snyder D. Hankerd R. & Pierson C. Delayed recovery of yeasts from blood cultures containing antifungal agents. Ann Arbor MI. University of Michigan Medical Center).
- 220.(Brown DFJ. Matthews I. & Farrington M. Evaluation of the BacT/Alert aerobic FAN bottle for blood cultures. Cambridge England. Clinical Microbiology and Public Health Laboratory).
- 221.Khare S. Yurack J. & Toye B. Culture of dialysate in suspected CAPD associated peritonitis using the BacT/Alert system. Diagn. Microbiol. Infect. 1996; 25:101-106.
- 222.(Shafi MS. Mulhall S. Stevens M. A comparison of the BacT/Alert® with the fluorescent Bactec 9240 blood culture system. Poster 196 presentado en: 7th ECCMID. March 27-30 1995. Viena Austria).