



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“IMPORTANCIA DE LOS ANÁLISIS CLÍNICOS
EN LÍQUIDOS CORPORALES PARA EL
DIAGNÓSTICO MÉDICO”**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MARVIN GRISEL VÁZQUEZ DAMIÁN

MÉXICO, D. F

2015





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dr. Pastelin Palacios Rodolfo

VOCAL: Q.F.B. Gutiérrez Ramos Abel

SECRETARIO: M. en C. Martínez Álvarez Julio César

1er. SUPLENTE: Q.F.B. Mendieta Rergis Araceli

2° SUPLENTE: Q.F.B. Hernández Salas Marisol

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

FACULTAD DE QUÍMICA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. Julio César Martínez Álvarez

SUSTENTANTE:

Marvin Grisel Vázquez Damián

ABREVIATURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. INFORMACIÓN GENERAL DEL TEMA	
1. GENERALIDADES DE LOS LÍQUIDOS CORPORALES	4
1.1 ANÁLISIS GENERAL DE LOS LÍQUIDOS CORPORALES.....	8
1.2 PRECAUCIONES Y MEDIDAS DE SEGURIDAD EN EL MANEJO DE LÍQUIDOS CORPORALES.....	11
1.3 CONTROL DE CALIDAD EN EL ESTUDIO DE LÍQUIDOS CORPORALES	12
2. LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO	
2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	17
2.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.....	20
2.3 EXAMEN FÍSICO.....	22
2.4 EXAMEN MICROSCÓPICO.....	24
2.5 EXAMEN QUÍMICO.....	32
2.6 EXAMEN MICROBIOLÓGICO.....	38
2.7 VALORES DE REFERENCIA.....	41
2.8 PRUEBAS ADICIONALES.....	42
3. LÍQUIDO SINOVIAL	
3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES	43
3.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.....	44
3.3 CLASIFICACIÓN DEL LÍQUIDO SINOVIAL.....	45
3.4 EXAMEN FÍSICO.....	47
3.5 EXAMEN MICROSCÓPICO.....	49
3.6 EXAMEN QUÍMICO.....	57
3.7 EXAMEN MICROBIOLÓGICO.....	58
3.8 VALORES DE REFERENCIA.....	59
3.9 PRUEBAS ADICIONALES.....	60
4. LÍQUIDO PERITONEAL	
4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES	62
4.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.....	64
4.3 CLASIFICACIÓN DEL LÍQUIDO PERITONEAL.....	65
4.4 EXAMEN FÍSICO.....	65
4.5 EXAMEN MICROSCÓPICO.....	67
4.6 EXAMEN QUÍMICO.....	70

4.7 EXAMEN MICROBIOLÓGICO.....	72	
4.8 VALORES DE REFERENCIA.....	73	
4.9 PRUEBAS ADICIONALES.....	73	
5. LÍQUIDO PLEURAL		
5.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	75	
5.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.....	77	
5.3 TIPOS DE DERRAMES PLEURALES.....	79	
5.4 EXAMEN FÍSICO.....	81	
5.5 EXAMEN MICROSCÓPICO.....	82	
5.6 EXAMEN QUÍMICO.....	84	
5.7 EXAMEN MICROBIOLÓGICO.....	86	
5.8 PRUEBAS ADICIONALES.....	88	
6. LÍQUIDO PERICÁRDICO		
6.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	86	
6.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA.....	91	
6.3 TIPOS DE LÍQUIDO PERICÁRDICO.....	92	
6.4 EXAMEN FÍSICO.....	92	
6.5 EXAMEN MICROSCÓPICO.....	93	
6.6 EXAMEN QUÍMICO.....	95	
6.7 EXAMEN MICROBIOLÓGICO.....	96	
6.8 PRUEBAS ADICIONALES.....	96	
7. FUNDAMENTO BIOQUÍMICO DE LAS DETERMINACIONES REALIZADAS EN LÍQUIDOS CORPORALES.....		97
ANEXO 1. EXAMEN CITOLÓGICO.....		103
ANEXO 2. TINCIÓN DE WRIGHT.....		107
ANEXO 3. TINCIÓN DE GRAM.....		108
ANEXO 4. TINCIÓN DE BAAR.....		109
ANEXO 5. TINCIÓN DE TINTA CHINA.....		110
ANEXO 6. PREPARACIÓN DE REACTIVOS.....		111
III. DISCUSIÓN		114
IV. CONCLUSIONES.....		118
V. BIBLIOGRAFÍA		119

ABREVIATURAS

ACBI	association of clinical biochemist in Ireland
ADA	adenosín desaminasa
ANA	anticuerpos antinucleares
AFP	alfa-fetoproteína
BAAR	bacilos ácido alcohol resistentes
β hCG	gonadotrofina coriónica humana
BHE	barrera hematoencefálica
BNP	péptido natriurético cerebral
BTS	british thoracic society
CK	creatincinasa
CKBB	creatincinasa BB
CKMB	creatincinasa MB
CLSI	Clinical and Laboratory Standar Institute
dL	decilitro
EDTA	ácido etilendiaminotetracético
FDA	Food and drug administration
FR	factor reumatoide
IgA	inmunoglobulina A
IgG	inmunoglobulina G
IgM	inmunoglobulina M
LCR	líquido cefalorraquídeo
LDH	lactato deshidrogenasa
LEC	líquido extracelular
LIC	líquido intracelular
LIT	líquido intersticial
mg	miligramos
mL	mililitros
μ L	microlitros
ng	nanogramos
nm	nanómetros
PBE	peritonitis bacteriana espontánea
PCR	proteína C reactiva

pH potencial de hidrógeno
SNC sistema nervioso central
U/L unidades por litro
VDRL Venereal Disease Research Laboratory

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución del agua corporal total	5
Figura 2. Composición de Líquido intracelular, Líquido intersticial y plasma.....	6
Figura 3. Estructura del SNC y circulación de LCR	18
Figura 4. Técnica para realizar la punción lumbar	21
Figura 5. Comparación de la coloración de LCR.....	23
Figura 6. Linfocitos.....	26
Figura 7. Monocitos.....	26
Figura 8. Neutrófilos.....	27
Figura 9. Macrófago.....	27
Figura 10. Macrófago con gránulos de hemosiderina.....	27
Figura 11. Eosinófilos.....	28
Figura 12. Células coroideas.....	28
Figura 13. Células ependimarias.....	29
Figura 14. Células fusiformes.....	29
Figura 15. Células plasmáticas.....	29
Figura 16. Blastos.....	30
Figura 17. Células de linfoma.....	31
Figura 18. Carcinoma de células pequeñas, carcinoma vesical y melanoma amelánico.....	32
Figura 19. Astrocitoma.....	31
Figura 20. Meduloblastoma.....	31
Figura 21. Ependimoma.....	32
Figura 22. Imagen de criptococo con su cápsula. Preparación en fresco, tinción de tinta china	40
Figura 23. Diagrama de una articulación sinovial.....	43
Figura 24. Artrocentesis en codo y rodilla.....	45
Figura 25. Aspecto del líquido sinovial.....	47
Figura 26. Inclusiones del líquido sinovial.....	47
Figura 27. Líquido sinovial normal y hemorrágico.....	48
Figura 28. Prueba de viscosidad muestra un LS de viscosidad normal.....	49
Figura 29. Proliferación de Células sinoviales.....	50
Figura 30. Células localizadas en Líquido sinovial.....	51

Figura 31. Cristales de urato monosódico muy birrefringentes observados con luz polarizada	52
Figura 32. Cristal de urato monosódico bajo el efecto de luz polarizada compensada en 3 diferentes posiciones.....	53
Figura 33. Cristales de pirofosfato de calcio con luz polarizada.....	53
Figura 34. Cristales de hidroxapatita teñidos con rojo de alizarina observados en microscopio de luz visible.....	54
Figura 35. Cristales de colesterol en líquido sinovial observados en microscopía electrónica	54
Figura 36. Cristales de colesterol en líquido sinovial observados con luz polarizada.....	55
Figura 37. Cristales de oxalato de calcio.....	55
Figura 38. Cristales de lípidos en forma de “cruz de malta” observados en luz polarizada.....	56
Figura 39. Cristales de hematóidina.....	57
Figura 40. Localización anatómica de líquido peritoneal.....	62
Figura 41. Paracentesis.....	64
Figura 42. Color y aspecto normal del líquido peritoneal.....	66
Figura 43. Neutrófilos y eosinófilos en líquido peritoneal.....	67
Figura 44. Células mesoteliales benignas.....	68
Figura 45. Célula maligna de origen digestivo en líquido peritoneal.....	68
Figura 46. Mesotelioma en líquido peritoneal.....	69
Figura 47. Adenocarcinoma metastásico en líquido peritoneal.....	69
Figura 48. Células de carcinoma de colon.....	69
Figura 49. Localización anatómica del líquido pleural.....	75
Figura 50. Producción y circulación del líquido pleural.....	76
Figura 51. Posicionamiento correcto del paciente para la toracocentesis.....	77
Figura 52. Toma de muestra de líquido pleural mediante toracocentesis.....	78
Figura 53. Aspecto lechoso en derrame quiloso y en pintura dorada de un derrame pseudoquiloso.....	82
Figura 54. Células mesoteliales normales y reactivas.....	83
Figura 55. Células de mesotelioma.....	84
Figura 56. Células de adenocarcinoma broncogénico.....	84
Figura 57. Células de carcinoma metastásico de mama.....	85

Figura 58. Localización del pericardio y líquido pericárdico.....	90
Figura 59. Técnica de pericardiocentesis.....	91
Figura 60. Comparación del pericardio en condiciones normales y con derrame pericárdico.....	92
Figura 61. Linfocitos en gran cantidad y células mesoteliales aisladas o en pequeños acúmulos de líquido pericárdico en pericarditis.....	94
Figura 62. Acúmulo de células mesoteliales reactivas en líquido pericárdico.....	95
Figura 63. Células de mesotelioma maligno en derrame pericárdico.....	94
Figura 64. Hematocitómetro.....	103
Figura 65. Advia 120.....	105
Figura 66. Analizador sysmex XT-2000-i, COULTER-LH 750.....	106
Figura 67. CellaVision DM 1200.....	106

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentración de varias sustancias en el LCR y el Plasma.....	19
Tabla 2. Reporte y evaluación de la turbidez en el LCR.....	24
Tabla 3. Causas más frecuentes de hiper e hipoglucorraquia en LCR.....	33
Tabla 4. Correlaciones entre las proteínas del LCR y del suero.....	34
Tabla 5. Hallazgos en pruebas de laboratorio en LCR para el diagnóstico de meningitis.....	39
Tabla 6. Valores de referencia en LCR	41
Tabla 7. Clasificación, importancia patológica y hallazgos de los trastornos articulares.....	46
Tabla 8. Porcentaje de leucocitos del líquido sinovial.....	50
Tabla 9. Valores de referencia del líquido sinovial.....	59
Tabla 10. Valores de referencia del líquido peritoneal.....	73
Tabla 11. Principales causas de derrames pleurales.....	80
Tabla 12. Principales microorganismos encontrados en infecciones pleuropulmonares.....	87
Tabla 13 Microorganismos causantes de pericarditis.....	96

INTRODUCCIÓN

El laboratorio de análisis clínicos es un servicio indispensable en cualquier unidad de atención médica ya que proporciona información fundamental para establecer el diagnóstico de muchas patologías.

Las muestras que se manejan comúnmente en estos establecimientos son sangre y orina, sin embargo, existe también otro grupo de especímenes cuya composición química se altera en muchas enfermedades y por lo tanto su estudio es una herramienta muy importante.

Este grupo se conoce como líquidos corporales y comprende todos aquellos que se encuentran en el organismo en las diferentes cavidades tales como líquido cefalorraquídeo (LCR) en el sistema nervioso central, líquido sinovial encontrado en articulaciones, líquido pleural en pulmones, líquido peritoneal o de ascitis y el líquido de diálisis localizados en la cavidad abdominal, líquido pericárdico en el corazón, líquido amniótico ubicado en cavidad amniótica, líquido seminal de las vesículas seminales, humor vítreo y lágrimas del ojo, los cuales tienen distintas funciones ya sean amortiguadoras, lubricantes, transporte de nutrientes, desecho, reproducción, protección, u homeostasis, por lo que su producción e integridad son muy importantes en el desempeño de estas funciones vitales para el organismo.

Cuando existen factores que alteran su equilibrio, los cambios en su composición pueden ser detectados a través de análisis realizados en el laboratorio clínico cuyo objetivo es agilizar el diagnóstico de las situaciones que los producen.

Aunque la incidencia de estas muestras es poca, el personal químico o técnico que se encuentra a cargo de realizar su estudio debe estar altamente capacitado para ejecutar su análisis y para ello es indispensable que tenga bases sólidas del conocimiento de ellos.

Si bien existen parámetros básicos que se incluyen en todo protocolo para análisis de este tipo de muestras, la orientación que reciba el químico analista, a través del

diagnóstico presuntivo, será conveniente para adquirir el criterio suficiente y poder sugerir otras determinaciones que aporten información útil al médico.

Se incluye en este trabajo solo aquellos líquidos corporales que son recolectados más frecuentemente y enviados al laboratorio clínico para su estudio. Sin embargo, existen algunos otros líquidos como el seminal, que se somete a un análisis conocido como espermatobioscopia que consiste en un estudio de características físicas y microscópicas para evaluar la cantidad e integridad de los espermatozoides que son de interés en el área de salud reproductiva, este líquido también puede usarse en el ámbito legal y forense para investigar violaciones o paternidad. El líquido de diálisis que es obtenido a partir de la cavidad peritoneal con el objetivo de eliminar sustancias tóxicas y que se necesita en especial para el diagnóstico de peritonitis. El líquido amniótico en el cual se realiza la cuantificación de parámetros como bilirrubina para detectar la hemólisis fetal, la alfafetoproteína cuyo valor elevado sugiere la posibilidad de defectos en el sistema nervioso del feto. La saliva que se ha propuesto para usarla como alternativa para hacer algunas determinaciones que se realizan en el área de bioquímica clínica e incluso el humor vítreo del ojo que es utilizado en química forense para definir el intervalo de tiempo en el que ha ocurrido un fallecimiento o bien para identificar sustancias tóxicas post-mortem.

La recolección de todas las muestras de líquidos corporales que aquí se tratan es efectuada exclusivamente por el personal médico sólo en hospitales ya que esto implica alto riesgo para los pacientes; por lo tanto, cuando son recibidos en el laboratorio de análisis clínicos, deben tratarse con sumo cuidado, por un lado por ser infecciosos, y por otro de mayor importancia considerando que al ser extraídos, se pone a los pacientes en riesgo, es decir, para llevar nuevamente a cabo este procedimiento de recolección en un mismo paciente es extremadamente difícil y poco recomendable. Por este hecho, el trabajo de análisis de estas muestras significa una gran responsabilidad para cada uno de los profesionales que lo realicen.

El estudio de estos especímenes al ser recibidos por el laboratorio clínico comprende las siguientes etapas:

Examen físico en el que se describen las características observables del líquido obtenido de las cuales algunas son representativas de ciertas patologías.

Examen microscópico, en el que principalmente se identifica la morfología de la celularidad localizada y la cantidad de células presentes en la muestra. Examen químico que determina de forma cuantitativa todos aquellos analitos que se encuentran en el líquido estudiado.

Examen microbiológico cuyo objetivo es demostrar si el líquido contiene microorganismos patógenos e identificarlos.

Todo esto en conjunto conforma el esquema general del estudio de un líquido corporal.

La publicación reciente de Guías internacionales por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Association of clinical biochemist in Ireland (ACBI) y la British thoracic society. (BTS), han hecho posible una mejor síntesis de la información disponible y una serie de recomendaciones acerca del tratamiento adecuado de los líquidos corporales, sin embargo, en México no se ha publicado un tratado específico sobre este tema. En consecuencia, muchos laboratorios carecen de un método estandarizado de análisis de estas muestras.

Es claro que un laboratorio clínico necesita cubrir parámetros de calidad y para lograr esta meta debe contar con metodologías validadas y estandarizadas , así que uno de los principales objetivos de la elaboración de este trabajo consiste en proporcionar al analista de laboratorio una fuente confiable de información actualizada, breve, concisa, general y estructurada de lo concerniente al análisis de los líquidos corporales para despertar en el químico el interés y la iniciativa para aplicar estos métodos de forma habitual en su práctica profesional con el fin de adquirir criterio y habilidad en la realización de estas pruebas para apoyar al médico y con una expectativa a futuro de que este conocimiento sea aplicable en cada laboratorio del país para que el fruto de estas buenas prácticas se vea reflejado en una valoración precisa e inmediata en favor de la salud de los pacientes y así lograr reconocer la importancia que tiene el estudio de estos líquidos para el diagnóstico clínico de padecimientos de alta relevancia en nuestra población.

1. GENERALIDADES DE LOS LÍQUIDOS CORPORALES

Se entiende por fluidos o líquidos corporales, a todos aquellos que se encuentran en las cavidades del organismo: cefalorraquídeo, pleural, peritoneal, sinovial, amniótico, pericárdico, seminal, entre otros.

Los líquidos corporales son esenciales en las actividades de la vida diaria porque cumplen funciones básicas para el mantener el equilibrio del organismo. Para los estudiantes de ciencias médicas y áreas relacionadas con la salud es importante conocer el papel que juegan los líquidos corporales para mantener la salud y cómo afectan las desviaciones de lo normal tanto en cantidad como en composición al bienestar del individuo. ⁽¹⁾

Los líquidos corporales sirven como un medio de transporte de nutrientes, y de comunicadores químicos que coordinan actividades entre las células para desecho de productos. ⁽²⁾

Por medio de la evaluación de estos líquidos corporales es posible reducir el tiempo de detección de algunas patologías y esto contribuye de manera significativa al eficaz diagnóstico y pronto tratamiento para mejorar la calidad de vida de los pacientes, sobre todo para los que requieren un servicio de hospitalización, urgencia médica o terapia intensiva.

Todos los líquidos corporales son soluciones acuosas ya que el agua es el único disolvente en ellos. La cantidad de agua en el cuerpo varía en cada persona de acuerdo a la edad, peso y género. En un hombre adulto bien hidratado se encontrará alrededor de 60% de agua de su peso corporal. En las mujeres adultas, un 50%, y del 65 al 75 % en niños. Esta cantidad de agua está distribuída en todo el cuerpo y es almacenada en diferentes compartimientos o espacios éstos están separados por membranas que regulan el flujo de agua entre cada uno de ellos. ^(2,3,4,5)

El compartimiento más grande contiene dos terceras partes de agua, está ubicado dentro de las células del cuerpo y se conoce como líquido intracelular (LIC) el cual es

el principal componente del citoplasma celular y tiende a tener un volumen estable porque la cantidad de agua en las células está estrechamente regulada. El líquido restante correspondiente a una tercera parte, se encuentra fuera de las células y es llamado líquido extracelular (LEC). Éste cumple principalmente una función transportadora y se encuentra dividido en varios compartimientos: aproximadamente dos tercios (10 litros) existen en espacios entre las células y se conoce como líquido intersticial (LIT); 3.5 litros como plasma en los vasos sanguíneos (líquido intravascular); 1.5 litros comprenden el líquido transcelular que se caracteriza por estar compuesto de todos los líquidos que han alcanzado una localización específica en virtud de algún proceso de transporte en células o tejidos especializados, éstos son: líquido cefalorraquídeo, sinovial, pleural, peritoneal, pericárdico, y el líquido intraocular. La distribución de líquidos en el cuerpo se encuentra esquematizada en la fig. 1. ^(5,6,7,8).

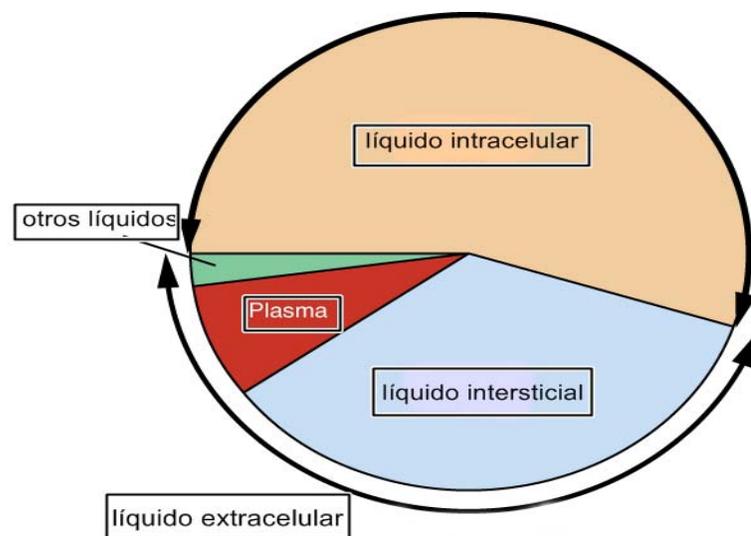


Figura 1. Distribución del agua corporal total. ⁽⁷⁾

La composición de electrolitos y enzimas del líquido intracelular difiere del líquido extracelular y el conocimiento de estas diferencias puede ayudar en el entendimiento de los procesos de varias enfermedades. ⁽⁶⁾

La composición de dos de los componentes del líquido extracelular, plasma y líquido intersticial, tienen más similitud entre sí que con el líquido intracelular. El plasma tiene alta concentración de sodio, cloro y bicarbonato pero bajas concentraciones de

proteínas. En contraste, el LIC tiene elevadas cantidades de potasio, fosfato, magnesio y proteínas mientras que el LEC posee altas concentraciones de sodio y cloro. Figura 2. ^(7,8)

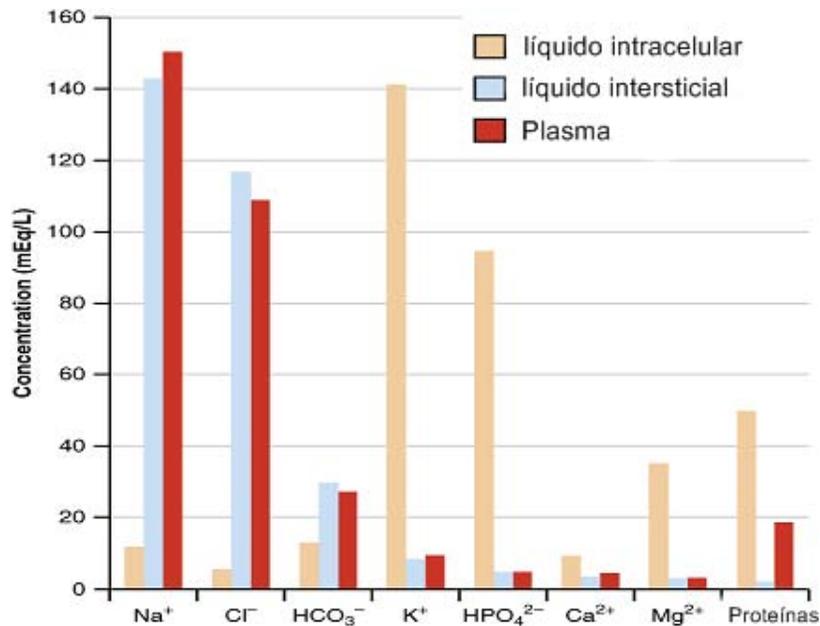


Figura 2. Composición de Líquido intracelular, Líquido intersticial y plasma. ⁽⁷⁾

Las cavidades cerradas del cuerpo (pleural, pericárdica y peritoneal) están revestidas por dos membranas denominadas membranas serosas. Una membrana recubre la pared de la cavidad (membrana parietal) y la otra, los órganos ubicados dentro de ésta (membrana visceral) Existe un líquido entre las membranas y éste se denomina líquido seroso cuya función es proporcionar lubricación entre ambas membranas.

El líquido seroso se origina como un ultrafiltrado del plasma a partir de una delgada capa de tejido conectivo que contiene numerosos capilares y células mesoteliales. Esta formación es similar a la producción de líquido intersticial extravascular de todo el cuerpo, tomando en consideración 3 factores importantes:

- Presión hidrostática
- Presión osmótica
- Permeabilidad capilar

La presión hidrostática conduce al fluido dentro y fuera de las cavidades corporales. Las moléculas de proteínas impermeables ejercen una fuerza que contrarresta la presión hidrostática y provoca la absorción de fluido en los capilares. Esta fuerza se le llama presión osmótica de coloides y es proporcional a la concentración de proteínas. Así se produce un intercambio continuo de líquido seroso y se mantiene el volumen normal de líquido entre las membranas. ^(6,9,10)

La alteración de los mecanismos de formación y reabsorción de líquido seroso causa un aumento de líquido entre las membranas. Este se denomina derrame. Las causas principales de los derrames son el aumento de la presión hidrostática, la disminución de la presión oncótica, el aumento de la permeabilidad capilar y la obstrucción linfática. ⁽⁹⁾

La acumulación de líquido seroso es llamada efusión la cual resulta de una alteración en el balance de esas presiones o en respuesta a procesos infecciosos o inflamatorios. Este líquido puede acumularse si la permeabilidad capilar aumenta, la presión hidrostática se incrementa la presión osmótica disminuye o el drenaje linfático es obstruido. Dependiendo de cuál presión sea la predominante, las efusiones son también clasificadas en trasudados o exudados. La clasificación correcta de las efusiones ayuda a los médicos a determinar un diagnóstico y está basada en los resultados de varias pruebas de laboratorio. ^(6,10)

Es así entonces como en condiciones patológicas se distinguen dos tipos de líquidos serosos:

- Exudados
- Trasudados

Exudados. Son producidos por situaciones que afectan directamente las membranas de una cavidad en particular. Suelen ser unilaterales. Se originan por un aumento de la permeabilidad capilar o una disminución de la reabsorción linfática. Las causas que más frecuentemente provocan la aparición de exudados son las infecciones, las neoplasias y los procesos inflamatorios no sépticos como la enfermedad reumática y hemorragias. ^(9,11,12)

Trasudados. Su origen es mecánico. Habitualmente son bilaterales debido a situaciones sistémicas que alteran el equilibrio en la regulación de la filtración y la reabsorción del líquido o ambos, debido a una presión hidrostática capilar aumentada o una presión oncótica plasmática disminuida, secundarias a enfermedades que directamente involucran la inflamación de las superficies de cavidades corporales. Ejemplos de enfermedades sistémicas que resultan en la formación de trasudados incluyen la falla cardiaca congestiva, la cirrosis hepática o la hipoproteinemia asociada al síndrome nefrótico. (6, 9, 10,12,13,14)

La clasificación de un líquido seroso como trasudado o exudado puede proporcionar un valioso paso diagnóstico inicial y ayuda en el curso de otras pruebas de laboratorio porque en el caso de los trasudados no suelen ser necesarias debido a que no tienen un interés clínico significativo. (9,13)

1.1 ANÁLISIS GENERAL DE LOS LÍQUIDOS CORPORALES

El estudio del laboratorio inicia desde la toma de la muestra hasta la emisión del resultado al médico quien de acuerdo a su conocimiento podrá interpretarlo de la forma más objetiva y conveniente para el paciente.

La toma de la muestra de acuerdo al líquido corporal que desee extraerse debe ser realizado siempre por el médico y siguiendo las técnicas adecuadas para obtenerla. Al momento de la toma de muestra es necesario separarla en diferentes tubos con y sin anticoagulante para efectuar los exámenes de laboratorio. Los tubos deben estar numerados de acuerdo al orden de extracción y debidamente etiquetados con los datos del paciente para después transportarlos en condiciones adecuadas que permitan su mejor conservación y en un tiempo breve para su análisis inmediato.

Una vez recibidos en el laboratorio se procede a realizar el estudio de los líquidos corporales en un tiempo no mayor de dos horas y el cual consiste principalmente en 4 etapas:

a) Examen físico en el que visualmente se evalúan las características macroscópicas de la muestra: color, aspecto, presencia de coágulo, siendo que

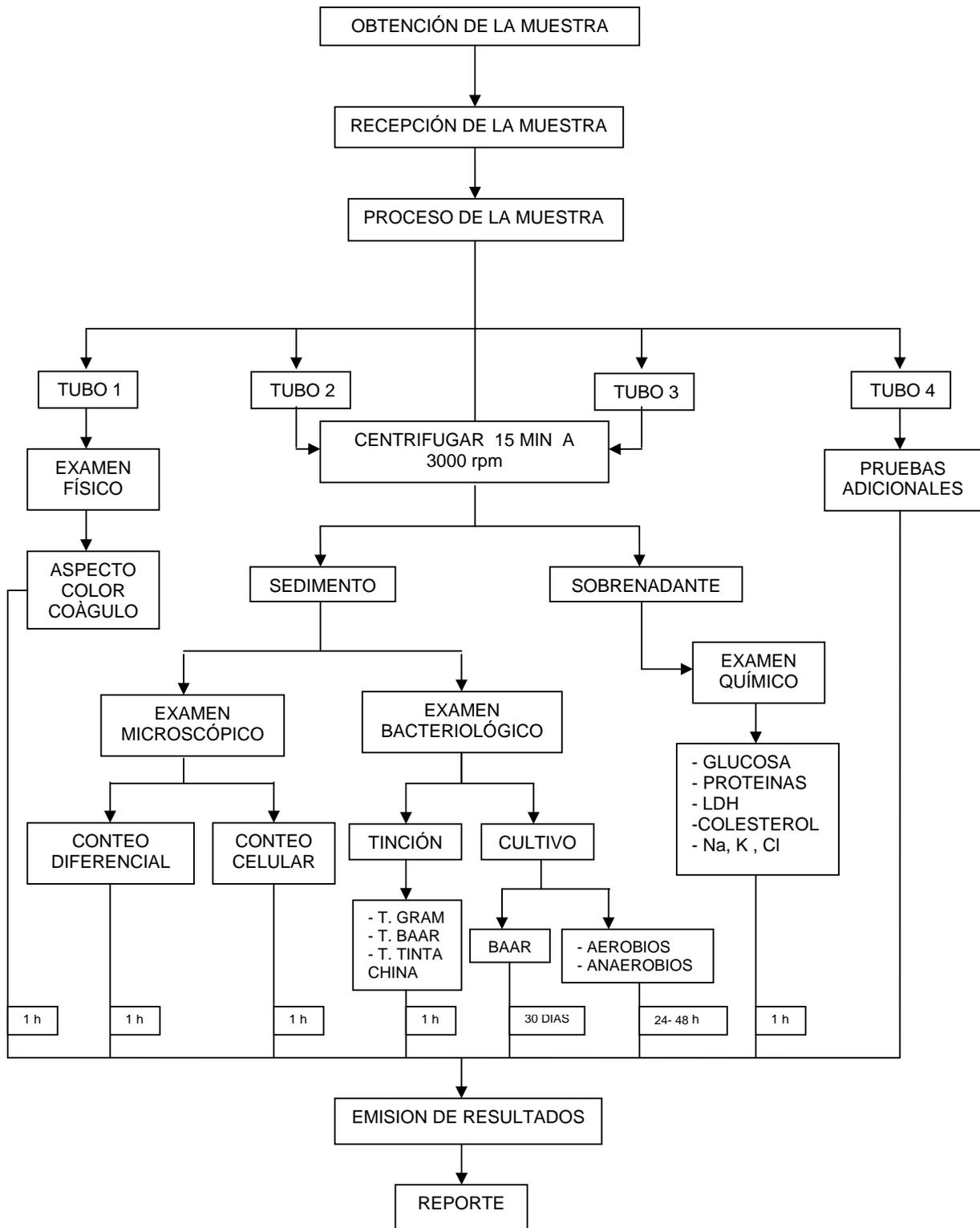
los cambios en cualquiera de ellos implican un significado para el diagnóstico de una probable patología y requieren un seguimiento posterior.

- b) Examen microscópico que consiste en el conteo de células principalmente eritrocitos y leucocitos así como en la identificación de las estirpes celulares malignas o cristales que contiene el líquido en estudio y que sólo aparecen bajo circunstancias de enfermedad en el paciente.
- c) Examen químico que cuantifica la concentración o actividad de elementos y sustancias químicas presentes en la muestra tales como glucosa, proteínas, electrolitos, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, enzimas como la LDH, CK, amilasa, que pueden verse alteradas en situaciones clínicas significativas del individuo.
- d) Examen microbiológico en el que se define la presencia preliminar de microorganismos patógenos con ayuda de tinciones rápidas como las de Gram, BAAR y tinta china y posteriormente se identifican mediante los métodos de cultivo y pruebas bioquímicas tradicionales.

Cada examen emitirá resultados que deben ser entregados de manera precisa, clara y de fácil entendimiento para el médico por su relevante importancia para su interpretación en el diagnóstico de enfermedades.

A continuación se presenta un esquema que describe de forma general el tratamiento de un líquido corporal:

DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL PROCEDIMIENTO GENERAL EN EL ANÁLISIS DE LÍQUIDOS CORPORALES



1.2 PRECAUCIONES Y MEDIDAS DE SEGURIDAD EN EL MANEJO DE LÍQUIDOS CORPORALES

Para el manejo adecuado de líquidos corporales en el laboratorio clínico es necesario que el personal que esté expuesto al contacto con este tipo de muestras conozca las guías y recomendaciones que le permita ubicarse en los puntos críticos de riesgo biológico y químico para inculcar una cultura de comportamiento que se traduzca en actitudes y conductas que disminuyan el riesgo del analista de adquirir infecciones de manera que formen parte de una rutina diaria en su desempeño. ⁽¹⁵⁾

De acuerdo con lo establecido en 1996 en el Center of Disease Control and Prevention (CDC) las precauciones estándares son el conjunto de procedimientos cuyo objetivo es minimizar el riesgo de contraer enfermedades por el personal del área clínica, al exponerse a productos biológicos potencialmente contaminados. Entre las más importantes están: lavado de manos, uso de guantes y bata, control ambiental. ^(9,16)

Todos los líquidos corporales deben tratarse como potencialmente infecciosos esto implica mantener un cuidado máximo en su manipulación desde la toma y recepción de la muestra hasta su desecho. ⁽¹⁷⁾

El líquido corporal debe tomarse en tubos de vidrio con tapón de rosca o en tubos al vacío completamente secos que deben estar bien cerrados y etiquetados. ⁽¹⁶⁾

El transporte inmediato de este tipo de especímenes genera riesgos por lo que es necesario transportarlos en una gradilla, o en un contenedor adecuado para evitar caída, ruptura de los envases o derrames. Lo recomendable es no transportar las muestras a mano sino hacerlo en cajas herméticas o neveras transportables. Estas cajas o neveras deberán ser rígidas y resistentes a los golpes, contar con materiales absorbentes en su interior y de fácil desinfección. ⁽¹⁷⁾

Se debe trabajar con cuidado y de una forma metódica y organizada para evitar salpicaduras o formación de aerosoles. ⁽¹⁶⁾

En caso de derrame limpiar con toallas absorbentes e inmediatamente desinfectar la zona con una solución de hipoclorito de sodio diluido 1:10. ⁽⁹⁾

Se deben utilizar micropipetas para el vaciado de volumen adecuado del líquido tanto para las diluciones como para la observación microscópica en la cámara de conteo de células ⁽¹⁸⁾

Para la siembra y análisis microbiológico es preferente realizarlo en una campana de bioseguridad. ^(16,19)

Desechar las muestras y utensilios utilizados en el proceso en el contenedor para residuos peligrosos biológico infecciosos. ⁽⁹⁾

1.3 CONTROL DE CALIDAD EN EL ESTUDIO DE LÍQUIDOS CORPORALES

El control de calidad es muy importante para mantener un nivel aceptable de calidad para un proceso o prueba individual. De acuerdo a la guía de recomendaciones para las buenas prácticas de laboratorio y aseguramiento de calidad establecida por la Organización de las Naciones Unidas, éstas se refieren a la organización y condiciones bajo las cuales los estudios de laboratorio son planeados, realizados, evaluados y reportados, involucrando una serie de protocolos que deben acatarse con el propósito de evitar errores que repercutan directamente en la salud del paciente. ^(17,19)

El manejo de los líquidos corporales debe satisfacer los lineamientos de las normas estipuladas en México siendo la PROY-NMX-EC-15189-IMNC-2014 Requerimientos técnicos para la acreditación, la NMX-EC-17025-IMNC-2006 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración, la NOM-007-SSA3-2011 Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos las que garantizan principalmente la competencia técnica de un laboratorio, las cuales son necesarias y de cumplimiento obligatorio para regular el funcionamiento general de un laboratorio. También existen las recomendaciones dadas por el Clinical and laboratory standar institute (CLSI) en las guías CLSI document C-49-A. USA 2007 y CLSI document H-56-P. USA 2005 que otorgan una serie de recomendaciones

específicamente para el procesamiento adecuado de los líquidos corporales. La British thoracic society (BTS) en el año 2010 emitió una guía de tratamiento exclusiva para el líquido pleural. ^(11,18,20,21)

Es por eso de gran relevancia establecer que todos los laboratorios de análisis clínicos deben incluir la evaluación de las fases preanalítica, analítica y postanalítica. ⁽¹⁹⁾

FASE PREANALITICA

Transportar las muestras lo más pronto posible al laboratorio. El transporte debe realizarse a temperatura ambiente ^(9,18, 22)

Todas las muestras deben incluir adjunta una solicitud de estudios con los datos del paciente, tipo de espécimen recolectado, los estudios requeridos, el médico que los solicita y algún medio rápido de comunicación con el mismo, servicio de referencia, fecha, hora, número de solicitud o de identificación individual y el nombre de la persona que toma y/o recibe la muestra. ^(18,19,23)

Todo el personal del servicio debe ser capacitado y entrenado para el proceso de recepción de muestras y la significancia de la repercusión de ésta en los resultados del laboratorio así como identificar los criterios de rechazo. ^(17, 24,25)

FASE ANALITICA

Someter a proceso cualquier líquido corporal en calidad de muestra urgente en un tiempo no mayor de dos horas. ^(22,26)

Una vez recibida la muestra en el laboratorio debe centrifugarse. El tiempo de centrifugación recomendado para un líquido corporal es de 15 minutos a 3000 rpm. ^(18,22)

Antes de efectuar el análisis es importante homogenizar manualmente para resuspender el concentrado de la muestra de 10 a 15 veces para obtener una mejor distribución de los elementos que la conforman. ^(18,26)

Las muestras hemorrágicas pueden diluirse con solución salina antes de centrifugarse, la dilución dependerá de la cantidad de eritrocitos en la muestra para evitar tener una preparación saturada debido a que esta aglomeración puede distorsionar la morfología celular. ^(18,,26)

Para realizar el extendido deben utilizarse muestras recientes y sin fijador. Si la muestra tiene coágulo tanto el conteo celular como diferencial no será exacto, sin embargo el frotis se puede preparar y examinar para la búsqueda de células malignas. ⁽¹⁸⁾

En cuanto a la tinción se requiere que los colorantes sean filtrados y reemplazados con frecuencia. Se aconseja mantenerlos en frascos pequeños y de acuerdo a la regularidad de su uso para evitar contaminación en ellos. La calidad de la tinción debe ser revisada diariamente y los resultados documentados. Excepto en la tinción de tinta china, el frotis debe encontrarse perfectamente seco antes de la tinción. Se recomienda utilizar un cronómetro para medir el tiempo en la realización de tinciones para poder asegurar que los colorantes no precipiten y obtener una laminilla de buena calidad para la observación microscópica. ^(17,18, 24, 26)

FASE POSTANALITICA

Es necesario que los informes de resultados de estudios de laboratorio que sean impresos se reporten en hoja membretada con el nombre o razón social, domicilio del establecimiento, datos del paciente, espécimen analizado, resultados de la prueba, valores de referencia, nombre y cédula del responsable sanitario que asume la responsabilidad del resultado. Por lo tanto, el reporte del estudio de cualquier líquido corporal debe estructurarse de la siguiente manera: ^(9,17,19,22,26)

NOMBRE O RAZÓN SOCIAL DEL LABORATORIO

MEMBRETE

ESTUDIO CITOQUÍMICO DE LÍQUIDOS CORPORALES

NOMBRE DEL PACIENTE	EDAD	SEXO
SERVICIO DE REFERENCIA	NO. DE EXPEDIENTE	CAMA
ESPECIMEN	HORA	FECHA
NOMBRE DEL TÉCNICO QUE RECIBE LA MUESTRA	MÉDICO TRATANTE	DIAGNÓSTICO

EXAMEN FÍSICO

COLOR	pH
ASPECTO	COÁGULO
DENSIDAD g/mL	

EXAMEN MICROSCÓPICO

ERTROCITOS		/mm ³
LEUCOCITOS		/mm ³
NEUTRÓFILOS	%	
LINFOCITOS	%	
MONOCITOS	%	
EOSINÓFILOS	%	
BASÓFILOS	%	
BLASTOS	%	

EXAMEN QUÍMICO

GLUCOSA	mg/dL	SODIO	mmol/L
PROTEÍNAS	mg/dL	POTASIO	mmol/L
LDH	UI/L	COLORO	mmol/L
COLESTEROL	mg/dL	ÁCIDO ÚRICO	mg/dL
TRIGLICÉRIDOS	mg/dL	AMILASA	U/L

EXAMEN BACTERIOLÓGICO

TINCIÓN DE GRAM	
TINCIÓN DE ZIELH- NEELSEN	
TINCIÓN DE TINTA CHINA	

OBSERVACIONES _____

QUIMICO QUE REALIZÓ EL ANÁLISIS _____

RESPONSABLE _____

Las diluciones que se hayan realizado son tomadas en cuenta para los cálculos mismos que deben estar verificados y comprobados, tanto los del conteo celular como los de la dilución.

En la cuenta diferencial del estudio citológico la sumatoria del porcentaje de la celularidad debe ser de 100. Los neutrófilos segmentados y en banda se reportan juntos. Otras estirpes celulares pueden ser anotadas en una sección de comentarios u observaciones. ^(18,23,26)

Los resultados deben estar expresados con las unidades correspondientes a cada parámetro y los cuales deben ser claros y comprensibles para el médico. En cada reporte se debe constatar que no existan errores de transcripción tanto en los datos del paciente como en los resultados. ⁽²³⁾

2. LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

El líquido cefalorraquídeo es un fluido corporal incoloro y transparente en el cual se hallan pequeñas cantidades de proteínas, glucosa, cloruros, electrolitos, leucocitos, enzimas y otros componentes, que se forma principalmente en los ventrículos cerebrales a través de procesos de ultrafiltración y secreción activa. Fue reconocido inicialmente por Cotugno en 1764. En 1827, Francois Magendie hace la primera descripción completa del líquido cefalorraquídeo. Es secretado por los plexos coroideos, cerca de los vasos sanguíneos y a lo largo de las paredes de los ventrículos cerebrales. Llena los ventrículos, las cisternas y baña a la médula espinal. Su movimiento es rápido, cambiando constantemente cerca de 4 veces por día. ^(9,22,27, 28).

El Sistema Nervioso Central (SNC) se compone del cerebro y la médula espinal, estos órganos además de encontrarse protegidos por una cubierta ósea, están recubiertos por 3 capas que los protegen del exterior, estas capas se denominan membranas meníngeas y del interior al exterior se nombran respectivamente: piamadre, aracnoide y duramadre. La piamadre está en contacto directo con el tejido nervioso, es de muy poco espesor con fibras colágenas y capilares. La aracnoides muestra gruesas trabéculas conectivas ampliamente vascularizadas a modo de pilares que sustentan el espacio subaracnoideo y emite vellosidades hacia los senos venosos de la duramadre, a la que está unida por su parte externa. La duramadre es la capa más externa y fibrosa de las tres. Entre la piamadre y la aracnoides existe un espacio denominado subaracnoideo y en el interior de este espacio se encuentra el LCR. ⁽²⁹⁾

A fin de mantener un volumen de 90 a 150 mL en los adultos y de 10 a 60 mL en los neonatos, el líquido circulante se reabsorbe de nuevo en los capilares sanguíneos en las vellosidades o granulaciones aracnoideas en una proporción igual a su producción, es decir, es constante. ^(9,12,30)

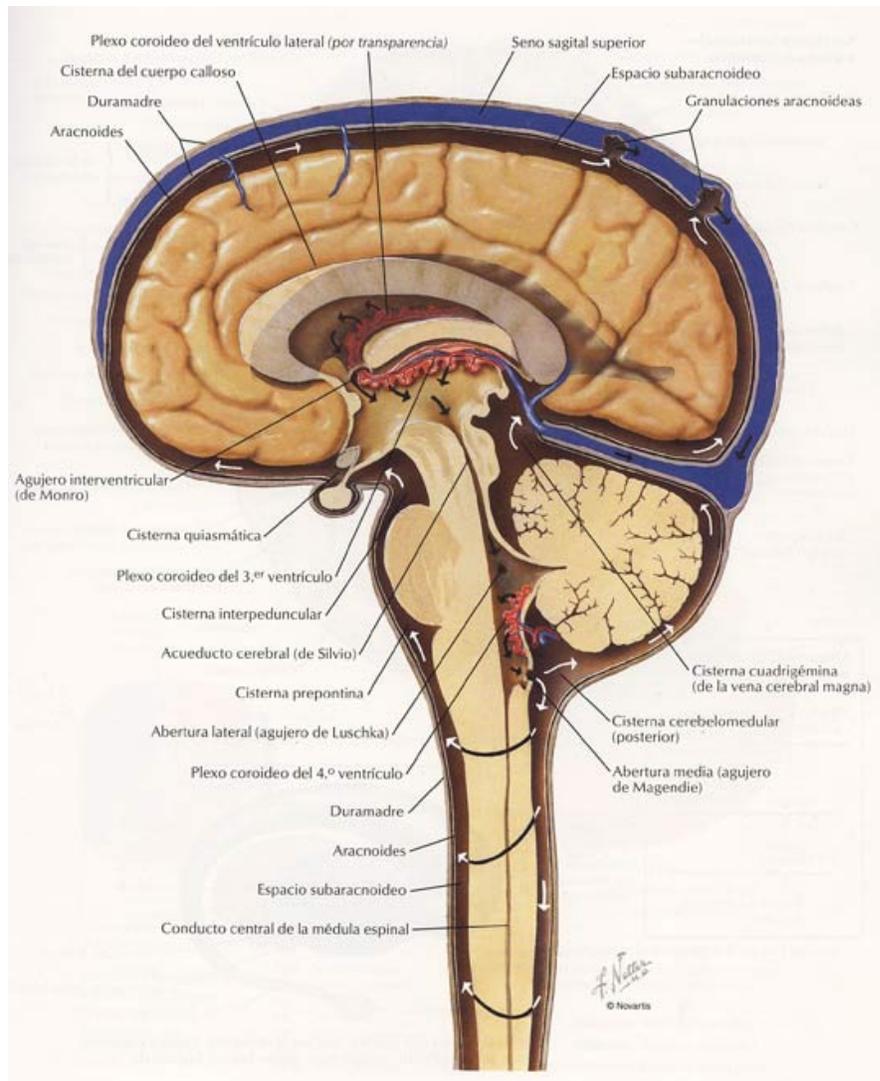


Figura 3. Estructura de SNC y circulación de LCR. ⁽³¹⁾

La velocidad de producción del LCR es constante a 0.35 mL/ min para alcanzar un volumen total diario de 500 mL. Como se ha mencionado anteriormente, en el adulto su volumen es aproximadamente de 150 ml, correspondiendo 20 mL a los ventrículos, 60 mL a las cisternas subaracnoideas y los restantes 70 mL en el conducto raquídeo. ^(32,33).

La composición química del LCR depende de dos funciones: secreción y difusión. En los plexos coroideos, las células endoteliales tienen uniones que se conectan de modo muy firme e impiden el paso de muchas moléculas. Esta estructura es conocida como barrera hematoencefálica. El intercambio de iones con el plasma se

debe al transporte activo, facilitado por el epitelio coroidal, parenquimatoso y endotelial de las células gliales. El agua y las sustancias solubles en ella como Cloro, CO₂, creatinina, glucosa y urea difunden rápidamente atravesando la barrera hematoencefálica, aunque la glucosa, urea y creatinina requieren más tiempo para alcanzar el equilibrio. Las sustancias liposolubles incluyendo fármacos como los anestésicos y el alcohol, difunden desde el plasma al LCR en proporción de sus propiedades de solubilidad. Casi todas las proteínas provienen del suero y su incorporación a este líquido se produce por difusión pasiva a una velocidad dependiente del gradiente de concentración proporcional al peso molecular y volumen hidrodinámico, a través de las células capilares endoteliales del cerebro y de la médula espinal. ^(6,12,32)

El LCR es semejante en composición al líquido intersticial, pero con diferencias importantes en cuanto a la concentración de sodio, cloro y magnesio, que son superiores al plasma, mientras que la concentración de potasio, calcio, hierro, zinc, colesterol, ácido úrico y glucosa son menores. ^(33,34)

Las células encontradas en el LCR normal son principalmente linfocitos y monocitos. Los adultos suelen tener un predominio de linfocitos respecto de monocitos 70:30 mientras que esta relación se invierte en los niños. ⁽⁹⁾

Se presenta la siguiente tabla publicada en 1980 por Fishman R. sobre la comparación entre la composición química del LCR y el suero

Sustancia	LCR	Plasma
Na ⁺ (meq/kg H ₂ O)	147.0	150.0
K ⁺ (meq/kg H ₂ O)	2.9	4.6
Ca ²⁺ (meq/kg H ₂ O)	2.3	4.7
Cl ⁻ (meq/kg H ₂ O)	113.0	99.0
HCO ³⁻ (meq/L)	25.1	24.8
Proteínas (mg/dL)	20.0	6000.0
Glucosa (mg/dL)	64.0	100.0
Colesterol (mg/dL)	0.2	175.0

Tabla 1. Concentración de varias sustancias en el LCR y el Plasma ⁽²⁸⁾

El LCR tiene 3 funciones vitales muy importantes:

1) Protección mecánica del sistema nervioso central

El LCR sirve como un líquido protector, amortiguador y lubricante del cerebro y la columna vertebral. La función primordial es como amortiguador debido a que el cerebro flota en este fluido menos denso permitiendo el movimiento en el interior del cráneo y ayuda a prevenir lesiones en el cerebro que pueden ocurrir como resultado de la fuerza gravitacional o inercia. ^(6,,27,30)

2) Mantenimiento del medio interno

Ayuda a mantener un ambiente químico estable. Es un vehículo para sustancias neuromoduladoras involucradas en la regulación de las funciones vitales: quimiorreceptores, hormonas de la neurohipófisis e hipotalámicas. Es un vehículo de protección inmunológica (celular y humoral) para el SNC. Proporciona un sistema fisiológico para aportar nutrientes al tejido nervioso y sirve como vehículo para la distribución y eliminación de los productos del metabolismo. ^(9,27, 36, 37)

3) Mantenimiento de volumen

El LCR circula entre el cráneo y la médula espinal para compensar los cambios en el volumen de sangre intracraneal, manteniendo una presión constante. Es decir, es un regulador de la presión. ^(27,22)

2.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

El LCR es usualmente colectado por punción lumbar pero puede ser obtenido por la lateral cervical o por punción cisternal. La muestra sólo debe ser extraída por un médico o una enfermera especialmente capacitada. ^(18,35)

La punción lumbar fue introducida por primera vez en 1891 por Heinrich Irenaeus Quinke. La punción debe realizarse con las más estrictas precauciones de asepsia y desinfección prolongada de la piel con tintura de yodo. El paciente debe colocarse en posición de decúbito lateral. Se realiza entre la tercera, cuarta o quinta vértebras lumbares, una vez introducida la aguja, con un manómetro se valora la presión del LCR puesto que la muestra se recolecta de acuerdo a ella, su valor de referencia es

de 90 – 180 mm de Hg. La presión elevada exige que el líquido sea retirado con lentitud por goteo en tubos estériles. ^(9,18,34)

La punción lumbar está contraindicada en caso de sospecha de hipertensión intracraneal, neoplasia intrarraquídea o edema medular, en coagulopatía grave, cuando el recuento de plaquetas sea inferior a 50,000 si el tiempo de protrombina es menor al 50% respecto al valor del control o el INR mayor de 1.5, en caso de infección en el área de punción o por lesión espinal. Su aplicación terapéutica se utiliza para controlar la presión intracraneal, administrar fármacos antineoplásicos para procesos oncológicos, o antimicrobianos que atraviesan mal la barrera hematoencefálica. ^(38,39)

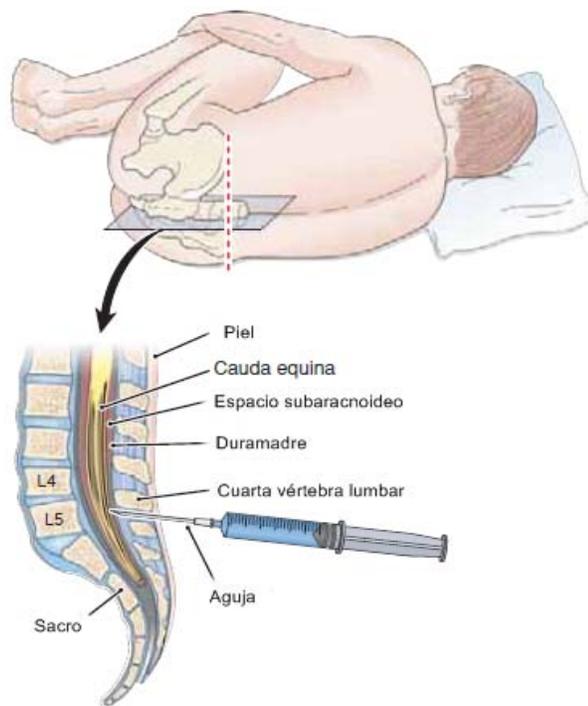


Figura 4. Técnica para realizar la punción lumbar. ⁽⁶⁾

La muestra se deposita en 3 o 4 tubos estériles sin anticoagulante para el análisis químico, microbiológico y celular. Se recomienda recolectar 10-20 mL de LCR distribuyendo de 3-5 mL en cada tubo. Los tubos deben ser etiquetados de acuerdo al orden de recolección:

El tubo No. 1 para las pruebas químicas y serológicas

El tubo No. 2 enviar a laboratorio de microbiología

El tubo No. 3 para el recuento celular

Puede extraerse un tubo adicional que se utiliza para pruebas inmunológicas adicionales. ^(6,9,18).

Las muestras deben analizarse lo más pronto posible, máximo una hora desde la recolección hasta el procesamiento. Y sólo para realizar pruebas inmunológicas o químicas el sobrenadante se puede conservar en refrigeración de 6 a -20°C. ⁽²²⁾

2.3 EXAMEN FÍSICO

Se evalúan los siguientes parámetros macroscópicos:

- a) Color
- b) Aspecto
- c) Coagulabilidad

COLOR

Se valora junto a un tubo de ensayo con agua destilada y una hoja de papel en blanco. En condiciones normales, el LCR es incoloro, transparente, libre de coágulos y libre de sangre con una viscosidad similar al agua. Diferencias de ese estándar indican una probable patología y ameritan un mayor seguimiento. ^(12,22,30).

Coloración anormal refleja la presencia de varias sustancias. Ejemplos de ellas son hemoglobina, bilirrubina, caroteno, melanina. ⁽⁶⁾

Un LCR color rosa- rojo indica la presencia de sangre y puede estar originado por una hemorragia subaracnoidea, hemorragia intracerebral, infartos o por punción traumática. Debido a que los eritrocitos pueden ser introducidos en la muestra de LCR, es importante hacer una diferenciación la cual puede realizarse de manera visual. Debemos observar si hay una diferencia significativa en la cantidad de sangre presente entre el primer tubo y los subsecuentes recolectados. Si todos los tubos muestran el mismo grado de coloración, debe pensarse como causa una hemorragia subaracnoidea. (Figura 5). Mediante la centrifugación del líquido se puede conocer la antigüedad de la hemorragia: el sobrenadante del líquido tras la centrifugación es claro en la hemorragia por punción traumática y xantocrómico si la hemorragia es antigua y ha habido una lisis de los eritrocitos previamente. Esta lisis también puede observarse en la citología pudiendo encontrarse incluso macrófagos cargados con

restos de eritrocitos si la hemorragia ya lleva unos días de evolución, mientras que si la hemorragia es debida a la punción los eritrocitos se verán intactos. ^(6,12,34)

La xantocromía es una coloración que va desde el rosa pálido, naranja o amarillenta producida por la oxihemoglobina de la sangre (figura 5). Aparece entre 2 y 4 horas después de producirse una hemorragia subaracnoidea. Pasadas 12 horas tras la hemorragia, aparece un color amarillento con la intensidad máxima entre las 24 y 36 horas para desaparecer entre los 4 y 8 días, pudiendo estar presente hasta 4 semanas. En algunos casos pueden observarse “falsas” xantocromías producidas por:

- Presencia de bilirrubina procedente del plasma en el LCR debido a que la concentración es superior a $86 \mu\text{mol/L}$ (5mg/dL).
- Demora en la centrifugación del LCR hemático.
- Presencia de carotenoides por hipercarotenemia.
- Presencia de melanina por un melanosarcoma en las meninges.
- Contaminación con mertiolate o desinfectantes yodados utilizados para la desinfección de la zona de punción.

En el LCR de recién nacidos prematuros se puede producir la xantocromía debido a la combinación de dos factores: la concentración fisiológicamente elevada de bilirrubina y proteínas en el plasma y a la inmadurez de la barrera hematoencefálica. ^(27,40)

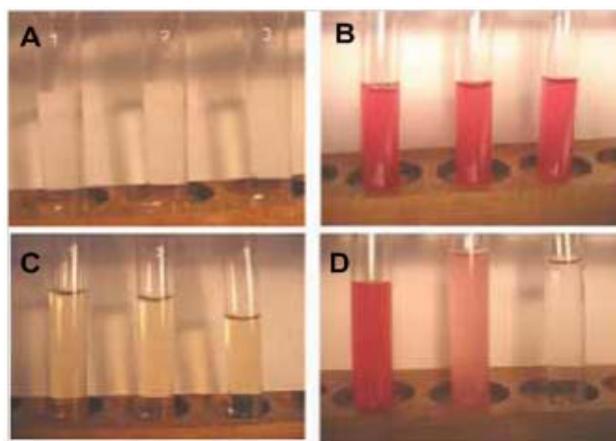


Figura 5. Comparación de la coloración del LCR en condición: A) Normal. B) Hemorrágico. C) Xantocrómico. D) Por punción traumática. ⁽⁶⁾

ASPECTO

El aspecto de un LCR normal es definido como cristalino y transparente, aunque puede ser también transparente en algunos procesos agudos o crónicos en los que no hay aumento del contenido celular: poliomiелitis, sífilis y casos aislados de meningitis o meningoencefalitis virales. En las fases iniciales de estos procesos, el aspecto puede ser solo ligeramente turbio. Patológicamente oscila como turbio, ligeramente turbio, hemático y hasta purulento. La turbidez depende del número de células presentes en él tal como un incremento en eritrocitos, leucocitos, microorganismos lípidos o proteínas. ^(34,22,41,42)

La turbidez suele deberse a una meningitis bacteriana purulenta o a un absceso cerebral y se valora según la siguiente tabla:

Ninguna cruz	Transparente
+	Ligeramente turbio
++	Claramente turbio pero puede verse a través de él
+++	No podemos ver a través de él.

Tabla No. 2 Reporte y evaluación de la turbidez en el LCR ⁽²⁹⁾

COAGULABILIDAD

La formación de coágulos puede observarse en punciones traumáticas, en los bloqueos espinales completos (síndrome de Froin) y en la meningitis tuberculosa y supurativa. El aumento de proteínas puede causar la coagulación debido a la presencia de fibrinógeno. Los coágulos interfieren en el recuento celular exacto al atrapar células inflamatorias. ^(12,32)

2.4 EXAMEN MICROSCÓPICO

La cantidad de células en el LCR es muy pequeña, por esta razón deben contarse todas las células presentes. El recuento celular que se realiza habitualmente en el LCR es el de leucocitos. De manera general, para los líquidos corporales no se utilizan los recuentos electrónicos, ya que estos instrumentos no están estandarizados para recuentos tan bajos como los que se ven en el LCR. ^(9,29,39).

Los recuentos celulares deben realizarse de inmediato porque los leucocitos y eritrocitos comienzan a lisarse dentro de la primera hora después de la recolección de la muestra, con desintegración de 40% de ellos después de dos horas. Para efectuar el recuento es importante homogenizar bien la muestra. No es necesario emplear diluyentes, aunque puede utilizarse el líquido de Turk, que por tener ácido acético destruye a los eritrocitos existentes. ⁽³⁴⁾

Aunque el conteo de las células nucleadas es reportado como conteo de leucocitos, no todas las células nucleadas encontradas en el LCR lo son. Ocasionalmente células ependimarias o células del plexo coroideo entran en el LCR. ⁽⁶⁾

CÉLULAS PREDOMINANTES OBSERVADAS EN EL LCR

Linfocitos

El LCR contiene un número pequeño de linfocitos y monocitos en una proporción de 70:30 en adultos mientras que esta relación se invierte en los niños. Son primordialmente células T. Los linfocitos presentes en el LCR normal son células isomorfas con un núcleo azul oscuro, compacto, redondo o ligeramente ovalado y con una zona estrecha de citoplasma azul pálido.

Son frecuentes en las infecciones virales como la meningitis. Se presentan en procesos inflamatorios y padecimientos degenerativos como el síndrome de Guillian-Barré. ^(7,23, 44)

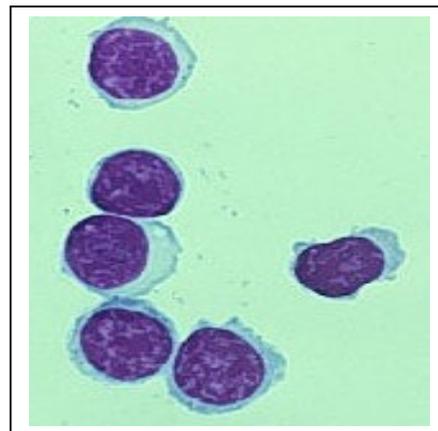


Figura 6. Linfocitos ⁽⁴⁴⁾

Monocitos

La denominación de monocitos no siempre se emplea para estas células del LCR pero está justificada por su semejanza con las formas correspondientes de la sangre. Se trata de células inactivas del sistema fagocítico mononuclear. Son por lo menos el doble de grandes que los linfocitos, tienen un núcleo excéntrico, oval o de forma de riñón o herradura, de color azul grisáceo que contiene a menudo uno o dos nucléolos pálidos y un citoplasma azul grisáceo pálido ocasionalmente interrumpido por vacuolas. Los monocitos se incrementan cuando hay aumento de otras células en pleocitosis mixtas que son ocasionadas por meningitis aséptica o no aséptica o ruptura de un absceso cerebral. ^(6,18)

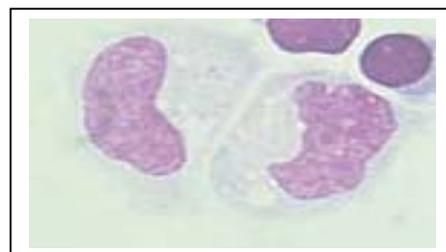


Figura 7. Monocitos ⁽⁹⁾

Neutrófilos

Se encuentran en baja proporción en el LCR normal. Su presencia se atribuye a la centrifugación celular debido a que suelen ser introducidas por contaminación durante la punción lumbar. Se observan en casos de meningitis bacteriana, en absceso cerebral, empiema cerebral, hemorragia del SNC.^(6,18)

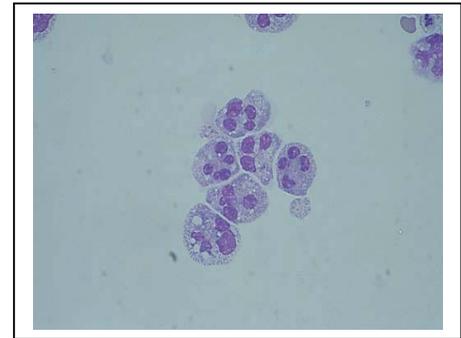


Figura 8. Neutrófilos. ⁽⁹⁾

Macrófagos

El propósito de los macrófagos es eliminar los detritos celulares y elementos extraños. Aparecen dentro de 2 a 4 horas después de que los eritrocitos ingresan al LCR pero también son capaces de fagocitar neutrófilos, lípidos, microorganismos y cristales. Están a menudo aislados pero pueden aparecer dispuestos en grupos bastante grandes. Tienen un núcleo grande redondo, central o excéntrico, el citoplasma es abundante de color azul oscuro y frecuentemente vacuolado. También se observan nucléolos. La degradación de los eritrocitos fagocitados produce el aspecto azul oscuro o negro de los gránulos que contienen hemosiderina.

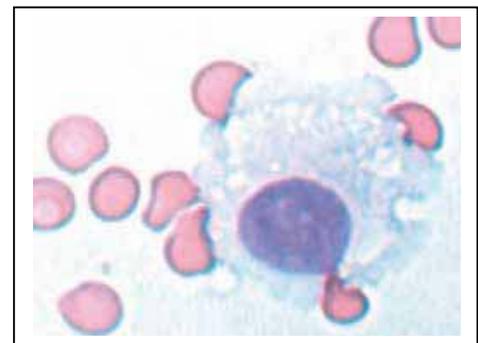


Figura 9. Macrófago ⁽⁶⁾

Se encuentran presentes en hemorragia del SNC así como meningitis viral y tuberculosa.
(6,9,11, 44)

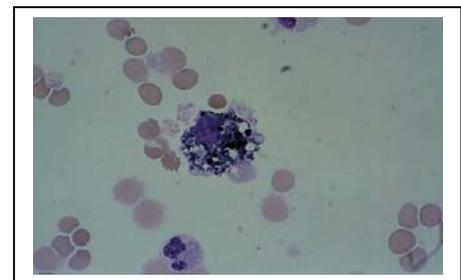


Figura 10. Macrófago con gránulos de hemosiderina ⁽⁹⁾

Eosinófilos

El LCR normal no contiene eosinófilos. Se observan asociados con infecciones parasitarias (*Taenia solium*, *Fasciola hepática*, *Strongyloides stercoralis*), micóticas (*Coccidioides immitis*, *Candida albicans*) bacterias (*Treponema pallidum*, *Mycobacterium tuberculosis*) y la introducción de material extraño como medicaciones y catéteres de derivación en el SNC. Su morfología es Su morfología es semejante a los encontrados en sangre con la diferencia de que muestran una separación de lóbulos más prominente. ^(9, 11)

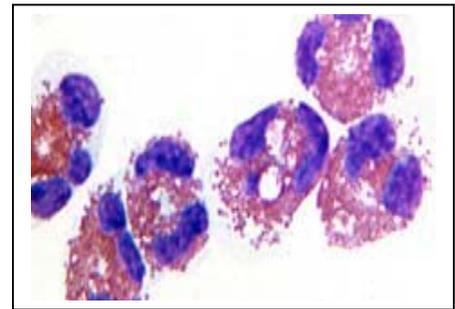


Figura 11. Eosinófilos ⁽¹¹⁾

Células coroideas

Proviene del revestimiento epitelial del plexo coroideo. Se observan en forma aislada y en grupos. Son células bastante frágiles. Los núcleos son redondos de un aspecto uniforme y los nucléolos están ausentes. El citoplasma es azul grisáceo de estructura granulosa fina. Carecen de significado patognomónico especial pero si aparecen en el LCR de niños pequeños y lactantes pueden indicar la presencia de hidrocefalia. También se encuentran más de éstas células cuando el LCR se ha obtenido por punción cisternal o ventricular o bien después de la administración intratecal de fármacos especialmente cistostáticos. ^(9,44)

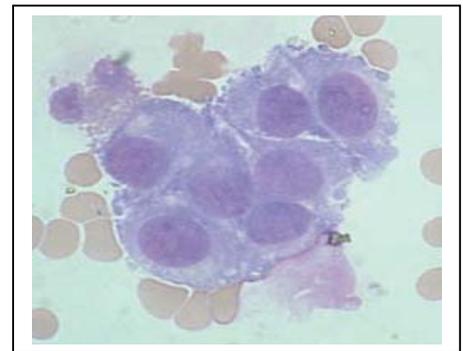


Figura 12. Células coroideas ⁽⁹⁾

Células ependimarias

Las células del epéndimo constituyen el revestimiento de los ventrículos y el canal neural. Poseen membranas celulares menos definidas y con frecuencia están agrupadas. El citoplasma es color azul-rosáceo pálido desflechado en los bordes. En estas células si se observan los nucléolos y la cromatina del núcleo es densa. Poseen el mismo significado clínico que las células coroideas.^(9,44)

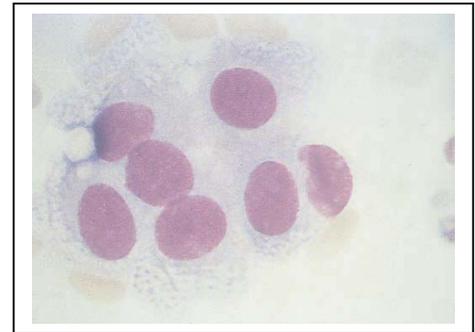


Figura 13. Células ependimarias⁽⁹⁾

Células fusiformes

Representan las células del revestimiento de la aracnoides. También es posible que sean restos de endotelio vascular. En general, sólo constan de un simple núcleo desnudo cuando llegan a la región lumbar. No tienen valor diagnóstico especial, pero pueden indicar que la muestra de LCR se obtuvo por punción ventricular o en el curso de una neumoencefalografía.^(9, 44)

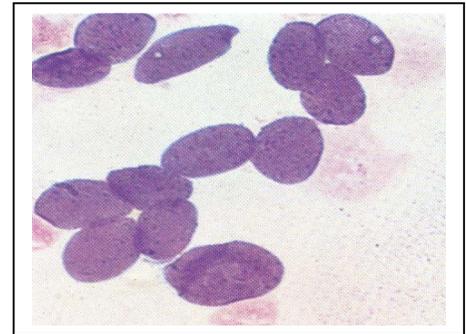


Figura 14. Células fusiformes⁽⁴⁴⁾

Células plasmáticas

No aparecen en el LCR normal. Su presencia indica siempre una reacción inflamatoria. Se originan a partir de linfocitos B que emigran de la sangre al LCR. Las células plasmáticas inmaduras presentan un núcleo grande central y el citoplasma azul claro. Las células plasmáticas maduras se caracterizan por tener un núcleo excéntrico con cromatina gruesa, a veces con típica estructura en “rueda de carro” y citoplasma azul. En torno al núcleo hay una zona de aclaramiento de media luna

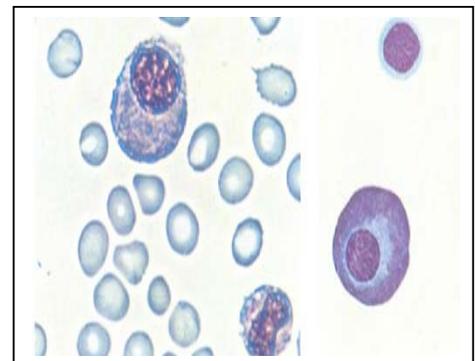


Figura 15. Células plasmáticas⁽⁴⁴⁾

característica aunque no siempre observable. En las enfermedades víricas y en los procesos inflamatorios del SNC, así como en la esclerosis múltiple se observan frecuentemente células plasmáticas binucleadas. ⁽⁴⁴⁾

Células blásticas

Los blastos encontrados en el LCR son homólogos a los que se encuentran en sangre y médula ósea. La estirpe mieloide tiene gránulos más prominentes. Se observan como complicación grave de las leucemias agudas. (L1,L2,L3) ^(9,44)

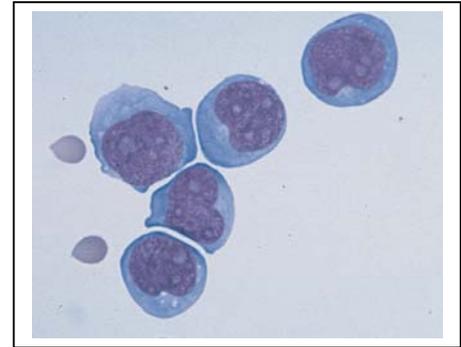


Figura 16. Blastos ⁽⁴⁵⁾

Células de linfoma

Indican diseminación del tejido linfoide. Contienen cromatina nuclear laxa, varios nucléolos prominentes, cantidades moderadas de citoplasma basófilico, contorno nuclear irregular. ^(9,11)

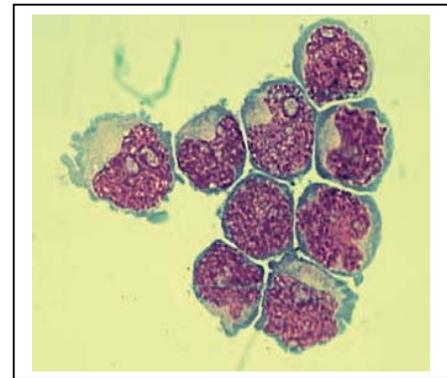


Figura 17. Células de linfoma⁽⁹⁾

Células malignas de origen no hemático

Para los tumores que involucran al LCR los tipos de cáncer metastásico son más comunes que los tumores primarios. Los neoplasmas malignos que crecen en una región localizada del cuerpo pueden llegar al cerebro, médula espinal y leptomeninges. El cáncer de pulmón, mama y estómago así como el melanoma cutáneo, linfoma y leucemia son los tumores que más frecuentemente se propagan en el SNC. Las células tumorales no se encontrarán en el LCR a menos que las leptomeninges o el sistema ventricular sea invadido. Citológicamente las características de estas células pueden incluir: tamaño grande del núcleo en relación

al citoplasma, contorno nuclear irregular, nucléolos grandes, pequeñas vacuolas cubriendo el núcleo así como variación en el tamaño y forma de los núcleos ^(11, 46).

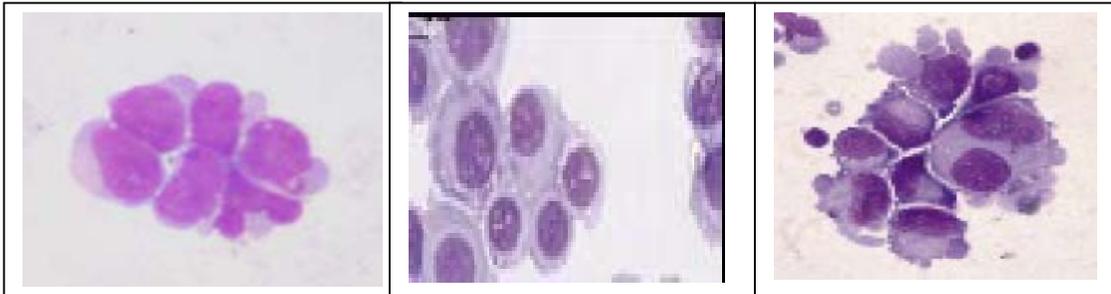


Figura 18. Se ilustra de izquierda a derecha: carcinoma de células pequeñas, carcinoma vesical y melanoma amelánico ⁽⁴⁶⁾

En cuanto a los tumores primarios, en adultos las células de alto grado de astrocitoma como el astrocitoma anaplásico o glioblastoma multiforme y células de linfoma primario son comúnmente observadas en el LCR. En niños, el meduloblastoma es el tumor más común. En estos grupos de células malignas suelen observarse fusión de las membranas celulares e irregularidades nucleares con nucléolos hiper cromáticos. Los frotis que contienen este tipo de celularidad deben remitirse al servicio de patología para su correcta identificación. Se encuentran con mayor frecuencia estos tres tipos de células. ^(9,46)

a) Astrocitoma

Es el tumor glial intracerebral más común. Histológicamente se clasifica en: astrocitoma bien diferenciado, astrocitoma anaplásico y glioblastoma multiforme, dependiendo de la presencia de pleomorfismo celular, necrosis y proliferación vascular. ⁽⁴⁶⁾

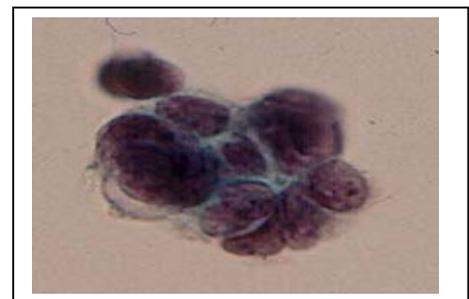


Figura 19. Astrocitoma ⁽⁴⁶⁾

b) Meduloblastoma

Es una célula tumoral pequeña azul y es el tumor más frecuente en niños. Se caracteriza por su alta densidad de células las cuales tienen escaso citoplasma con núcleos ovoides, redondos, o alargados e hiper cromáticos. ^(46,47)

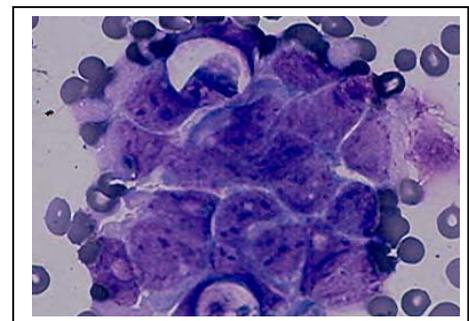


Figura 20. Meduloblastoma ⁽⁴⁶⁾

c) Ependimoma

Su localización es más frecuente en el sistema ventricular cerca del cuarto ventrículo y en la médula espinal. Es desarrollado en niños y adolescentes mayoritariamente.

Son células semejantes a un cubo con núcleo circular y citoplasma escaso color claro. ⁽⁴⁶⁾

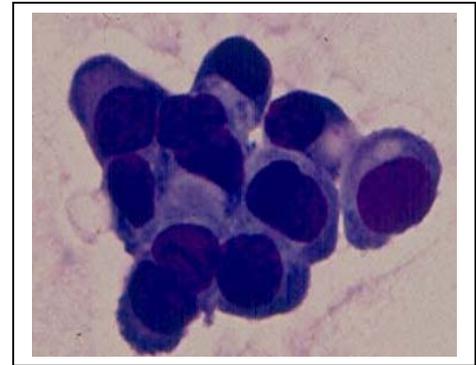


Figura 21. Ependimoma ⁽⁴⁶⁾

2.5 EXAMEN QUÍMICO

Las pruebas de interés son: glucosa, proteínas, lactato, lactato deshidrogenasa, glutamina, sodio, potasio y cloro. ^(9,30)

GLUCOSA

Su presencia en el LCR recibe el nombre de glucorraquia. La glucosa atraviesa la barrera hematoencefálica desde el plasma al LCR por mecanismos de difusión simple y transporte activo por las células endoteliales. La concentración de glucosa en LCR depende de su concentración en el plasma. Esta dependencia hace necesaria la medición de la concentración de glucosa en el plasma y en el LCR de forma simultánea. La concentración de glucosa en el LCR de un adulto sano es aproximadamente un 50-60% de la concentración de la glucosa en suero. Su valor de referencia es de 50 a 80 mg/dL en el adulto y de 70 a 90 mg/dL en niños. Una relación de glucosa LCR/ suero menor a 0.4 es considerada patológica. ^(27,40,48,,49)

La elevación de la concentración de glucosa o hiperglucorraquia en el LCR no tiene un significado clínico, puede deberse a una concentración de glucosa en suero alta entre dos y cuatro horas antes de la obtención de la muestra de LCR, estando relacionada con la existencia de diabetes, perfusión continua de suero glucosado, en algunos casos de encefalitis y en situaciones asociadas con presión intracraneal aumentada, por ejemplo después de un traumatismo cerebral, tumores cerebrales y lesiones hipotalámicas. ^(12,40)

Existen 3 mecanismos que causan la disminución de glucosa (hipogluorraquia):

- 1) Utilización aumentada de la glucosa por leucocitos polimorfonucleares, células neoplásicas y bacterias.
- 2) Por la inhibición de la entrada de glucosa a causa de los cambios en la barrera hematoencefálica
- 3) Por la actividad glucolítica incrementada del SNC. ^(36,40)

Hipogluorraquia	Hipergluorraquia
Hipoglucemia	Diabetes mellitus
Meningitis bacterianas y fúngicas	Hiperglucemia
Meningitis tuberculosa	Encefalitis epidémica o poliomiелitis
Neoplasias meníngeas: Linfoma, melanoma, carcinoma, leucemia	Meningitis serosas y urémicas
Síndrome de Reye	Hipertensión endocraneal debida a tumores o abscesos cerebrales
Parasitosis meníngea	Neurosífilis
Hemorragia subaracnoidea	
Meningitis reumatoide y mielitis lúpica	
Meningitis virales	

Tabla No 3. Causas más frecuentes de hiper e hipogluorraquia en LCR. ⁽⁴²⁾

PROTEÍNAS

Los posibles orígenes de los componentes proteicos del LCR son:

- a) A partir del plasma sanguíneo y por difusión a través del plexo coroideo, de los vasos sanguíneos de las zonas limítrofes del LCR, por hemorragias en el espacio subaracnoideo.
- b) A partir del parénquima nervioso central y procedentes de células inmunocompetentes cuya situación primaria no es el SNC.
- c) A partir de células del LCR modificadas por su patología o en descomposición así como a través de la degradación de componentes proteicos que hayan accedido al LCR. ⁽⁵⁰⁾

Los intervalos de referencia varían con la edad y con el origen de la muestra de LCR (lumbar, cisternal o ventricular). Por ejemplo, en los recién nacidos el valor es alto con un límite superior mayor de 150 mg/dL debido a la inmadurez de la barrera hematoencefálica. En los adultos el LCR cisternal y ventricular tienen concentraciones más bajas que en el líquido lumbar. ⁽³⁶⁾

La mayor concentración de proteínas en el LCR la ocupa la albúmina (aprox.15 mg/dL). A diferencia del suero la prealbúmina es la segunda fracción más importante del LCR. De las inmunoglobulinas la IgG es la de mayor concentración (\pm 1.23 mg/dL) y la IgA tiene la menor concentración (\pm 0.13 mg/dL). El LCR contiene además otras globulinas como: transferrina, α -2 macroglobulina y ceruloplasmina. ⁽²⁸⁾

Tipo de proteína	LCR (mg/dL)	Suero (mg/dL)	Relación suero:LCR
Prealbúmina	1.7	23.8	14
Albúmina	15.5	3600	236
Ceruloplasmina	0.1	36.6	366
Transferrina	1.4	204	142
Ig G	1.2	987	802
Ig A	0.13	175	1346

Tabla No.4 Correlaciones entre las proteínas del LCR y del suero. ⁽⁹⁾

Se enlistan las causas del aumento y disminución de proteínas en este tipo de muestra.

Aumento:

- 1) Punción traumática debido a la contaminación plasmática, llegando a producirse aumentos hasta de 400 mg/dL.
- 2) En meningitis bacteriana y vírica, procesos endocrinos, metabólicos y tóxicos, debido a que se aumenta la permeabilidad de la barrera hemática/LCR y la disminución de las moléculas de proteínas en las vellosidades aracnoideas.
- 3) En compresión medular debida a un tumor, hernia discal, absceso extradural, debido a la obstrucción en la circulación del LCR a partir de un bloqueo mecánico entre el lugar de la punción lumbar y el agujero magno.

4) Por incremento en la síntesis de IgG en el SNC en procesos asociados con infiltrados linfocitarios y plasmocitarios del SNC.

Disminución:

- 1) Extravasación de LCR a partir de un desgarro dural producido por un traumatismo.
- 2) Eliminación de importantes volúmenes de LCR ejemplo: en neuroencefalografía.
- 3) Aumento en la presión intracraneal porque pueden causar un aumento en la filtración de líquido a través de las granulaciones aracnoideas de los senos duros.
- 4) Hipertiroidismo por mecanismos desconocidos. ^(12,36)

La evaluación de la barrera hematoencefálica (BHE) es llevada a cabo por el cálculo del cociente albúmina LCR/ suero:

$$\text{Índice de albúmina LCR/ suero} = \frac{\text{Albúmina en LCR (mg/dL)}}{\text{Albúmina en suero (g/dL)}}$$

El valor de referencia de este cociente debe ser menor a 9. El valor del índice de 9 a 14 indica un ligero daño, de 15 a 30 un daño moderado y un valor mayor a 30 indica un daño severo en la BHE. Un completo y extremo daño de la BHE es indicado con un valor mayor a 100. ^(6,9)

El LCR normal contiene pequeñas cantidades de inmunoglobulina IgG. El SNC puede producir un incremento de ella en condiciones patológicas o debido al incremento del transporte de proteínas del plasma. El índice de IgG LCR/suero es calculado de una manera similar al de la albúmina:

$$\text{Índice de IgG LCR/ suero} = \frac{[\text{IgG en LCR (mg/dL)} / \text{IgG en suero (g/dL)}]}{[\text{Albúmina en LCR (mg/dL)} / \text{albúmina en suero (g/dL)}]}$$

El valor de referencia de este cociente es de 0.3 a 0.7. Un índice mayor se encuentra asociado con la producción de IgG dentro del SNC debida a esclerosis múltiple, desórdenes neurológicos inflamatorios, y por alta producción intratecal. Por el contrario un índice bajo señala que la BHE se encuentra dañada. ^(6,9)

El cálculo del índice de inmunoglobulina IgG puede aplicarse a IgA e IgM, cadenas ligeras de inmunoglobulinas y los anticuerpos específicos contra los microorganismos infecciosos. ⁽¹²⁾

La electroforesis de proteínas en gel de agarosa es la técnica más utilizada en los laboratorios clínicos que se sirve para identificar el tipo y cantidades relativas de proteínas presentes en el LCR concentrado. Se usa de forma generalizada para investigar bandas oligoclonales. En el caso de la IgG dos o más bandas encontradas en el LCR las cuales no son observadas en el suero son una prueba de la síntesis local de IgG, esto contribuye al monitoreo de los procesos inflamatorios en el SNC. Padecimientos como la leucemia, linfomas y las infecciones virales pueden producir bandas en el suero que también aparecen en LCR como resultado de pérdidas a través de la BHE o de la presencia de sangre por punción traumática en la muestra de LCR. Otros trastornos como la encefalitis, neurosífilis, síndrome de Gullían-Barré y las neoplasias también pueden producir estas bandas que pueden no encontrarse en el suero. ^(6,9, 12, 51)

La proteína básica de mielina en el LCR es indicativa de destrucción reciente de la vaina de mielina que protege los axones de las neuronas (desmielinización). Los niveles normales en el LCR deben ser menores de 4 ng/mL. La medida por inmunoensayo de la cantidad de esta proteína sirve para monitorear la evolución de la esclerosis múltiple cuyo valor se encuentra superior a los 8 ng/mL. Otras razones por las que puede incrementarse son traumatismos de la cabeza, hipoxia, mielopatía y administración intratecal de quimioterapia. ^(6,9)

La proteína C reactiva (PCR) se utiliza como un marcador para diferenciar la meningitis viral, tuberculosa o fúngica de la bacteriana, valor el cual se eleva en esta última, en especial de la producida por bacterias Gram negativas. ^(12,52)

La α 2-macroglobulina se encuentra elevada en la hemorragia subdural o en daño de la BH como sucede en la meningitis bacteriana. ⁽¹²⁾

Otra proteína encontrada en patologías es la β -₂ microglobulina. Una concentración en LCR superior a 1.8 mg/L se asocian con infecciones virales, leucemia leptomeníngea y linfoma. ⁽¹²⁾

LACTATO

El lactato presente en el LCR es el producto final de la glucólisis anaerobia tanto de los leucocitos como de las bacterias, siendo el metabolismo bacteriano, en caso de infección, la principal fuente de lactato en él. El nivel en el LCR es independiente de la del plasma debido a que el estado ionizado atraviesa la BHE de manera lenta. El aumento de lactato sirve para diferenciar las meningitis bacterianas cuyo valor es mayor a 6 mmol/L (30mg/dL), de las tuberculosa, micótica y viral en la cual se observa más elevado (superior a 35 mg/dL). El nivel de lactato también se incrementa en condiciones de hipoxia muscular, baja oxigenación del cerebro, hemorragia intracraneal y epilepsia. ^(6,,37,41,53,54)

LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)

Para saber si el aumento es exclusivo del LCR o es general en el organismo, se realiza el cociente entre la LDH del LCR y la LDH del plasma, si el cociente es mayor a 1, entonces el aumento será exclusivo del LCR. Es útil en el diagnóstico diferencial de la meningitis bacteriana cuyo valor es mayor que en la viral. Su concentración puede aumentar también en otras situaciones clínicas como carcinomas, leucemia, linfoma y necrosis isquémica. ^(29,32,53)

CREATINCINASA (CK)

Suele encontrarse en el LCR como isoenzima CKBB. Su aumento está asociado con hemorragia subaracnoidea, síndrome de Guillian-Barré, tumores primarios y metastásicos que afectan el SNC y lesiones cerebrales isquémicas. ⁽³⁶⁾

SODIO

Los iones sodio participan en el intercambio líquido entre el espacio extraneural, por un lado y el parénquima nervioso central por otro. ^(9,50)

CLORUROS

Las variaciones patológicas de interés clínico son sobre todo las hipoclorurorraqias. Pueden ser ocasionadas por:

a) Hipocloremias. En la neumonía neumocócica, estenosis pilórica o duodenal.

b) Meningitis tuberculosa. Puede llegar a valores inferiores a 500 mg/ 100 mL. Si la cifra de cloruros persiste baja, la meningitis tuberculosa no se debe considerar curada, aunque exista mejoría clínica.

c) Puede aparecer, aunque menos marcada, en otras enfermedades como la neurosífilis, poliomiелitis. ⁽⁴²⁾

MAGNESIO

En concentración normal, el magnesio bloquea los receptores del N-metil-D-aspartato (NMDA) en las neuronas. En concentraciones bajas, se activan estos receptores y pueden contribuir al desarrollo de epilepsia. ⁽⁵⁵⁾

2.6 EXAMEN MICROBIOLÓGICO

El LCR normalmente es estéril. Por lo tanto, hay que considerar patológicos todos los microorganismos presentes en él. El análisis del LCR reside principalmente en la identificación de los microorganismos causales de la meningitis, determinar su patrón de sensibilidad y así llevar a cabo un uso adecuado de antibióticos.

Para su identificación se deben recuperar los microorganismos del líquido mediante cultivo en un medio adecuado. Esto puede tardar desde 24 horas en caso de meningitis bacteriana, hasta seis semanas en la meningitis tuberculosa. En muchos casos el cultivo de LCR es un procedimiento confirmatorio más que diagnóstico. Sin embargo, se dispone de varios métodos para proporcionar un diagnóstico preliminar. Estos métodos son la tinción de Gram, la tinción para bacilos ácido alcohol resistentes, tinción de tinta china y las pruebas de aglutinación de partículas de látex. ^{(9,22,40,50).}

La sensibilidad del examen microscópico de la tinción de Gram es variable se atribuye una sensibilidad del 80 -90% de los casos en la tinción de Ziehl-Neelsen de 40% y la tinción de tinta china de 25 a 50%. ⁽⁵³⁾

	LCR Normal	Meningitis viral	Meningitis bacteriana	Meningitis tuberculosa	Meningitis micótica
Leucocitos/mm ³	0-5	2 - 2000	5 - 5000	5- 2000	5- 2000
Leucocitos predominantes		linfocitos	neutrófilos	linfocitos monocitos	linfocitos monocitos
Concentración de glucosa	normal	normal	disminuida	disminuida	normal a disminuida
Concentración de proteínas	normal	aumentada	muy aumentada	aumentada	aumentada

Tabla 5. Hallazgos en pruebas de laboratorio en LCR para el diagnóstico de meningitis. ⁽⁹⁾

Todas las tinciones y cultivos deben realizarse en muestras concentradas porque a menudo sólo algunos microorganismos están presentes en el comienzo de la enfermedad. El LCR debe centrifugarse a 2500 rpm durante 15 minutos y posteriormente prepararse frotis y cultivos. Debido al tipo de bacterias implicadas, deben emplearse medios enriquecidos como el agar sangre el agar chocolate y agar Mc Conkey. Las placas se incubarán a 35-37 °C en atmósfera aerobia enriquecida con 5% de CO₂. Sin embargo, existe la posibilidad de falsos negativos, por esta razón deben realizarse hemocultivos ya que el microorganismo está presente en el LCR y en la sangre. Además del cultivo convencional, el procesamiento de muestras de LCR debe incluir siempre un caldo de enriquecimiento (tioglicolato o similar) para el desarrollo de bacterias anaerobias, manteniendo la incubación durante 7-14 días. Si se investigan hongos o micobacterias, se inoculan también placas de agar Sabouraud con cloranfenicol y un tubo con medio de Lowenstein-Jensen. ^(9,56)

Los microorganismos encontrados con mayor frecuencia son: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli* y *Neisseria meningitidis*. ⁽⁹⁾

La tinción de Bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) no se realiza en forma sistemática en las muestras, a menos que se sospeche de meningitis tuberculosa. Dado el tiempo muy extenso que se necesita para el cultivo de las micobacterias, un informe positivo de esta tinción resulta de sumo valor. ⁽⁹⁾

La tinción de tinta china se usa ampliamente para observar la presencia de cápsula de algunos microorganismos. En el LCR se realiza principalmente para la identificación de *Criptococcus neoformans*.⁽²²⁾



Figura 22. Imagen de criptococo con su cápsula. Preparación en fresco, tinción de tinta china. 100X⁽⁵⁷⁾.

El método de aglutinación en látex proporciona un medio rápido para detectar e identificar microorganismos en LCR. Se comercializan Kits de pruebas para detectar antígenos de estreptococos del grupo B, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli k1* y *Neisseria meningitidis*. Se pueden realizar en pocos minutos y su simplicidad hace de ellas unas técnicas al alcance de cualquier laboratorio, aunque la baja sensibilidad es su principal desventaja.^(9,56)

La prueba de VDRL no es completamente específica, pero sí es característico de la neurosífilis.⁽⁴²⁾

La introducción de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real ha supuesto un gran avance. Las mayores ventajas son la simplificación máxima del procedimiento, la rapidez con que se obtienen los resultados, y su buena sensibilidad, que no disminuye significativamente con la administración previa de antibióticos. Los principales inconvenientes son la necesidad de personal específicamente entrenado, la falta de estandarización de los protocolos y el coste elevado. Por ello, las técnicas genómicas aun no pueden sustituir al cultivo como método de referencia.⁽⁵⁶⁾

2.7 VALORES DE REFERENCIA.

Se presenta a continuación sus valores de referencia del LCR en adultos.

Componente	Valor de referencia.
Proteínas	15 - 45 mg/dL
Glucosa	50 - 80 mg/dL adultos 70 - 90 mg/dL niños (50 al 60 % de la concentración plasmática)
Lactato	9 - 30 mg/dL
LDH	LDH suero/ LDH plasma < 1
Glutamina	8 - 18 mg/dL (0,3 a 1,4 mmol/L)
Cloruro	110 -129 mmol/L (700- 750 mg/dL).
Sodio	135 -150 mmol/L
Magnesio	1.2 – 1.5 mmol/L
Densidad	1.007
Presión	90 – 180 mm de Hg
Leucocitos	0 – 5 mm ³

Tabla no. 6 Valores de referencia en LCR normal. (6,9, 29, 34, 36,37)

2.8 PRUEBAS ADICIONALES

MARCADORES TUMORALES

La medida de marcadores tumorales como α -fetoproteína (AFP) y gonadotropina coriónica humana (β hCG) son ocasionalmente requeridos por los médicos para evaluar el grado de infiltración de células germinales tumorales dentro del SNC. La malignidad de estas células requiere de inmediato un tratamiento por radiación o quimioterapia, por lo que la medición por ejemplo de la β hCG se utiliza como monitoreo de la efectividad de dichos tratamientos. La AFP incrementa sus valores en los pacientes con carcinoma embrionario. La β hCG se observa elevada en pacientes con coriocarcinoma, teratomas o carcinomas testiculares de células germinales que han formado metástasis en el SNC. Generalmente son determinados por métodos de electroluminiscencia. Sin embargo, éstas pruebas están actualmente disponibles en sólo un número limitado de laboratorios, lo que implica un alto costo. (53,58,59)

GLUTAMINA

En el sistema nervioso central una gran proporción del amonio es secuestrado por el α -cetoglutarato para formar glutamina. Este proceso sirve para eliminar el amoniaco, producto de desecho metabólico del SNC. El intervalo de referencia de glutamina en líquido cefalorraquídeo es de 0,3 a 1,4 mmol/L, concentraciones superiores a 2,45 mmol/L casi siempre se asocian con síntomas de encefalopatía metabólica. El coma hepático puede verse con concentraciones entre 1,75 y 6,65 mmol/L. Por lo tanto, la determinación de glutamina representa una prueba indirecta del exceso de amoniaco en el LCR.

Las concentraciones de glutamina también pueden encontrarse incrementadas significativamente en la sepsis y en la insuficiencia respiratoria hipercápnic, también es una prueba solicitada con frecuencia en los pacientes que sufren coma de origen desconocido. Por lo tanto, las concentraciones elevadas de glutamina en el líquido cefalorraquídeo no son patognomónicas de enfermedad hepática. (9,43).

3. LÍQUIDO SINOVIAL

3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

El líquido sinovial (LS), también conocido como líquido articular, es un trasudado del plasma producido a nivel de la membrana sinovial por células sinoviales que contiene moléculas ricas en sacáridos de alto peso molecular, particularmente ácido hialurónico. Es un fluido no coagulable, viscoso, transparente a amarillo claro, sin presencia de partículas el cual tiene como funciones principales la lubricación articular y la nutrición del cartílago removiendo del mismo cuando se libera la presión, los productos de desecho. Se encuentra presente en todas las articulaciones diartroidales en cantidades que varían desde algunos microlitros en pequeñas articulaciones, hasta 3 o 4 mL en grandes articulaciones. ^(10,23, 53,91)

Se encuentra en las cavidades de las articulaciones móviles o articulaciones sinoviales. Los huesos en las articulaciones móviles están revestidos por un cartílago articular liso y separados por una cavidad que contiene el líquido sinovial. La articulación está cerrada en una cápsula articular fibrosa revestida por la membrana sinovial que a diferencia de otras cavidades corporales carece de membrana basal y no contiene células epiteliales pero que presenta células llamadas sinoviocitos. (Fig. 7) ^(9,30,60)

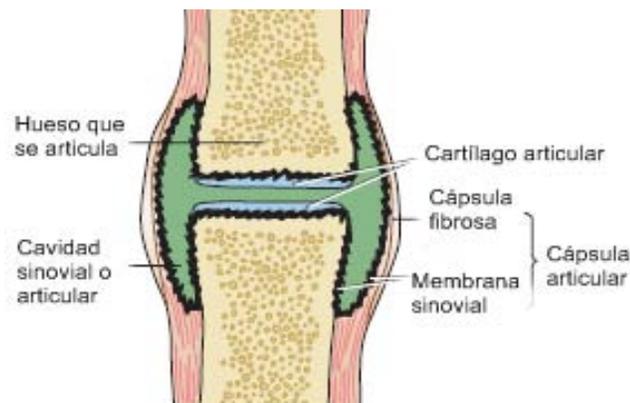


Figura 23. Diagrama de una articulación sinovial. ⁽⁹⁾

La membrana sinovial está compuesta de 3 diferentes tipos celulares:

- Tipo A que son ricas en vacuolas y lisosomas y funcionan como fagocitos.
- Tipo B que tienen retículo endoplásmico rugoso y que tienen función secretora.
- Tipo C que son híbridos de las células de tipo A y B en apariencia y función.

El LS se forma como un ultrafiltrado del plasma que atraviesa la membrana sinovial al que se añade el ácido hialurónico secretado por las células tipo B. El ácido hialurónico le confiere su viscosidad característica. También contiene proteínas aunque en una cantidad baja, aproximadamente una tercera parte de las que están en suero. ^(6,9,30,60)

Dado que la filtración no es selectiva, la mayoría de los constituyentes químicos tienen concentraciones similares a los del plasma. Normalmente no contiene fibrinógeno pero en los procesos inflamatorios puede estar presente y provocar coagulación espontánea. ^(9,61)

Las funciones de la membrana y del líquido sinovial son aportar nutrientes al cartílago articular, favorecer su lubricación para que haya un mínimo de fricción entre los huesos durante el movimiento de la articulación, amortiguar el peso corporal disminuyendo el impacto de compresión de las articulaciones durante actividades como caminar o correr y evacuar de la cavidad articular las partículas o residuos que puedan aparecer a consecuencia del uso de la articulación. ^(9,60)

3.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

El líquido sinovial se obtiene mediante la técnica de punción articular llamada artrocentesis, la cual debe realizarse por personal especializado y en condiciones de estricta asepsia. (Figura 24) La cantidad de líquido presente varía con el tamaño de la articulación y la magnitud del aumento de líquido en ésta. Si es posible, se mantendrá al paciente en ayunas 6 horas previas a la extracción, así la glucosa plasmática y la sinovial estarán en equilibrio. ^(6,9,29,32).

El LS normal no contiene fibrinógeno, pero en la inflamación se permite el paso de proteínas de alto peso molecular al LS, el fibrinógeno puede estar presente y puede ocurrir una coagulación espontánea. Por lo tanto, la obtención del líquido debe realizarse con una jeringa con anticoagulante (25 U de heparina sódica por mL de LS). No se deben emplear otros anticoagulantes ya que inducen alteraciones en el examen microscópico. Tampoco deben usarse anticoagulantes en polvo debido a que pueden producir artefactos que interfieren en el análisis de cristales. Una vez recolectada la muestra, en función del volumen obtenido, debe distribuirse en 4 tubos: ^(9,10,53,46)

- 1) Tubo heparinizado estéril para el estudio microbiológico.
- 2) Tubo sin aditivos para el estudio de cristales.
- 3) Tubo con heparina o ácido etilendiaminotetracético (EDTA) para el recuento celular.
- 4) Tubo con fluoruro de sodio para el análisis de la glucosa. ^(9,59)

El tubo sin anticoagulante debe ser centrifugado y separado para impedir que los elementos celulares interfieran con el análisis químico.

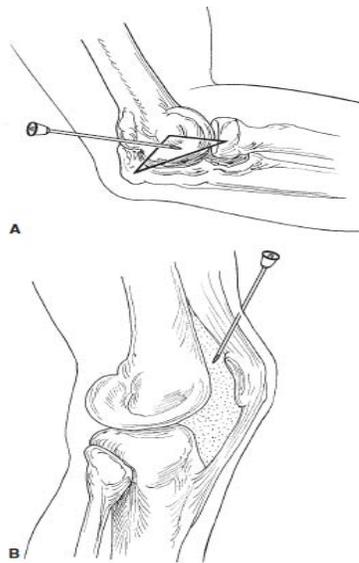


Figura 24. Artrocentesis en A) Codo y B) rodilla ⁽⁶⁾

La muestra de LS obtenida debe ser transportada al laboratorio a la mayor brevedad posible, para evitar la degeneración celular. Si existe demora en el transporte, es necesario conservar la muestra a temperatura entre 2 y 8 °C para reducir el metabolismo celular, a excepción de la muestra para cultivo que ha de transportarse a temperatura ambiente. La muestra destinada al estudio bioquímico debe ser centrifugada de inmediato para separarla del contenido celular, especialmente si hay que medir la concentración de complemento, ya que por su elevada labilidad puede disminuir su actividad en un 50% en tan solo dos horas. ⁽⁶⁰⁾

3.3 CLASIFICACIÓN DEL LÍQUIDO SINOVIAL

Los cambios físicos y químicos que ocurren en la sinovia durante alguna enfermedad reflejan los procesos patológicos que ocurren en la articulación. Varias situaciones

clínicas como infección, inflamación trastornos metabólicos, traumatismo, tensión física y edad avanzada se asocian con artritis. Dependiendo de la causa que origina el derrame, se observan diferentes tipos de líquido sinovial y por ello, se ha clasificado al líquido sinovial en 4 grupos mismos que se muestran en la tabla No. 7 (9,10,29)

Grupo de clasificación	Importancia patológica	Hallazgos de laboratorio en los trastornos articulares
GRUPO I. No inflamatorio	Trastornos articulares degenerativos, artrosis	Líquido claro y amarillo Buena viscosidad Leucocitos < 1000 / μ L Neutrófilos < 30% Glucosa normal (similar a la glicemia)
GRUPO II. Inflamatorio	Trastornos inmunitarios, artritis reumatoide, lupus eritematoso, esclerodermia, polimiositis, esponditis anquilosante, fiebre reumática y artitis de Lyme.	Origen: inmunitario. Líquido turbio y amarillo Escasa viscosidad Leucocitos 2,000 – 75,000/ μ L Neutrófilos > 50% Glucosa disminuida Presencia posible de autoanticuerpos. Origen: Inducido por cristales Líquido turbio o lechoso Viscosidad baja Leucocitos hasta 100,000/ μ L Neutrófilos > 75% Glucosa disminuida Presencia de cristales.
GRUPO III. Séptico	Infección microbiana.	Líquido turbio, amarillo o verdoso Viscosidad variable Leucocitos 50,000 – 100,000/ μ L Neutrófilos > 75% Glucosa disminuida Tinción de Gram y cultivo positivos
GRUPO IV. Hemorrágico	Lesión traumática, tumores, hemofilia, otros trastornos de la coagulación, dosis excesivas de anticoagulante.	Líquido turbio, rojo Viscosidad baja Leucocitos iguales a los de sangre Neutrófilos iguales a los de sangre Glucosa normal

Tabla No. 7 Clasificación, importancia patológica y hallazgos de los trastornos articulares. ⁽⁹⁾

3.4 EXAMEN FÍSICO

ASPECTO

El LS normal es claro y transparente. Si se coloca en un tubo de ensayo se puede leer un texto a través de él. La claridad se relaciona con el número y tipo de partículas contenidas en el LS. Un aspecto turbio u opaco generalmente indica un incremento en la concentración celular, contenido de cristales o la presencia de lípidos, fibrina o coágulos de restos celulares degenerativos. La elevada turbidez aunque menos frecuente se observa como “partículas de arroz” que son debidos a fragmentos de células proliferativas degeneradas o de membrana sinovial microinfartada. También se pueden apreciar partículas de “pimienta en grano” por los fragmentos de cartílago pigmentario el cual es un signo de ocrónosis (depósito de pigmentos a nivel de la dermis papilar) y partículas de plástico o metal de pacientes con prótesis articulares. ^(6,12, 60,61,62,63)



Figura 25. Aspecto del líquido sinovial de izquierda a derecha: Normal y claro, turbio, xantocrómico y lechoso.



Figura 26. Inclusiones del líquido sinovial. A) “Pimienta en grano”. B) “Partículas de arroz”. ⁽⁶⁾

COLOR

El LS normal es de color amarillo paja y debe ser observado en un tubo sobre un fondo blanco. Coloraciones pardo-rojizas indicarán sangre en la muestra. Si ello se debe a una punción traumática se obtendrá un sobrenadante amarillo claro transparente después de la centrifugación. Si el líquido es xantocrómico, se debe a un traumatismo grave o una coagulopatía. La aparición de una capa cremosa en el sobrenadante de un líquido hemorrágico se asocia con la presencia de fracturas subcondrales o necrosis grasa secundaria a pancreatitis, entre otras causas. El color amarillo verdoso es sugestivo de un proceso séptico. ^(60,63,64)

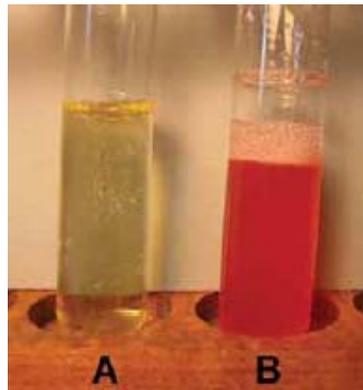


Figura 27. Líquido sinovial A) Normal. B) Hemorrágico. ⁽⁶⁾

VOLUMEN

El volumen máximo de LS que se puede extraer de una articulación normal es de 0.1 a 3.5 mL. Si se obtiene un volumen mayor es indicativo de un proceso inflamatorio. En ausencia de derrame articular es poco probable obtener volúmenes grandes, por ello es importante anotar la cantidad de líquido obtenido en la artrocentesis. ⁽⁶³⁾

VISCOSIDAD

La viscosidad del LS es dependiente del ácido hialurónico. Cuando existe un proceso inflamatorio, se reduce la formación del ácido hialurónico por las células B y se producen enzimas de degradación que disminuyen la viscosidad del LS como la hialorunidasa presente en los neutrófilos ^(60,62)

Una forma práctica y sencilla de medir la viscosidad del LS es colocar una gota en un portaobjetos y con un aplicador de madera o levantarla lentamente. El LS normal debe formar una hebra de 3 a 6 cm de longitud. A esta propiedad se le conoce como filancia, misma que se define como la capacidad de una mucosidad de extenderse para formar hilos. El tamaño de la hebra del LS disminuye en procesos inflamatorios

como la artritis séptica y la artritis reumatoide así como por traumatismos. Una viscosidad elevada puede observarse en paciente hipotiroideos con trastornos articulares mecánicos, en amiloidosis y osteocondromatosis sinovial. Un método más actual consiste en mezclar el LS y una solución al 2% de ácido acético para formar un precipitado blanco producido por la agregación de proteínas y ácido hialurónico. La naturaleza y cantidad del precipitado varía de bueno a pobre y refleja la cantidad y calidad del complejo proteína/ácido hialurónico. ^(60,62,63)



Figura 28. Prueba de viscosidad muestra un LS de viscosidad normal. ⁽⁶⁾

3.5 EXAMEN MICROSCÓPICO

RECUENTO CELULAR

El recuento total de leucocitos es el que se realiza con mayor frecuencia en el LS. Los recuentos manuales se hacen en la cámara de Neubauer de la misma manera que en el LCR. En el caso de los líquidos claros, lo habitual es efectuar el recuento en la muestra sin diluir, pero cuando los líquidos son turbios o sanguinolentos es necesario hacer dilución de la muestra con solución fisiológica. Si el líquido es muy viscoso se le agregan 400 unidades de hialorunidasa por mililitro y se incuba por 10 minutos a 37 °C. ^(9,18)

El recuento automatizado de células ha sido validado para las células nucleadas y eritrocitos en sistemas basados en impedancia electrónica. Los límites bajos de detección son analíticamente aceptables y proporcionan información clínica relevante. Los límites bajos de detección son establecidos mayores a 0.150 o $0.200 \times 10^9/L$ para las células nucleadas y 0.01 o $0.03 \times 10^{12}/L$ para los eritrocitos. Si se utilizan instrumentos automatizados, debe realizarse el pretratamiento de muestras con hialorunidasa por 20 minutos. ⁽¹⁸⁾

La leucocitosis, cuando está presente guarda una relación directa con el grado del proceso inflamatorio local. Los recuentos más elevados corresponden a artritis sépticas. Sin embargo, existen excepciones en padecimientos como artritis tuberculosa, gonocócica y por candidas, y en los líquidos hemorrágicos cuya concentración de leucocitos es baja y es asociada a traumatismos, fracturas, tumores, prótesis y trastornos de la coagulación como la hemofilia. ^(32,60,61)

Las células sinoviales no tienen significado patológico. Se parecen a las células mesoteliales y pueden ser difíciles de diferenciar de los monocitos (Figura 29). ⁽¹²⁾

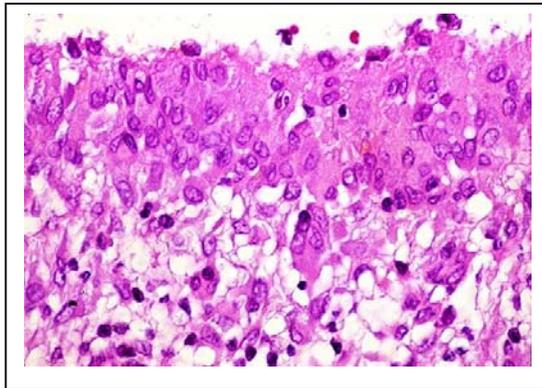


Figura 29. Proliferación de Células sinoviales. Tinción HE 500x.

Para llevar a cabo el recuento diferencial es conveniente centrifugar la muestra a 2500 rpm durante 15 minutos y del sedimento tomar una gota, dejar que se escurra en un portaobjetos y después teñirse con una tinción de Wright. También se recomienda el uso de una preparación húmeda la cual se realiza de la siguiente manera:

Colocar sobre un portaobjetos una gota de líquido articular recién obtenido y cubrirlo con un cubreobjetos cuyos bordes se sellan inmediatamente con esmalte para uñas transparente. En esta preparación se pueden observar las células de Reiter que son monocitos con polimorfonucleares fagocitados y las células LE. En la tabla No. 8 se resume el % de la diferencial normal del LS. ^(22,29,61)

Célula	%
Neutrófilos	20
Linfocitos	15
Monocitos	65

Tabla No. 8 Porcentaje de leucocitos del líquido sinovial. ^(12,29)

El líquido sinovial contiene alrededor de un 20% de neutrófilos, el resto de las células son linfocitos y fagocitos mononucleares (monocitos e histiocitos). Los neutrófilos frecuentemente exhiben cambios degenerativos y pueden contener bacterias, cristales, gotas de lípidos, vacuolas o inclusiones azul oscuras. Dichas células son llamadas ragoцитos o células AR. En los líquidos moderadamente inflamatorios predominan las células mononucleadas. Es el caso de las fases iniciales de la artritis reumatoide y la artritis del lupus eritematoso sistémico donde pueden verse formas reactivas; en las fases más evolucionadas se observa un predominio claro de neutrófilos, al igual que sucede en la artritis bacteriana y en las producidas por microcristales (urato monosódico o pirofosfato cálcico). La eosinofilia en el líquido sinovial es infrecuente, aunque puede observarse en una variada gama de artropatías, especialmente en aquellas asociadas a reacciones alérgicas, en enfermedades parasitarias, enfermedad de Lyme y carcinomas metastásicos. ^(12,18,60)

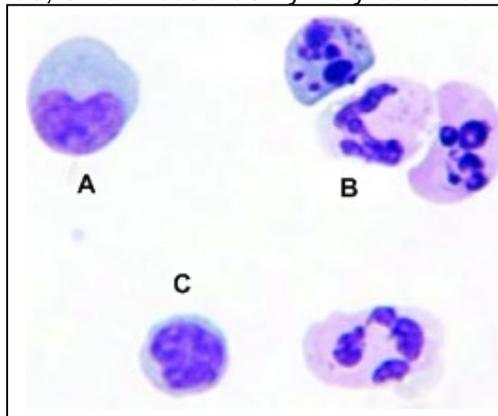


Figura 30. Células localizadas en líquido sinovial: A) Monocito. B) Neutrófilo
C) Linfocito.

Los cuerpos lipídicos se asocian con traumatismos, necrosis aséptica y artritis reumatoide. Estas gotas a menudo forman “cruces de Malta” en el microscopio de luz polarizada. ⁽¹²⁾

CRISTALES

El examen microscópico del LS para determinar la presencia de cristales es una prueba diagnóstica importante para la evaluación de la artritis. Las causas de formación de cristales incluyen los trastornos metabólicos y la disminución de la excreción renal que produce concentraciones sanguíneas elevadas de sustancias químicas que cristalizan, degeneración del cartílago y del hueso, y las inyecciones de

medicamentos como corticosteroides en una articulación. Este análisis incluye tanto la búsqueda de cristales como la caracterización de su refringencia, lo cual se hace usando un microscopio de luz polarizada. ⁽⁹⁾

El análisis microscópico del LS debe incluir la descripción de la forma (aguja, romboideo, cuadrado con muesca, forma de puro, bipiramidal, cruz de malta, etc), birrefringencia, localización (intracelulares o extracelulares) y cantidad (escasos o abundantes) de los cristales observados. ⁽⁶³⁾

Aunque muchos tipos de cristales han sido encontrados en el LS el urato monosódico y el pirofosfato de calcio son los más frecuentes. Otros cristales con significancia patológica incluyen fosfato básico de calcio o hidroxapatita, colesterol, cristales esteroides y oxalato de calcio. ^(9,18)

Cristales de urato monosódico

Los cristales de urato monosódico presentan forma de bastones o agujas su tamaño varía entre 5 y 20 micras de longitud. Cuando son observados con luz polarizada muestran una alta birrefringencia y con enlongación negativa. Pueden verse fagocitados por los polimorfonucleares y macrófagos o libres en el LS. Se detectan en el 90% de pacientes afectados con artritis gotosa y 70% entre episodios agudos. ^(60,61)

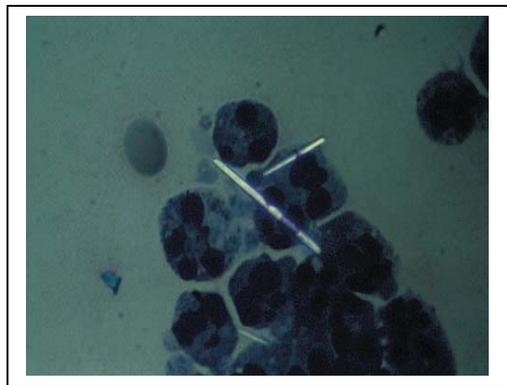


Figura 31. Cristales de urato monosódico muy birrefringentes observados con luz polarizada 500x ⁽⁹⁾

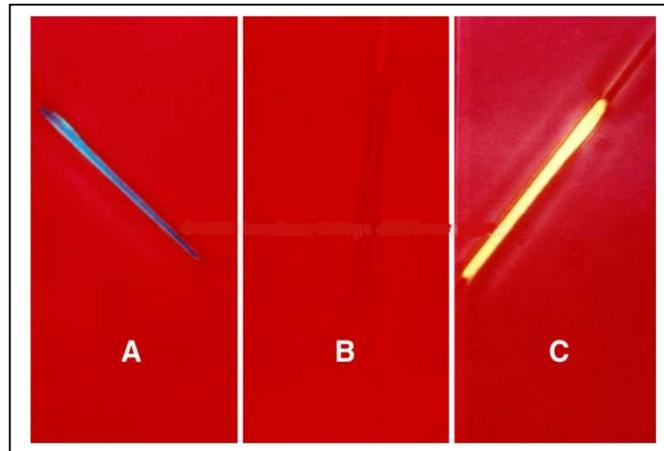


Figura 32. Esta imagen muestra el mismo cristal de urato monosódico bajo el efecto de luz polarizada compensada en 3 diferentes posiciones se muestra: A) Birefringencia negativa. B) punto de extinción del cristal y C) Color amarillo cuando es paralelo a la orientación de baja vibración del compensador.

Cristales de pirofosfato de calcio

Los cristales de pirofosfato de calcio son pleomórficos, típicamente forman bastones cortos, rectangulares o cuadrados pequeños. En el microscopio de luz polarizada se observan como cristales débilmente birrefringentes positivos con elongación positiva. Cuando su eje longitudinal es paralelo al del compensador, son de color azul pálido mientras que si su eje es perpendicular, su color es débilmente amarillo. Su tamaño va de 2 a 20 micras aproximadamente. Están presentes en articulaciones de pacientes con pseudogota, aunque también se localizan en artritis degenerativas y en artritis asociadas a hipomagnesemia, hemocromatosis, hiperparatiroidismo e hipotiroidismo. ^(12,60,63)

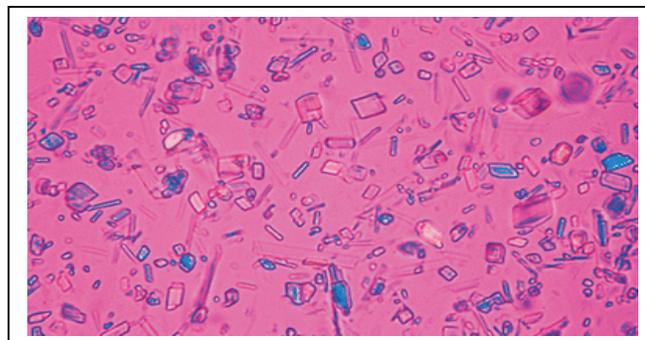


Figura 33. Cristales de pirofosfato de calcio con luz polarizada.

Cristales de hidroxapatita

Son cristales que se agrupan en acúmulos o microesférulas. Su tamaño oscila entre 0.1 y 1 micras. Son de localización intra y extracelular y no presentan birrefringencia al ser observados bajo luz polarizada. Al microscopio de luz visible cuando se tiñen con el colorante rojo de alizarina se observan acúmulos grandes o pequeños con forma de “moneda china” Se observan en artropatías degenerativas, osteoartritis y artritis reumatoide. ^(18,60)



Figura 34. Cristales de hidroxapatita teñidos con rojo de alizarina observados en microscopio de luz visible, 400x. ⁽⁶³⁾

Cristales de colesterol

Son cristales grandes, extracelulares, cuadrados con una muesca en una de las esquinas. Su tamaño va de 8 a 100 micras y pueden tener birrefringencia positiva o negativa. Se encuentran en los LS inflamatorios y en pacientes con artritis reumatoide, lupus eritematoso y espondiloartropatías seronegativas. ^(18,63)



Figura 35. Cristales de colesterol en líquido sinovial observados en microscopía electrónica.

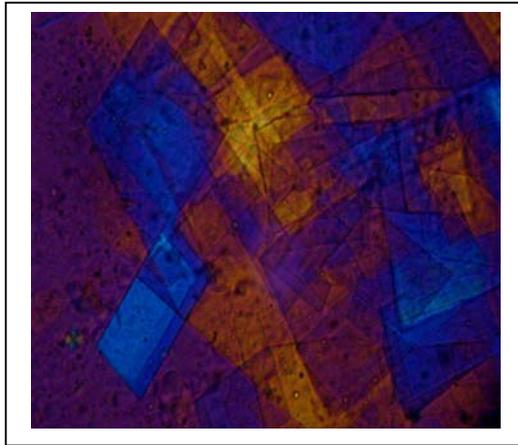


Figura 36. Cristales de colesterol en líquido sinovial observados con luz polarizada.
(61)

Cristales de oxalato de calcio

La forma dihidratada es fácil de identificar con microscopía de contraste de fases. Tienen un tamaño de 5 a 30 micras, son bipiramidales o de cuadrados irregulares cuando son abundantes forman cúmulos, la mayoría de estos cristales en el microscopio de luz polarizada muestran una fuerte birrefringencia con elongación positiva, pero alguno pueden no ser birrefringentes. Se ven en la artropatía asociada con diálisis renal crónica y en la oxalosis primaria. (63)

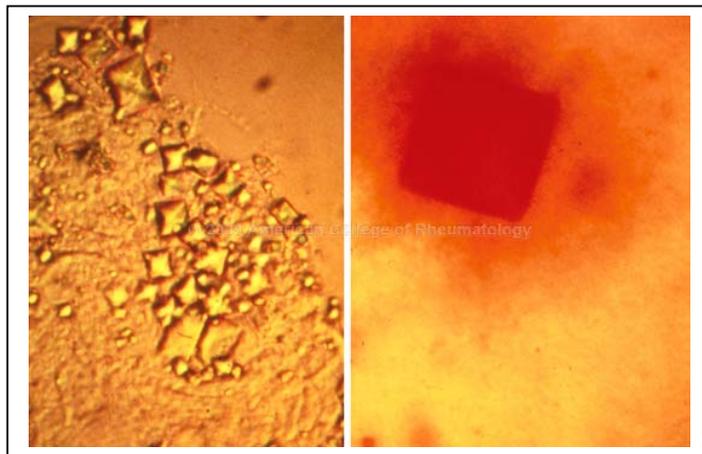


Figura 37. Cristales de oxalato de calcio. En el lado derecho se observa su forma bipiramidal y del lado izquierdo se nota en tinción con rojo de alizarina.

Cristales de lípidos

Están formados por múltiples capas de fosfolípidos, colesterol y agua. Tienen birrefringencia positiva. Pueden medir entre 2 y 8 micras de diámetro. Se localizan intracelular o extracelularmente. Por la forma en la que se observan con luz polarizada se les conoce también como “cruces de malta”. Se encuentran en pacientes con monoartritis aguda, poliartritis crónica y sinovitis vilonodular pigmentada. (61,63)

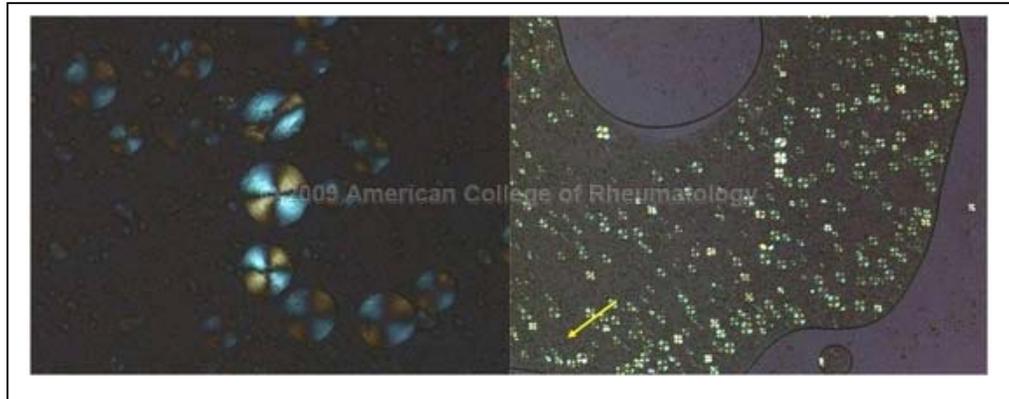


Figura 38. Cristales de lípidos en forma de “cruz de malta” observados en luz polarizada.

Cristales de esteroides

Los cristales corticosteroides son pleomórficos y fuertemente birrefringentes positivos o negativos dependiendo del esteroide, tienen bordes obtusos, en forma de sierra son semejantes en tamaño y forma a los cristales de urato monosódico y a los de pirofosfato de calcio por lo cual la experiencia del observador juega un papel muy importante en su identificación. Es posible verlos varias semanas o meses después de la inyección intraarticular del fármaco debido a la cristalización de éstos. (18,43,62,63)

Cristales de hematoïdina

Su coloración es naranja –café, es altamente birrefringente en forma romboidal o rectangular y miden de 8 a 10 micras. Se pueden detectar en pacientes con hemartrosis como producto de formación de la hemoglobina. (62,63)

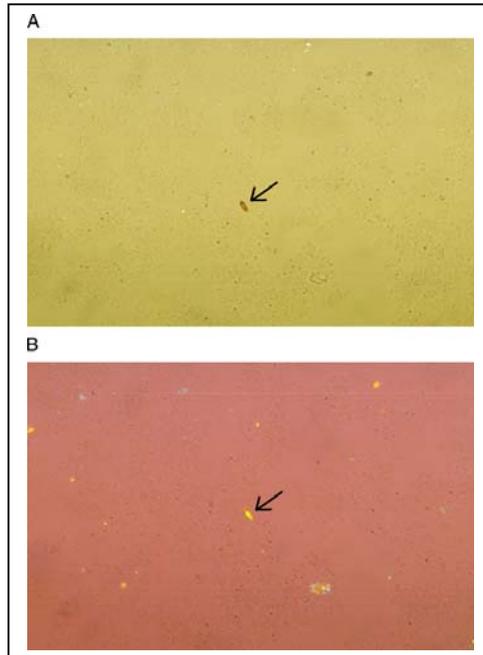


Figura 39. A) Cristales de hematoidina en las que se observa su forma rectangular 400x B) birrefringencia observada con luz polarizada 400x. ⁽⁶³⁾

3.6 EXAMEN QUÍMICO

Dado que el LS desde el punto de vista químico es un ultrafiltrado del plasma, los valores de las pruebas químicas son similares a los del suero, por consiguiente, sólo algunas pruebas químicas se consideran clínicamente importantes. Las pruebas que se solicitan con mayor frecuencia son: glucosa, proteínas totales y ácido úrico. La alta viscosidad del LS puede ser un factor limitante para el estudio bioquímico sin embargo se recomienda tratar la muestra con hialorunidasa para poder realizar la medición. ^(9,60)

GLUCOSA

La interpretación de los niveles de glucosa en LS requiere el conocimiento simultáneo del nivel en suero y se recomienda realizar la toma en ayuno de 8 horas; En esta situación ideal la diferencia entre la glucosa contenida en suero y el del LS es menor de 10 mg/dL. Un descenso en la concentración de glucosa indica la presencia de padecimientos inflamatorios o sépticos como artritis bacteriana y artritis reumatoide. La glucólisis por grandes cantidades de leucocitos in vitro, puede reducir falsamente los valores de la glucosa en el LS a menos que se realice dentro de la hora siguiente a su extracción o que se utilicen tubos que contengan fluoruro de

sodio como inhibidor. La elevación de glucosa no representa interés clínico ^(10,12,37,53)

PROTEÍNAS

Las proteínas alcanzan una concentración de 2.0 g/L de los cuales el 75% corresponde a albúmina. Mientras más intenso es el proceso inflamatorio, más elevada será la concentración proteica del LS debido al aumento en la permeabilidad de la membrana sinovial. En derrames inflamatorios aumentan la gamma globulinas (IgM en artritis reumatoide). La β -2 microglobulina también es indicador de inflamación articular. ^(32,49,53)

ÁCIDO ÚRICO

Su rango de referencia es de 6 a 8 mg/dL. El nivel de ácido úrico es importante en el diagnóstico de gota y aunque normalmente éste se hace a través de la presencia de cristales, la determinación de ácido úrico en LS es útil a los laboratorios que no cuentan con microscopio de luz polarizada. ⁽¹⁰⁾

LACTATO

Este análisis se considera un indicador no específico de la leucocitosis en el LS. Los niveles mayores de 15 a 20 mmol/L suelen asociarse con artritis séptica y podrían proporcionar una evidencia rápida y provisional de infección. ⁽¹²⁾

3.7 EXAMEN MICROBIOLÓGICO

El cultivo convencional del LS se realiza en medios sólidos: Agar sangre, agar chocolate y agar Mc Conkey y medios líquidos como el tioglicolato tras la centrifugación del LS. Además, suele inocularse el LS en medio para hemocultivo que mejora la recuperación del agente causal. Debido a su actividad bactericida del LS el cultivo resulta negativo en un 30% de los casos de artritis séptica por lo que una buena tinción de Gram es de gran importancia. La tinción es positiva en 75% de los pacientes con *S. aureus*, en 50% con bacilos gramnegativos y en menos del 20% de los casos con gonococo y es de gran ayuda para la instauración del tratamiento empírico adecuado. En el caso de artritis tuberculosas se debe hacer el estudio de micobacterias mediante la tinción de Zielh-Neelsen y el cultivo en medio de Lownstein-Jensen. Para aumentar la sensibilidad del cultivo es importante reunir una cantidad de LS adecuado (10 mL aproximadamente). ^(53,60,64)

3.8 VALORES DE REFERENCIA

Parámetro	Valor de referencia
Volumen	< 3.5 mL
Color	Incoloro a amarillo pálido
Claridad	Claro
Viscosidad	Capaz de formar un filamento de 3 a 6 cm de largo
Recuento de Leucocitos	< 200 células/ μ L
Neutrófilos	< 20% de la cuenta diferencial.
Cristales	Ausentes
Diferencia con la glucosa plasmática.	< 10 mg/dL menor que la glucemia plasmática.
Proteínas totales	< 2 g/dL
Ácido úrico	6 – 8 mg/dL
Lactato	>15 mmol/L

Tabla No. 9 Valores de referencia del líquido sinovial ⁽⁹⁾

3.9 PRUEBAS ADICIONALES

FACTOR REUMATOIDE (FR)

El factor reumatoide es un autoanticuerpo IgM dirigido contra un IgG que se encuentra en el LS casi en el 60% de los pacientes con artritis reumatoide en una cantidad semejante a la del suero. La presencia del FR positivo a título alto es decir mayor a 1:160 en técnicas de látex o superior a 50 U es uno de los siete criterios para la clasificación de la artritis reumatoide propuestos por el American College of Rheumatology. ^(12,65)

COMPLEMENTO

En condiciones fisiológicas la concentración de complemento es muy baja. El complemento es un reactante de fase aguda por lo que se encuentra aumentado en situaciones inflamatorias sistémicas. Se considera que la concentración de complemento en LS se encuentra disminuida si su valor es menor al 30% que el del suero. Ejemplos de ello son enfermedades como el lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y sinovitis viral. ⁽⁶⁰⁾

CITOCINAS

Se han demostrado cambios en las citocinas en el líquido sinovial de pacientes con artritis reumatoide, o inflamación articular especialmente de origen macrofágico como la proteína-1 quimiotáctica para monocitos, la elevación de IL-1, IL-8, IL-10, y factor de necrosis tumoral, por ejemplo, La IL-1 corresponde a la degradación de la matriz extracelular del cartílago en pacientes con osteoartritis encontrándose en niveles elevados en el líquido sinovial, así como la disminución del nivel de IL-6, receptor soluble de IL2 y receptor antagonista de IL-1. ⁽⁶⁶⁾

FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF)

El TNF se encuentra aumentado en el líquido sinovial de pacientes con artritis reumatoide induciendo la formación de otras interleucinas como la IL-6 e IL-8 desde los fibroblastos las cuales destruyen el cartílago e incrementando también los receptores de TNF- α debido a la infiltración de células inflamatorias T y macrófagos en el tejido sinovial. ^(67,68)

PROSTAGLANDINAS

Debido a la producción de IL-1 y de TNF- α los condrocitos son estimulados para formar prostaglandina PGE2 el cual se encuentra presente en el líquido sinovial de pacientes con osteoartritis. ⁽⁶⁹⁾

METALOPROTEASAS (MMP)

Intervienen en la degradación del cartílago y son inducidas por la producción de IL-1 y TNF- α . Existen varios subgrupos de estas enzimas que son clasificadas de acuerdo al sustrato en el que actúan: colagenasas (MMP -1, MMP-8, MMP-13), gelatinasas (MMP-2, MMP-9), estromelisinias (MMP3, MMP10, MMP14, MMP15) entre otras. Cuando se produce un desequilibrio en el cartílago se produce una deficiencia de inhibidores las metaloproteasas en el líquido sinovial permitiendo su aumento. ⁽⁶⁹⁾

4. LÍQUIDO PERITONEAL

4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

El líquido peritoneal es un líquido ubicado en la cavidad peritoneal, transparente, amarillo claro de color pajizo, estéril y viscoso producido como un ultrafiltrado del plasma que proporciona una función lubricante y protectora de la cavidad abdominal, permitiendo la reducción de la fricción entre los órganos y su movimiento durante el proceso de digestión. ^(49, 70)

El peritoneo es una membrana serosa, lisa, delicada, constituida de fibroblastos, matriz extracelular, vasos sanguíneos y células mesoteliales que revisten la cavidad abdominal; la membrana parietal es la parte que tapiza la cavidad abdominal, mientras que la visceral es la que recubre las vísceras sólidas y el intestino. Entre estas membranas se ubica una cavidad llamada peritoneal en donde circula el líquido que recibe este nombre. Su volumen es de aproximadamente 50ml. ^(70,71)

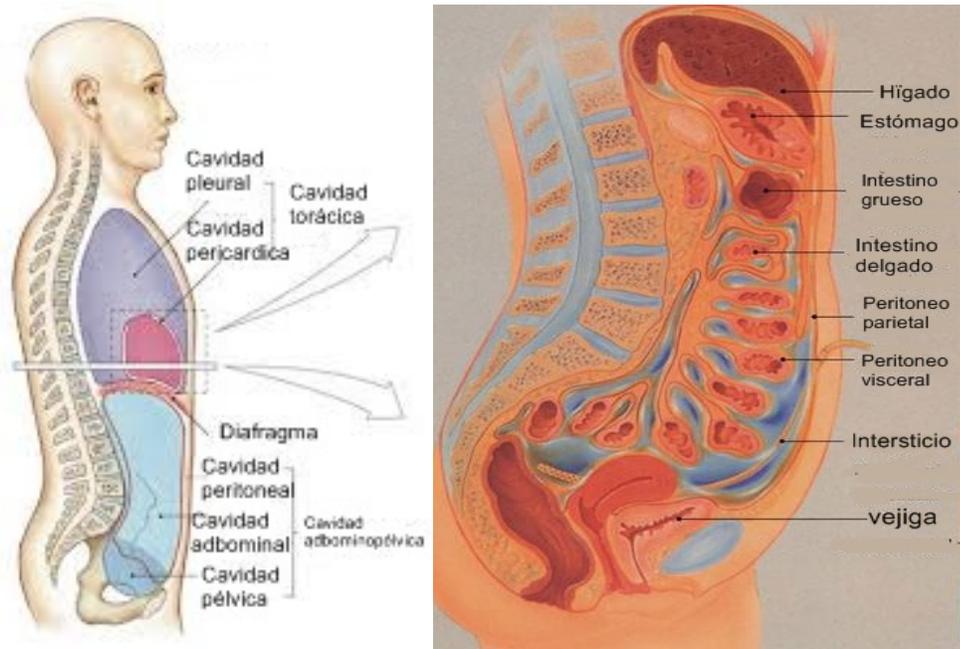


Figura 40. Localización anatómica de líquido peritoneal.

El mesotelio es una monocapa de células mononucleares de forma poligonal y con espículas hacia la cavidad peritoneal que recubre a la membrana peritoneal. Se encuentra sobre una membrana basal y ambos confieren limitada resistencia al paso de moléculas (menores a 30 000 daltons). El líquido peritoneal es producido por el

mesotelio, este ultrafiltrado asemeja su composición a la del plasma en cuanto a moléculas de pequeña masa molar pero contiene una mayor concentración de proteínas. Se absorbe por los vasos linfáticos los cuales en el peritoneo efectúan un papel primordial para drenar y absorber agua, proteínas e incluso células, impidiendo el edema del intersticio. ^(71,72)

La cantidad y calidad del líquido peritoneal durante condiciones patológicas puede modificarse, el acúmulo de líquido se define como ascitis y puede estar presente en pacientes con alteraciones hepáticas así como en padecimientos oncológicos, a este líquido también se le denomina líquido ascítico. ^(12, 72, 73, 74)

A continuación se enlistan los factores que contribuyen a la aparición de la ascitis:

1. Presión hidrostática incrementada
2. Disminución de la presión coloido-osmótica
3. Aumento en la permeabilidad de los capilares peritoneales
4. Escape del fluido a la cavidad peritoneal

La ascitis es ocasionada por retención de sodio y agua a nivel renal. Su causa más frecuente en México es la cirrosis hepática. Ésta y la hipertensión portal resultan en un incremento en la vasodilatación arterial periférica y esplácnica mediante el aumento en la actividad de vasodilatadores (óxido nítrico, prostaglandinas). Esto provoca dos efectos: una hipovolemia efectiva por los barrorreceptores arteriales los cuales activan el sistema renina-angiotensina y al sistema nervioso simpático que a través de sus mediadores químicos aumentan la resistencia arterial y renal y, por otro lado, el aumento del gasto cardíaco que provoca una circulación insuficiente para mantener la homeostasis circulatoria. ^(71,75)

El mecanismo de la formación de ascitis en pacientes con neoplasia depende de la localización del tumor, por ejemplo, en carcinomatosis peritoneal hay exudación de líquido proteico de las células tumorales que se ubican en el peritoneo. En los casos con metástasis hepáticas masivas hay hipertensión portal causada por estenosis u oclusión de vénulas portales por nódulos tumorales o émbolos. En pacientes con carcinoma hepatocelular, la ascitis se forma por hipertensión portal ocasionada por el hígado cirrótico en donde se localiza el tumor y/o por trombosis portal producida por el mismo. En casos de linfoma retroperitoneal la ascitis quilosa es dada por la invasión tumoral de ganglios linfáticos y ruptura de ellos. ^(71,75)

Los grados de ascitis se clasifican según la cantidad de líquido peritoneal:

Grado 1. Leve. Detectada sólo por ultrasonido abdominal.

Grado 2. Moderada. Existe distensión abdominal moderada.

Grado 3. Grave. Presencia de distensión abdominal importante o tensión. ⁽⁷⁵⁾

La principal función del líquido peritoneal es proteger la cavidad abdominal cubriendo y lubricando los órganos para reducir la fricción entre ellos y permitir su movimiento durante el proceso de la digestión. ⁽⁷⁰⁾

4.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

El líquido peritoneal es obtenido mediante un procedimiento denominado paracentesis. Dependiendo de la cantidad de líquido presente el paciente debe posicionarse en decúbito dorsal o lateral para la extracción. El lugar indicado para la punción se encuentra 2 cm debajo del ombligo en la línea media distal, con el fin de evitar perforación de las redes vascularizadas. Es necesario realizar una asepsia de la zona con solución yodada y administrar un agente anestésico local. Se debe utilizar aguja calibre 22 con una jeringa de 20 a 50 mL. ^(30,41,70,76)

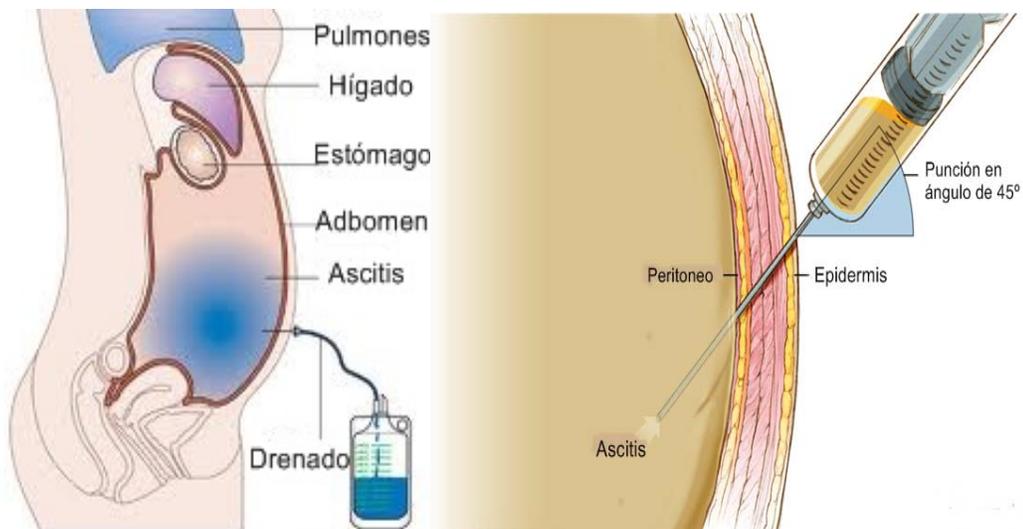


Figura 41. Paracentesis

Es imprescindible recolectar un mínimo de 30 mL para la evaluación completa del líquido ascítico. La muestra debe ser separada en 3 tubos:

Tubo 1 Debe contener EDTA o heparina como anticoagulante para el conteo celular y diferencial.

Tubo 2 No debe tener anticoagulante para las pruebas bioquímicas.

Tubo 3 Tubo estéril que se destina al análisis microbiológico. ^(12,70)

También debe inocularse un volumen de 10 mL aproximadamente de líquido peritoneal en frascos para hemocultivo. ^(75,77)

Las muestras deben ser enviadas al laboratorio tan pronto como sea posible. Si se requiere conservarlas se pueden refrigerar a 4°C hasta 48 horas. ⁽¹⁸⁾

4.3 CLASIFICACIÓN DEL LÍQUIDO PERITONEAL

El líquido ascítico puede corresponder a un exudado o trasudado. El trasudado generalmente se debe a una acumulación excesiva de líquido sin inflamación ya que predomina una reducción de la presión osmótica coloidal debida a la hipoproteinemia, aumento de permeabilidad capilar y presión venosa, retención de agua, disminuyéndose con ello la presión linfática y de los tejidos, con obstrucción de los linfáticos originándose el trasudado que se localiza en los intersticios tubulares. En tanto que el exudado es producido por mecanismos infecciosos. El exudado es rico en proteínas y restos celulares, es filtrado fuera de los vasos sanguíneos y depositado en los tejidos como resultado de procesos inflamatorios. Esta diferenciación entre líquido peritoneal trasudado y exudado resulta más difícil que para otro tipo de líquidos corporales. ^(9,37,76)

4.4 EXAMEN FÍSICO

COLOR Y ASPECTO

El líquido peritoneal normal es transparente de color amarillo claro. El líquido ascítico con muy bajo contenido de proteínas puede no tener pigmentos y tener un

aspecto acuoso. La presencia de una coloración o aspecto diferente indica el curso de procesos patológicos. ^(6,76)

Hemorrágico: Se presenta debido a punción traumática, carcinoma hepatocelular o carcinomatosis peritoneal. Una cantidad mínima de 10,000 eritrocitos / μL debe contener el líquido peritoneal para conferirle un tinte rojizo, sin embargo, cuando la paracentesis no es traumática se plantea una neoplasia maligna. ^(29,70,72)

Turbio: Se considera así cuando hay presencia de leucocitos debido a pancreatitis o peritonitis bacteriana.

Purulento: Una cantidad de leucocitos superior a 50×10^9 /L confiere al líquido peritoneal un aspecto purulento. ^(29,72)

Lechoso: Se observa cuando el líquido peritoneal no se aclara mediante centrifugación. Sucede en los derrames quilosos o pseudoquilosos, por el contenido de triglicéridos. Ocurre por lesión o bloqueo del conducto torácico causado por linfoma, carcinoma, tuberculosis, adherencias o cirrosis hepática. ^(12,53,37,72)

Verdoso: Indica la presencia de bilis en la cavidad abdominal debida a perforación intestinal o de la vía biliar, pancreatitis o colecistitis y puede confirmarse mediante las pruebas químicas habituales para bilirrubina. ^(9, 29,70,72)

Negro o color del té: Se debe al efecto de las enzimas pancreáticas sobre los glóbulos rojos asociada a ascitis pancreática. ^(29,76,78)



Figura 42. Color y aspecto normal del líquido peritoneal.

4.5 EXAMEN MICROSCÓPICO

En el examen microscópico se realiza el conteo celular y diferencial.

El recuento de leucocitos en el líquido peritoneal es menor de 250 células/ μL , con proporción de polimorfonucleares menor del 25 %. Si éste es mayor, se considera que existe infección por lo que debe hacerse la diferenciación celular, aunque tomando en cuenta que una elevación de leucocitos puede darse en cualquier proceso inflamatorio. El recuento leucocitario total es útil para diferenciar la ascitis por cirrosis no complicada de la peritonitis bacteriana espontánea (PBE) la cual es originada por migración de bacterias al líquido ascítico, donde los neutrófilos representan más del 50% en el conteo. Más de 70% de linfocitos se distinguen en la peritonitis tuberculosa y la carcinomatosis peritoneal, así como en la ascitis quilosa. Los eosinófilos cuya proporción sea mayor al 10% se asocian con procesos inflamatorios crónicos relacionados con diálisis peritoneal crónica, insuficiencia cardíaca congestiva, vasculitis y linfoma. ^(9,12,49,72,78)

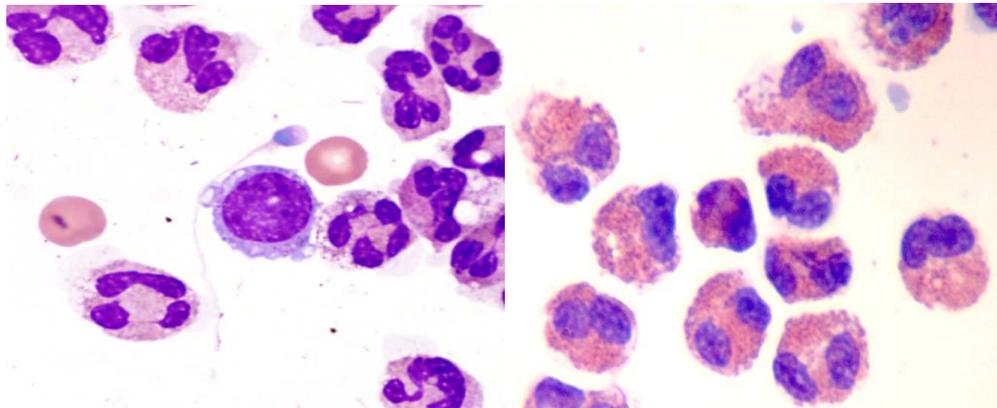


Figura 43. Neutrófilos y eosinófilos en líquido peritoneal.

El conteo de eritrocitos cuando es mayor de 50000/ μL denota ascitis hemorrágica, generalmente debida a malignidad, tuberculosis o secundaria a un trauma como en la insuficiencia cardíaca congestiva. Aunque la mayor parte de las ascitis hemorrágicas provienen de una punción traumática, la pérdida de sangre hacia la cavidad peritoneal aumenta el conteo de los leucocitos siendo los neutrófilos más predominantes; por esta razón, el conteo diferencial del líquido peritoneal puede estar alterado y para corregir esto, se resta 1 polimorfonuclear del recuento absoluto de polimorfonucleares por cada 250 glóbulos rojos y 1 linfocito por cada 750 glóbulos rojos. ^(49,76,78,79)

En el líquido peritoneal también pueden aparecer células epiteliales maduras, que bien diferenciadas tienden a tener núcleos pequeños y una baja relación núcleo/citoplasma, poseen uno o varios núcleos, por ejemplo, algunas células mesoteliales son binucleadas. Sin embargo, debido a que éstas pueden recibir una amplia variedad de estímulos, suelen confundirse con células malignas y esas alteraciones se acentúan después de la radioterapia o quimioterapia asociadas a cirugías o tratamiento de neoplasias tales como adenocarcinoma, mesotelioma o carcinoma. Ejemplos de estos tipos de células se ilustran en las figuras 28,29 y 30.
(72)

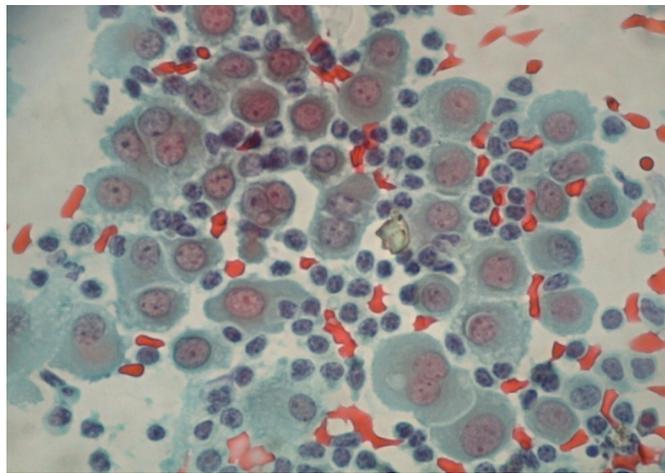


Figura 44. Células mesoteliales benignas. Se observan algunas células binucleadas.

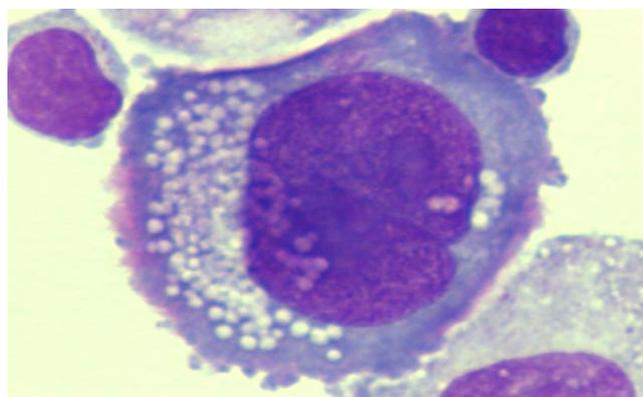


Figura 45. Célula maligna de origen digestivo en líquido peritoneal.

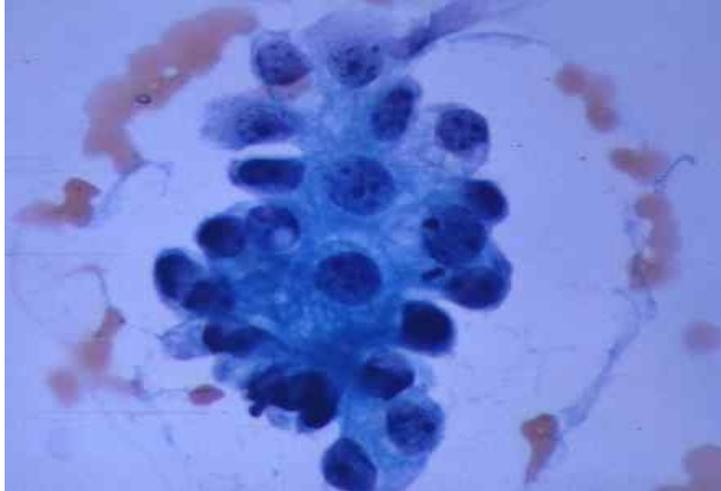


Figura 46. Mesotelioma en líquido peritoneal.

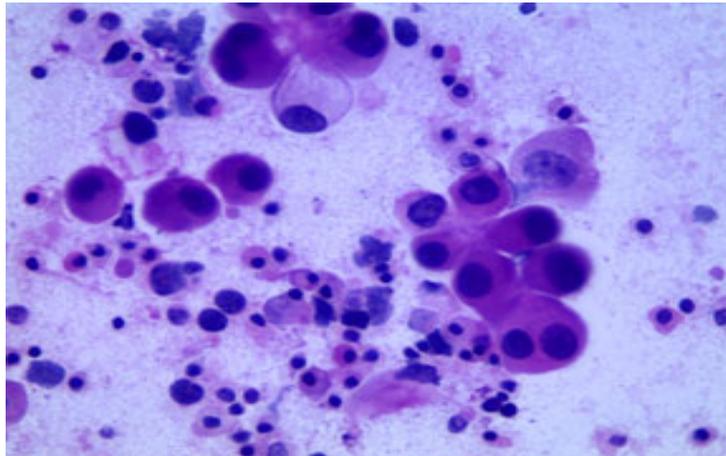


Figura 47. Adenocarcinoma metastásico en líquido peritoneal.

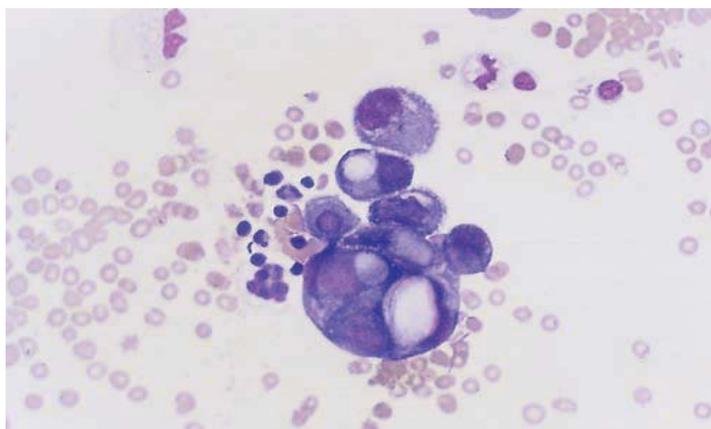


Figura 48. Células de carcinoma de colon ⁽⁹⁾

4.6 EXAMEN QUÍMICO

El examen químico del líquido peritoneal comprende las determinaciones de proteínas, glucosa, amilasa y LDH como las más importantes. ^(9,37)

PROTEÍNAS

Su cuantificación es útil para clasificar al líquido peritoneal como exudado (concentración menor a 2.5g/dL) o trasudado (concentración mayor a 2.5 g/dL). ^(49,80)

GRADIENTE DE ALBÚMINA SUERO/ASCITIS (GASA)

Se ha demostrado que el GASA proporciona una mejor clasificación diagnóstica de la ascitis que la concentración de proteínas porque refleja directamente el gradiente de presión coloido-osmótica e indirectamente el grado de hipertensión portal. Se obtiene sustrayendo la concentración de albúmina en líquido ascítico a la concentración en suero de especímenes extraídos simultáneamente. Se emplea para diferenciar el líquido ascítico en 2 categorías:

- a) Gradiente ≥ 1.1 g/dL sugiere la presencia de hipertensión portal.
- b) Gradiente ≤ 1.1 g/dL no indica hipertensión portal. ^(37,72,80,81,82)

Las causas de ascitis con gradiente alto comprenden enfermedades como la cirrosis, hepatitis alcohólica, ascitis cardiaca, metástasis hepáticas masivas, síndrome de Budd-Chiari, trombosis de la vena porta, enfermedad venooclusiva, mixedema. Por otro lado, un gradiente menor de 1.1 puede ser consecuencia de carcinomatosis peritoneal, tuberculosis, enfermedad pancreática o biliar, síndrome nefrótico.

GLUCOSA

La molécula de glucosa es suficientemente pequeña para difundir con facilidad hacia las cavidades corporales. Por lo tanto, en el líquido ascítico de la cirrosis no complicada la concentración de glucosa es similar a la del suero. Su concentración es inversamente proporcional a la cantidad de polimorfonucleares por lo que su disminución es moderada en la peritonitis bacteriana espontánea y de forma más intensa en la perforación intestinal donde se encuentra menor a 50 mg/dL (2.8 mmol/L) así como en los procesos malignos. ^(9,72,76)

COLESTEROL

Debido a que el GASA no distingue por ejemplo, entre ascitis maligna y ascitis tuberculosa se ha aplicado como alternativa la medición de la concentración de colesterol en el líquido ascítico. Si dentro de la cavidad peritoneal existe un movimiento aumentado de las lipoproteínas plasmáticas, entonces se producen concentraciones de colesterol altas. Asimismo, se ha investigado que una menor fracción de colesterol en ascitis maligna puede ser producto de las membranas celulares y esto contribuye a elevar su concentración en procesos malignos. ^(81,82)

AMILASA

La actividad de la amilasa en el líquido peritoneal normal es equivalente a la del suero. Cuando el cociente de amilasa líquido peritoneal /suero es mayor de 2.0, confirma los casos de pancreatitis y de igual manera se encuentra elevada en pacientes con perforaciones gastrointestinales. ^(9,12,53)

LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)

La LDH ingresa al líquido peritoneal mediante difusión desde la sangre y por desintegración de leucocitos en el líquido ascítico. Si su determinación es mayor de 225 U/L o cuando el cociente de LDH líquido peritoneal /suero resulta mayor de 0.4 sugiere una PBE. La LDH en derrames purulentos no sanguinolentos, la cirrosis e insuficiencia cardíaca es generalmente baja y elevada en los procesos neoplásicos. ^(12,53,76,83,84)

BILIRRUBINA

En el líquido peritoneal de coloración marrón oscura se recomienda evaluar la concentración de bilirrubina. Un valor superior a 6 mg/dL o una relación bilirrubina líquido peritoneal /suero mayor a 1.0 indica perforación biliar o del intestino superior. ^(12, 76,78)

pH.

La medida del pH es útil para el diagnóstico de varias enfermedades; se considera la existencia de una PBE ante un valor menor a 7.3 o una diferencia entre el suero - líquido peritoneal de más de 0.1. El pH ácido también se observa en infecciones, absceso intraperitoneal y peritonitis tuberculosa. ^(12,73)

4.7 EXAMEN MICROBIOLÓGICO

El líquido peritoneal normal posee actividad bactericida eficaz frente a las bacterias gramnegativas; siendo por esta razón muy pequeña la cantidad de microorganismos en las muestras. Cuando se obtiene líquido de ascitis, inicialmente es indispensable centrifugar 50 mL de él a 2500 rpm durante 15 minutos y con el sedimento se procede a realizar tanto el frotis para tinción de Gram y tinción de Zielh –Neelsen como el cultivo para bacterias aerobias y anaerobias. La tinción de Gram es poco sensible para detectar la infección bacteriana pues se requieren 10000 microorganismos /mL para obtener una tinción positiva, por lo que existe la posibilidad de falsos negativos. Sin embargo, en la peritonitis secundaria, la entrada masiva de microorganismos facilita que éstos se encuentren en el líquido peritoneal en cantidades elevadas permitiendo observar incluso distintas estirpes de microorganismos. Este hecho es de importancia porque en los pacientes en los que la clínica no permita diferenciar con claridad entre una peritonitis primaria y una secundaria, la tinción de Gram aporta una prueba rápida de gran valor para el diagnóstico diferencial. ^(22,76,78,83)

Ante la sospecha de peritonitis tuberculosa suele realizarse la tinción de Zielh-Neelsen pero debido a su baja sensibilidad se recomienda utilizar otros métodos de diagnóstico como la biopsia peritoneal. ⁽⁸³⁾

Los métodos de cultivo convencionales detectan el 40% - 50% de los casos mientras que la inoculación del líquido en frascos de hemocultivo permite detectar el 90% de los casos de PBE. El crecimiento de bacterias causantes de esta patología requiere un mínimo de 17 a 24 horas de incubación y su identificación y antibiograma otro día más. ^(12,72)

Cuando el cultivo es positivo, los patógenos encontrados más comúnmente son bacterias gramnegativas especialmente *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* las cuales causan más de la mitad de las infecciones y cocos grampositivos en su mayoría estreptococos (*S.pneumoniae*) y *Enterococcus sp.* ^(77,83)

4.8 VALORES DE REFERENCIA

Parámetro	Valor de referencia
Color	Amarillo claro
Aspecto	Transparente
Volumen	50 mL
Recuento de leucocitos	< 250 células/ μ L
Neutrófilos	< 25% de la cuenta diferencial.
pH	7.7
Proteínas totales	<2.0 g/dL
Glucosa	Equivalente al valor en suero
Amilasa	Equivalente al valor en suero
LDH	< 225 U/L
GASA	< 1.1
Colesterol	< 70 mg/dL

Tabla No. 10 Valores de referencia del líquido peritoneal. (9,12,53,72,73,81,83)

4.9 PRUEBAS ADICIONALES

ADENOSÍN DESAMINASA (ADA)

Su determinación es útil para el diagnóstico de peritonitis tuberculosa, en la que aumenta por encima de 43 UI. (49)

LACTOFERRINA

La lactoferrina es una proteína de unión al hierro que se halla en los polimorfonucleares y es proporcional a la cantidad de neutrófilos. Se utiliza para distinguir las muestras con PBE donde se encuentra presente en concentraciones superiores a 242 ng/mL. ⁽⁸⁵⁾

CA 125

El CA-125 del líquido peritoneal se incrementa en varias situaciones no malignas pero los niveles extremadamente altos son consecuencia de carcinomas epiteliales del ovario, trompas de Falopio o endometrio. ⁽¹²⁾

5. LÍQUIDO PLEURAL

5.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Es una pequeña cantidad de líquido (20 mL aproximadamente) localizado entre los pulmones y la pleura que es una membrana serosa que los envuelve y entre la cavidad torácica. Es un ultrafiltrado del plasma derivado de los capilares de la pleura parietal que se produce continuamente a una velocidad dependiente de la presión hidrostática, presión oncótica del plasma y permeabilidad capilar cuya función principal es la lubricación para minimizar la fricción durante la respiración. ^(23, 28,92)

Los pulmones están cubiertos por la pleura: la visceral protege al pulmón, y la parietal a la pared torácica, el diafragma y el pericardio. Entre ambas hojas, queda un espacio virtual (cavidad pleural) que contiene una fina capa de líquido seroso que las lubrica es decir, el líquido pleural. ⁽⁹⁾

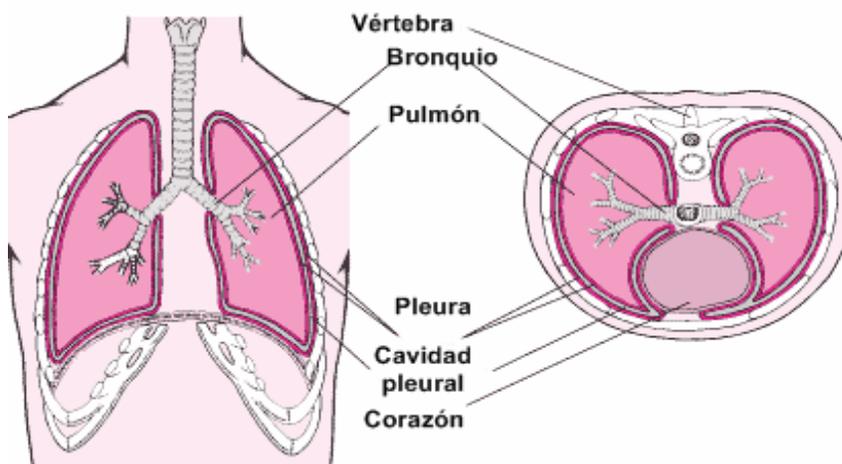


Figura 49. Localización anatómica del líquido pleural.

El líquido presente en la cavidad pleural se produce por ultrafiltración, principalmente de los capilares sistémicos de la pleura parietal, por el espacio intersticial pulmonar y los vasos sanguíneos intratorácicos. La formación de líquido pleural depende del balance entre las presiones que mueven el líquido desde los capilares parietales hacia el espacio pleural (presión intracapilar, presión negativa intratorácica, presión oncótica del líquido pleural) y que tienden a impedir su salida (presión oncótica intracapilar). La reabsorción de líquido y proteínas tiene lugar a través de los estomas linfáticos de la pleura parietal. Por el grosor de la pleura visceral, en condiciones normales el intercambio de líquido entre su microvasculatura y el

espacio pleural es escaso o nulo, de manera que el líquido ultrafiltrado se acumula en el intersticio pulmonar desde donde es drenado por los linfáticos del pulmón. ^(86,87)

El movimiento del líquido pleural se rige por la ecuación de Starling que describe el desplazamiento de agua entre compartimentos vasculares y extravasculares. Los factores determinantes son la permeabilidad del endotelio capilar (K) y las diferencias de presión hidrostática (P) y presión oncótica (C) entre el capilar linfático (c) y en el intersticio pericapilar (i). La constante σ es un coeficiente de reflexión de solutos, en este caso proteínas, que se relaciona con su posibilidad de paso a través del endotelio.

$$\text{Mov. líquido} = K((P_c - P_i) - \sigma(C_c - C_i))$$

En condiciones fisiológicas el líquido ultrafiltrado al nivel de los capilares de la pleura visceral se drena por entero hacia los linfáticos del intersticio pulmonar, ya que por el grosor de esta hoja, el líquido difunde escasamente al espacio pleural. (Figura No. 50) ⁽⁸⁶⁾

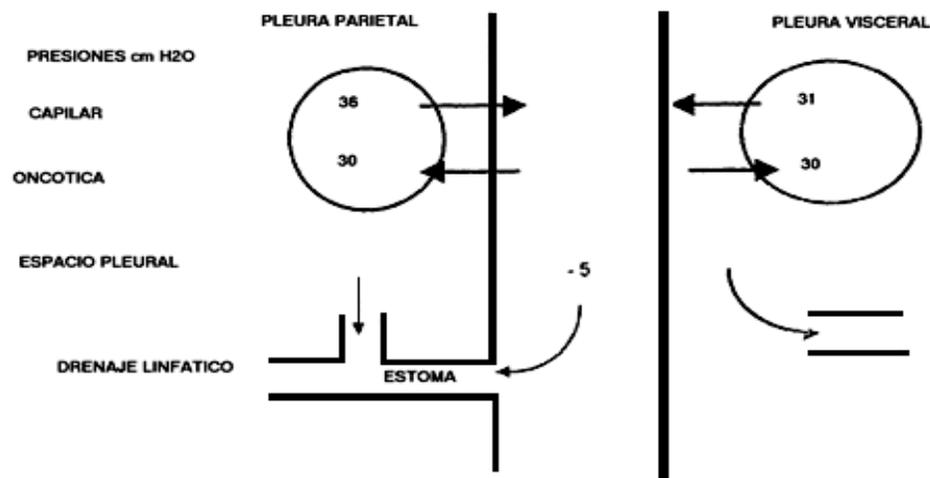


Figura 50. Producción y circulación del líquido pleural. Las presiones utilizadas en el esquema son las correspondientes a las bases pulmonares. ⁽⁸⁶⁾

La función principal del líquido pleural es proporcionar la lubricación entre la membrana parietal y visceral la cual es necesaria para evitar la fricción entre ambas membranas que sucede como resultado del movimiento de expansión y contracción de los pulmones durante la respiración. ⁽⁹⁾

5.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

La toracocentesis es una técnica ejecutada por el médico que consiste en puncionar la pared torácica hasta llegar a la cavidad pleural y extraer una muestra de líquido pleural en condiciones asépticas. ⁽²⁹⁾

Es recomendable indicar al paciente no toser, que no respire profundamente ni se mueva durante la aspiración para evitar el riesgo de lesionar órganos. ⁽³⁶⁾

La toracocentesis se realiza de la siguiente forma:

1. Comprobar la localización del material pleural mediante la exploración clínica y radiológica.
2. Posicionamiento del paciente: semincorporado a 30 – 35° de la horizontal, sentados con los brazos apoyados sobre una mesa y con la cabeza reposando en los brazos. (Figura No. 35)



Figura 51. Posicionamiento correcto del paciente para la toracocentesis.

3. Desinfectar el área de la punción con solución antiséptica.
4. Puncionar con un catéter sobre aguja de 14-18G a la altura del séptimo espacio intercostal. Mientras se punciona se aspirará suavemente para confirmar la llegada al espacio pleural.
5. Colocar una llave de 3 pasos para facilitar el drenaje de líquido y aspirar la muestra continuamente. ⁽⁸⁸⁾

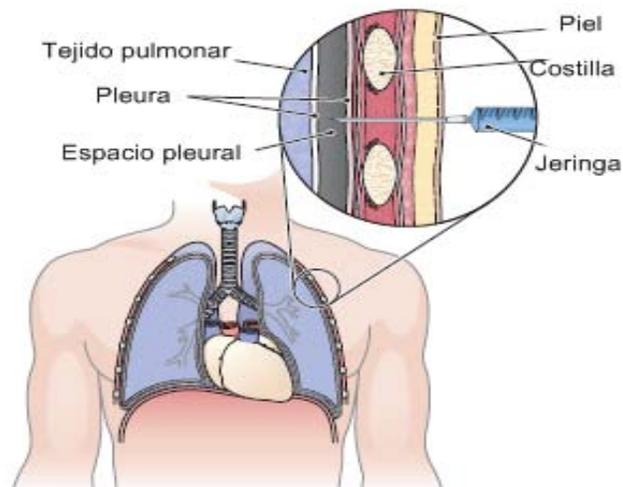


Figura 52. Toma de muestra de líquido pleural mediante toracocentesis.

Se necesitan de 20 a 40 mL de líquido pleural para realizar un análisis completo. Se debe recolectar en tubos estériles que contengan anticoagulante como EDTA o heparina de sodio. ⁽⁸⁹⁾

La muestra obtenida se divide de la siguiente manera:

Tubo 1. De 3 a 5 mL en tubo con EDTA o heparina para examen citológico

Tubo 2. De 3 a 5 mL en tubo con heparina o sin anticoagulante para las determinaciones químicas

Tubo 3. De 5 a 10 mL en tubo con EDTA o heparina para realizar el examen microbiológico y cultivos. ^(12,36, 90)

Para la determinación de pH es recomendable recolectar el líquido de forma anaerobia en una jeringa heparinizada y enviarla inmediatamente al laboratorio en hielo. ^(12,89)

Cuando se sospecha que el paciente tiene una infección, es recomendable inocular de 2 a 5 mL de líquido pleural en botellas para hemocultivo aerobio y anaerobio. ⁽⁶³⁾

Las muestras deben ser transportadas al laboratorio inmediatamente a temperatura ambiente. El tiempo máximo en el que deben procesarse las muestras es de dos horas. No obstante, puede conservarse en refrigeración a 4°C hasta 48 hrs sin que haya un efecto significativo en el conteo de leucocitos y diferencial. ^(12,89)

5.3 TIPOS DE DERRAMES PLEURALES

El acúmulo de líquido pleural se denomina derrame que resulta del desequilibrio de la producción y reabsorción del líquido ocasionado por los siguientes mecanismos:

- a) Aumento de la presión hidrostática
- b) Descenso de la presión oncótica en la microcirculación
- c) Aumento de la permeabilidad en la microcirculación pleural
- d) Bloqueo del drenaje linfático
- e) Paso del líquido desde el peritoneo
- f) Aumento de la presión negativa del espacio pleural
- g) Ruptura vascular
- h) Ruptura del conducto torácico ^(12, 87)

El paso inicial en el diagnóstico etiológico de cualquier derrame pleural es la diferenciación entre exudados y trasudados. Esta distinción es importante porque si el fluido es exudativo, puede tener numerosas etiologías y por ello deben realizarse estudios posteriores como la citopatología, la biopsia pleural y otros procedimientos invasivos para establecer un diagnóstico e iniciar un tratamiento específico inmediato. ^(81,91)

Trasudado. Es el líquido producido por factores mecánicos que influyen en la formación o reabsorción del líquido. Se caracteriza por tener una concentración baja de proteínas y por carecer de indicadores de inflamación. Su presencia indica que la enfermedad causante de la alteración hidrostática no reside en la pleura. ^(28,60,)

Exudado. Es el líquido secundario a una patología en la superficie pleural resultante de una mayor permeabilidad capilar, con salida de proteínas sanguíneas, que alcanzan en el líquido pleural concentraciones superiores a la mitad de la del plasma. También presenta una concentración de LDH por encima de 2/3 del valor de referencia del suero lo que se debe tanto al aumento de permeabilidad capilar como a la liberación local de esta enzima por células inflamatorias o neoplásicas o por obstrucción linfática. ^(86,87,92)

Trasudados	Exudados
<ul style="list-style-type: none"> -Falla cardiaca congestiva -Cirrosis hepática -Hipoalbuminemia -Atelectasia -Diálisis peritoneal 	<ul style="list-style-type: none"> -Malignidad primaria o secundaria/ mesotelioma -Derrame paraneumónico y empiema -Embolia pulmonar -Tuberculosis

Tabla No.11 Principales causas de derrames pleurales. ⁽⁹²⁾

Los criterios de diferenciación entre Exudado y Trasudado son los siguientes:

- CRITERIOS DE LIGHT.
- GRADIENTE DE ALBUMINA.
- CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL.

Criterios de Light

Richard W. Light estableció en 1972 el que hasta ahora ha sido el mejor método de diferenciación entre exudados y trasudados.

Los EXUDADOS deberán cumplir con al menos uno de los siguientes criterios:

- Proteínas líquido pleural / Proteínas suero > 0,5
- LDH líquido pleural / LDH suero > 0,6
- LDH en líquido pleural es más de 2/3 del valor de referencia del suero. ^(81,91,93)

Otros criterios para identificar un exudado son:

Proteínas en líquido pleural > 0.3 mg/dL

Albúmina sérica – albúmina líquido pleural < 1.2 g/dL

Colesterol en líquido pleural > 60 mg/dL

Colesterol líquido pleural / colesterol en suero > 0.3 ⁽⁹³⁾

Un derrame quiloso es aquel con apariencia lechosa que contiene una emulsión de linfa y quilomicrones por daño u obstrucción de los vasos linfáticos. Algunos derrames crónicos presentes en enfermedades como tuberculosis y artritis reumatoide pueden parecerse a los derrames quilosos por la alta cantidad de restos celulares y colesterol presentes, a estos derrames se les llama pseudoquilosos y

pueden ser diferenciados de los quilosos utilizando varias pruebas de laboratorio como el pH y determinación de lípidos. ⁽⁵⁾

5.4 EXAMEN FÍSICO

COLOR Y ASPECTO

El aspecto normal del líquido pleural es transparente y amarillo pálido sin coágulos pero pueden aparecer otros tonos que indican la presencia de varias patologías: ^(53,62)

Los derrames amarillentos corresponden a trasudados de congestión pasiva o a exudados serofibrinosos.

Los derrames hemorrágicos son de color rosado y tienen origen neoplásico, vírico, vascular o tuberculoso y se debe establecer la distinción entre un líquido de origen traumático del hemorrágico. Para diferenciar entre un hemotórax de un exudado hemorrágico, puede realizarse el hematocrito en el líquido pleural. Si el hematocrito es mayor del 50% del hematocrito en sangre se debe a que la sangre proviene de una lesión. El derrame de la enfermedad de la membrana crónica contiene sangre y aumento del líquido pleural, que da como resultado un hematocrito mucho más bajo.

Los derrames verdosos o amarillos-verdosos se observan en las ictericias.

Los derrames turbios se relacionan con supuraciones purulentas (pleuritis) o con la presencia de leucocitos e indica infección bacteriana, tuberculosis o un trastorno inmunitario, como la artritis reumatoide.

Los derrames blanquecinos o lechosos son quilosos o pseudoquilosos, consecuencia de la obstrucción linfática o por enfermedades inflamatorias crónicas, traumas, neoplasias, tuberculosis, filariasis y anormalidades congénitas. En los derrames quilosos se puede formar una capa superficial cremosa de quilomicrones con la muestra en reposo. Los derrames pseudoquilosos pueden tener una apariencia lechosa, verdosa o en "pintura dorada". (Figura No. 53) ^(9, 12, 49,53, 94)

En las muestras turbias o lechosas si el sobrenadante es claro, la turbidez puede deberse a elementos celulares o desechos; si la turbidez persiste es más probable un derrame quiloso o pseudoquiloso.



Figura 53. Aspecto lechoso en derrame quiloso y en pintura dorada de un derrame pseudoquiloso.

El derrame color café-rojizo indica la presencia de un absceso hepático amebiano. (9,94)

Las muestras de color negro sugieren una infección por *Aspergillus*. (9,94)

5.5 EXAMEN MICROSCÓPICO

El recuento celular diferencial es la prueba hematológica más importante desde el punto de vista diagnóstico realizada en los líquidos serosos porque es de utilidad para determinar la etiología del derrame. Un recuento de leucocitos menor de 1000/ μ L indica un trasudado y mayor a 1000 / μ L es característica de un exudado. Se hace un extendido con el sedimento y se tiñe con colorante de Wright. Las principales células asociadas con el líquido pleural son los neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, células mesoteliales, plasmocitos y las células plasmáticas. (9,18,36)

NEUTRÓFILOS

Los neutrófilos predominan en el líquido pleural de los pacientes con inflamación de la pleura, y son indicativos de infección bacteriana como neumonía. Los exudados suelen tener más de 1000 leucocitos/mL con 50% o más de polimorfonucleares en los procesos agudos. (9,12,49)

LINFOCITOS

Los linfocitos suelen ser abundantes en trasudados y exudados; pueden ser pequeños, grandes o reactivos así como presentar nucléolos más prominentes y

núcleos escindidos. Conteos elevados de linfocitos se observan en los derrames producidos por tuberculosis, infecciones virales, procesos malignos y trastornos autoinmunitarios como lupus eritematoso sistémico. También pueden encontrarse en sarcoidosis, pleuritis reumatoide y quilotórax. ^(9, 92)

EOSINÓFILOS

La presencia de más de 10% de eosinófilos en líquido pleural ocurre en las condiciones asociadas con la presencia de sangre o aire en el espacio pleural como en el neumotórax, embolia pulmonar, y tumores. ^(18,94)

CÉLULAS MESOTELIALES

Las células mesoteliales son pleomorfas; a menudo aparecen como células redondas aisladas, pequeñas o grandes, con citoplasma azul abundante y núcleos redondos con citoplasma uniforme color violeta oscuro y pueden denominarse “células mesoteliales normales”. Por el contrario, las “células mesoteliales reactivas” aparecen en grupos, tienen cantidades variables de citoplasma, núcleos excéntricos y nucléolos prominentes, además de ser multinucleadas. Las membranas que revisten las cavidades serosas contienen una capa única de células mesoteliales por lo que su aumento no es un hallazgo importante desde el punto de vista diagnóstico aunque pueden incrementarse en neumonía y procesos malignos. Son de difícil identificación y pueden confundirse con células tumorales como las de adenocarcinoma. En estos casos es recomendable realizar una biopsia pleural la cual ayuda en la diferenciación entre casos falsos positivos. ^(9,95)

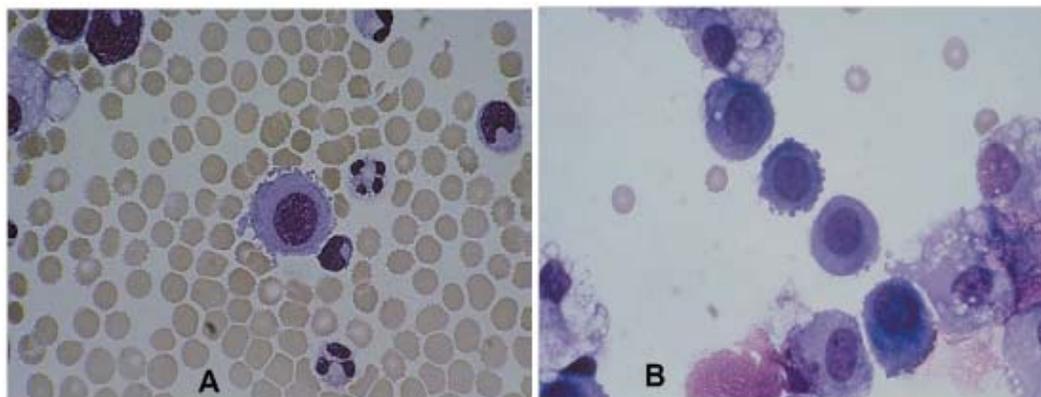


Figura 54. Células mesoteliales A) Normales. B) reactivas. ⁽⁹⁾

CÉLULAS NEOPLÁSICAS

Las características distintivas de las células malignas pueden incluir irregularidades nucleares y citoplasmáticas, nucléolos hipercrómicos, relación núcleo-citoplasma anormal. Pueden usarse técnicas especiales de tinción inmunocitoquímicas como la tinción de Papanicolau y citometría de flujo para la identificación positiva de células tumorales. ⁽⁹⁾

La mayoría de los derrames pleurales malignos son producidos por metástasis pleurales sobretodo de tumores pulmonares y de mama, también el mesotelioma producido por exposición al asbesto. ⁽⁹¹⁾

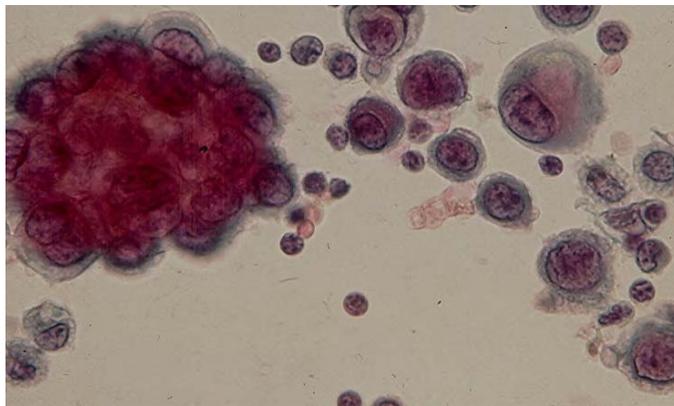


Figura 55. Células de mesotelioma. Tinción de Papanicolau 500x. ⁽⁴⁶⁾

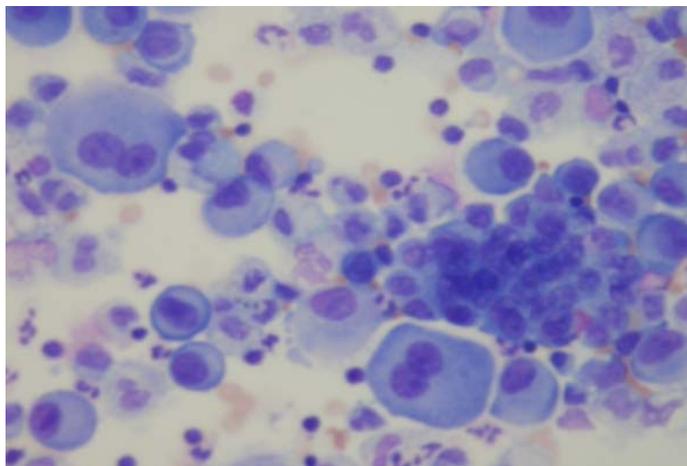


Figura 56. Células de adenocarcinoma broncogénico. 400x. ⁽⁴⁶⁾

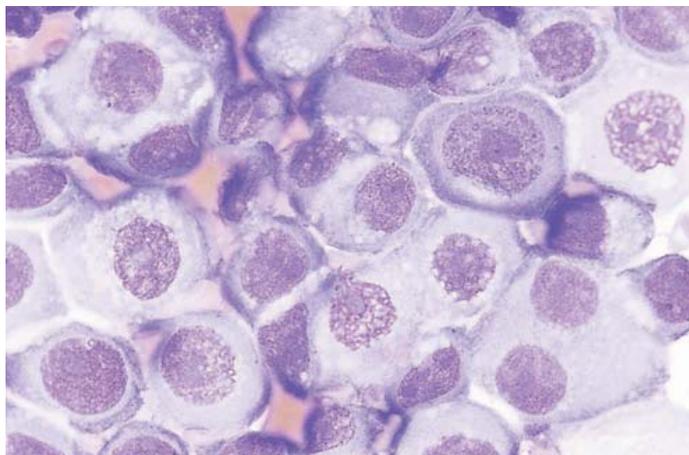


Figura 57. Células de carcinoma metastásico de mama. 100x. ⁽⁹⁾

5.6 EXAMEN QUÍMICO

Se determinan las pruebas de glucosa, proteínas, LDH, pH, amilasa y triglicéridos. ^(9,90)

GLUCOSA

La concentración normal de glucosa del LP ya sea trasudado o exudado es similar a la que se encuentra en suero. La disminución de glucosa por debajo de 60 mg/dL o una relación de glucosa líquido pleural /suero menor de 0,5 indica una pleuritis reumatoide, infección bacteriana, tuberculosis, neoplasia, en enfermedad reumatoidea y empiema. Esta disminución se lleva a cabo mediante dos mecanismos: utilización de glucosa y por bloqueo relativo en el transporte de la glucosa de la sangre al fluido. ^(10,12, 92)

PROTEÍNAS

Durante los procesos inflamatorios, la alteración de la membrana basal incrementa la filtración de proteínas en el líquido pleural. Las proteínas se determinan por espectrofotometría, el valor de referencia es de 1 - 2 g/dL y éste tiene poca aplicación clínica pero es utilizada para diferenciar un exudado (>35 g/dL) de un trasudado (< 25 g/dL). ^(12,49,81)

TRIGLICÉRIDOS Y COLESTEROL

La determinación de triglicéridos y colesterol es de utilidad si se sospecha de quilotórax o pseudoquilotórax. En presencia de concentraciones de triglicéridos mayores a 110 mg/dL, una relación de triglicéridos en líquido pleural/suero mayor de

1 y un cociente de colesterol líquido pleural/suero menor de 1, se establece el diagnóstico de quilotórax. Si la concentración de triglicéridos se encuentra entre 50 y 110 mg/dL con contenido normal o disminuido de colesterol, se debe determinar lipoproteínas cuya presencia confirma el quilotórax. Una concentración de colesterol superior a 200- 250 mg/dL corresponden a pseudoquilotórax. ^(91,96)

LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)

La concentración de LDH se eleva en proporción al grado de inflamación pleural. Por otra parte, su disminución durante el curso de un derrame indica que se está resolviendo el proceso inflamatorio. En caso de malignidad un posible mecanismo para el incremento de LDH es el aumento de la actividad glucolítica o la sobreproducción de la enzima por células tumorales. ^(12,81)

AMILASA

Es útil en la sospecha de casos de ruptura esofágica o derrames asociados a enfermedades pancreáticas. Un incremento en la actividad de amilasa con respecto al suero mayor a 1.5 veces, sugiere una pancreatitis, ruptura esofágica o derrames malignos. La isoforma salivar se eleva en estas dos últimas diferenciándose de la pancreatitis. ^(12,20,30)

pH

La guía de la British Toracic Society recomienda medir el pH en todos los derrames no purulentos. El pH de referencia del líquido pleural es aproximadamente de 7.6. Un pH menor a 7.3 se asocia a procesos inflamatorios, infecciones bacterianas, tuberculosis, neoplasia y acidosis sistémica. Se debe realizar la medición en un gasómetro. ^(37, 49)

5.7 EXAMEN MICROBIOLÓGICO

Para el análisis microbiológico del líquido pleural se obtiene el sedimento y con él se realiza un extendido que se tiñe por Gram y para BAAR también se inocula en medios de agar sangre, agar chocolate, agar Mc Conkey y agar para anaerobios los cuales serán incubados de 35 a 37°C y monitoreados por un mínimo de 24 – 48 hrs para los aerobios y de 4 días para los anaerobios. Paralelamente, se incuban 2 frascos para hemocultivo y en caso de positividad se realizan los subcultivos en

medios sólidos para la posterior identificación de los microorganismos. En caso de sospecha de tuberculosis se anexa el cultivo en el medio de Lowenstein-Jensen que se incuba durante 2 meses y en el que *M tuberculosis* suele crecer a partir de la tercera semana. Los microorganismos asociados con los derrames pleurales son *Staphylococcus aureus*, miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, anaerobios y *Mycobacterium tuberculosis* entre otros que se enlistan en la tabla no.12. *Haemophilus influenzae* y *S. aureus* se encuentran sobretodo en niños y *S. aureus* se asocia a infección pleural post traumatismo o cirugía torácica. En pacientes inmunodeprimidos se aíslan más a menudo bacilos gramnegativos y hongos siendo *Candida sp* la más común. ^(9,83,89,91)

En el líquido proveniente de un absceso hepático amebiano pueden identificarse trofozoítos de *Entamoeba histolytica*, sin embargo, estos abscesos pueden estar secundariamente infectados por enterobacterias provenientes de la circulación portal. ⁽⁹⁷⁾

Aerobios	Anaerobios
<p style="text-align: center;">Grampositivos</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p><i>Streptococcus pyogenes</i></p> <p>Streptococcus sp. (<i>S. pneumoniae</i>, <i>S. faecalis</i>)</p> <p style="text-align: center;">Gramnegativos</p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p> <p><i>Enterobacter s.p</i></p> <p><i>Serratia marcesens</i></p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p><i>Escherichia coli</i></p> <p><i>Proteus mirabilis</i></p> <p><i>Nocardia asteroides</i></p>	<p>Peptococcus asacharolyticus</p> <p>Peptostreptococcus anaerobius</p> <p>Clostridium perfringens</p> <p>Clostridium septicus</p> <p>Actinomyces sp</p> <p>Bifidobacteriu eriksonii</p> <p>Bacteroides fragilis</p> <p>Bacteroides melaningogenicus</p> <p>Fusobacterium nucleatum</p> <p>Fusobacterium necrophorum.</p>

Tabla No.12 Principales microorganismos encontrados en infecciones pleuropulmonares. ⁽⁹⁷⁾

5.8 PRUEBAS ADICIONALES

ADENOSIN DESAMINASA (ADA)

Es una enzima predominante de los linfocitos T y su actividad es la suma de dos isoenzimas (ADA₁ y ADA₂). En tuberculosis la concentración de ADA es superior a 40 U/L. Mientras muchos tipos celulares pueden producir ADA₁, ADA₂ es secretada solo por monocitos y macrófagos por lo que es la principal isoenzima en derrames tuberculosos. ^(9,90,98,99)

FACTOR REUMATOIDE

El factor reumatoide se encuentra en los derrames pleurales asociados con artritis reumatoide la cual presenta títulos superiores a 1:320. ^(12,49)

ANTICUERPOS ANTINUCLEARES (ANA)

Las cantidades de ANA son de utilidad en el diagnóstico de derrames debidos a la pleuritis por lupus, aunque otras afecciones también provocan cantidades altas de ANA ⁽¹²⁾

PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)

La PCR es un reactante de fase aguda ampliamente utilizado como marcador de inflamación y daño tisular. Se encuentra más alta en exudados benignos que en los malignos elevándose principalmente en tuberculosis y pleuritis. ⁽¹⁰⁰⁾

MARCADORES TUMORALES

Algunos marcadores en caso de derrames neoplásicos negativos a células malignas, pueden ser útiles para orientar hacia la etiología maligna del derrame. Se elevan principalmente el antígeno carcinoembrionario, que se encuentra principalmente en adenocarcinoma maligno y cáncer de pulmón, la alfa fetoproteína y los marcadores p15 y p52. ^(94,97)

ACIDO HIALURÓNICO

Se ha encontrado que es útil para la detección de mesotelioma pleural cuando la detección citológica se dificulta en los derrames de tipo hemorrágico en donde

encontraremos niveles mayores de 100 mg/ L de ácido hialurónico en el líquido pleural. ^(101,102)

LISOZIMA

El aumento en la relación obtenida de lisozima en líquido pleural / lisozima en suero indica una producción de esta enzima en la cavidad pleural durante el curso de tuberculosis y empiema producidas por células epiteliales y fagocitos mononucleares en granulomas tuberculosos. ⁽¹⁰³⁾

6. LÍQUIDO PERICÁRDICO

6.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

El líquido pericárdico es un líquido transparente, amarillo pálido localizado en la cavidad pericárdica cuyo volumen oscila entre los 10 y 50 mL que actúa como lubricante entre las membranas del pericardio permitiendo el movimiento del corazón. ^(29,37,53,104)

El corazón se encuentra separado de las estructuras mediastinales por el pericardio que es un saco membranoso, fibroso y seroso que lo cubre y el cual le brinda soporte estructural, restringiendo su distensión y funcionando como una barrera mecánica e inmunológica protegiéndolo al limitar la propagación de infecciones provenientes de los pulmones. ^(105,106)

El pericardio está conformado por una capa interna o también llamada visceral serosa que tiene una sola capa de células mesoteliales, y una capa externa o parietal fibrosa. Entre estas capas existe un espacio y dentro de él está contenido el líquido pericárdico. ^(106,107,108)

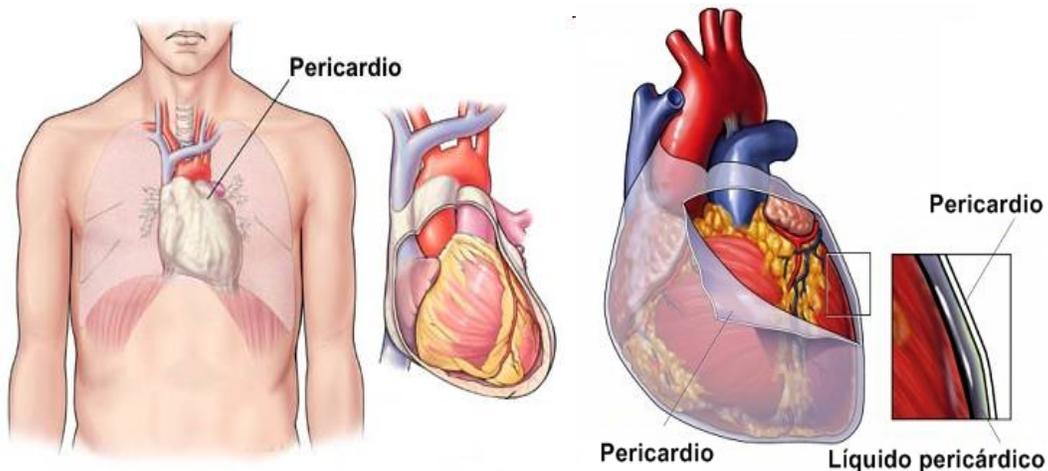


Figura 58. Localización del pericardio y líquido pericárdico.

Este líquido corporal es producido en la cavidad pericárdica por las células mesoteliales de la membrana visceral, se considera como un ultrafiltrado del plasma ya que los electrolitos se encuentran en concentración equivalente, es bajo en proteínas (aproximadamente 1/3 parte que las del plasma) aunque con una proporción de albúmina relativamente alta y también contiene fosfolípidos. ^(107,108,109,110)

La función primaria del líquido pericárdico consiste en lubricar las capas del pericardio reduciendo la fricción entre ellas durante las contracciones generadas por los latidos del corazón. Además, en condiciones normales este líquido se encuentra distribuido en todo el espacio pericárdico facilitando los cambios respiratorios y posturales en el volumen cardíaco sin afectar la presión intrapericárdica. ^(108,110)

6.2 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

La pericardiocentesis es la técnica utilizada para la extracción de líquido pericárdico. Fallows and Pastor la describieron por primera vez en 1955 y de ahí en adelante ha sido evidenciada la eficacia de este procedimiento. No obstante, la extracción del líquido pericárdico representa un riesgo por la probabilidad de una perforación al miocardio por lo que debe efectuarse por personal altamente capacitado. Se logra con mayor precisión guiada mediante un ecocardiograma que es útil para determinar la zona y la profundidad de la punción. El mejor sitio para efectuarla previa analgesia y asepsia, es en el punto más cercano a la superficie corporal en donde se ha acumulado el líquido por lo general por la vía subxifoidea. Se inserta la aguja calibre 16 o 18 siguiendo la dirección hacia el hombro izquierdo hasta llegar al espacio pericárdico y aspirando en forma continua para obtener el líquido pericárdico por lo general mediante un catéter. Para realizar el análisis deben extraerse aproximadamente 20 mL de líquido. ^(41,104,111,112,113)

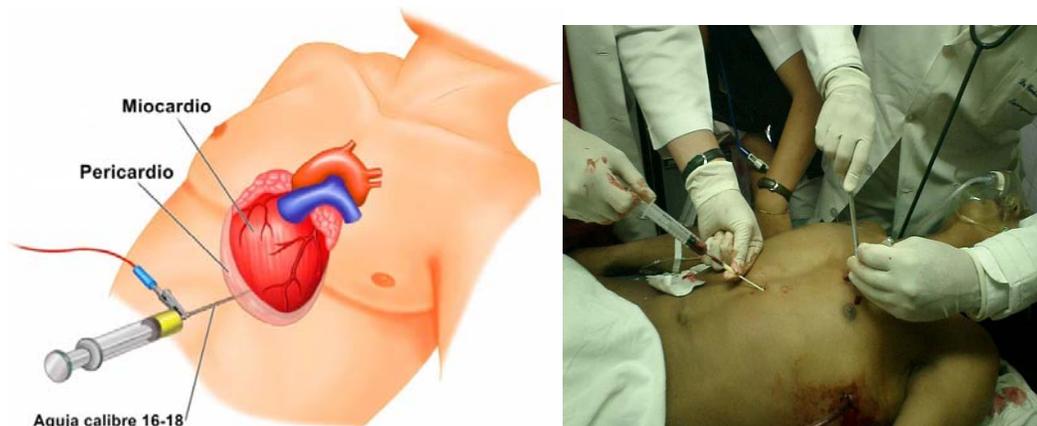


Figura 59. Técnica de pericardiocentesis.

Se debe recolectar una muestra en un tubo con anticoagulante EDTA o heparina para el análisis citológico, un tubo estéril para microbiología y un tubo sin anticoagulante para las pruebas químicas.

6.3 TIPOS DE LÍQUIDO PERICÁDICO

Se denomina derrame pericárdico a la existencia de una cantidad de líquido pericárdico superior a los 50 mL como consecuencia de alteraciones en la permeabilidad de membrana, habitualmente secundarias a una pericarditis. Su procedencia es debida a diversas condiciones clínicas tales como infecciones virales, bacterianas, fúngicas, o como resultado de procesos inflamatorios, autoinmunes o neoplásicos y esta acumulación puede derivar en un tamponamiento cardíaco. Su diagnóstico se realiza mediante alguna técnica de imagen siendo la ecocardiografía la más utilizada. ^(104,114)

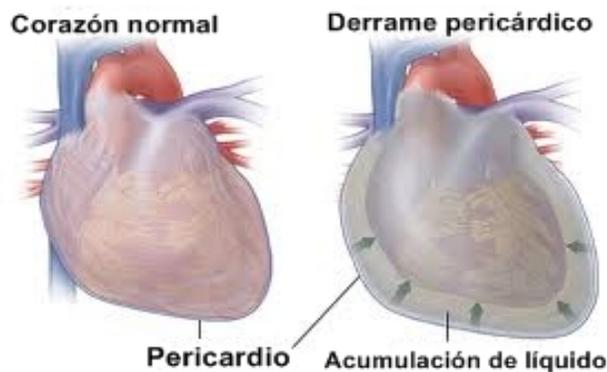


Figura 60. Comparación del pericardio en condiciones normales y con derrame pericárdico.

Los derrames se clasifican en exudados y trasudados mediante la relación líquido pericárdico/suero tanto de concentración de proteínas como de LDH. El trasudado tiene una densidad baja (menor de 1.01), cantidad baja de proteínas y reducida celularidad que derivan de la obstrucción de los conductos linfáticos mientras que los exudados poseen una densidad superior a 1.01, mayor contenido de proteínas y celularidad, todas ellas producto de inflamación, infección o procesos malignos o autoinmunes ^(37,106,111,112)

6.4 EXAMEN FÍSICO

COLOR Y ASPECTO

Las características de un líquido pericárdico normal es de aspecto claro y color amarillo pálido. El aspecto y color del líquido pericárdico encaminan de manera directa al diagnóstico por lo que es importante su evaluación dentro del análisis inicial. Es posible observar los siguientes aspectos: ^(9,22)

Transparente. Puede ser consecuencia de una pericarditis aguda benigna, derrame por hemodiálisis o bien derivado de enfermedades autoinmunes. ⁽²²⁾

Purulento. Es visto en pericarditis infecciosa. ⁽²²⁾

Lechoso. Se asocia con la existencia de un derrame quiloso o pseudoquiloso o por una elevada cantidad de leucocitos subsecuente a pericarditis infecciosa. ^(9,12,29)

Hemorrágico. Es característico de neoplasias, pericarditis tuberculosa. Asimismo, sugiere que ocurrió una perforación cardíaca accidental y uso incorrecto de medicación anticoagulante. Para diferenciar esta situación la determinación del hematocrito es de utilidad ya que la sangre obtenida de alguna zona del corazón tendrá un valor similar al de la sangre periférica mientras que el obtenido por un derrame hemorrágico será menor. ⁽¹²⁾

6.5 EXAMEN MICROSCÓPICO

El examen citológico debe incluirse siempre para descartar una etiología neoplásica. ⁽¹⁰⁴⁾

La muestra debe centrifugarse a 2500 rpm durante 10 minutos, desechar el sobrenadante y trabajar con el sedimento. ⁽¹¹¹⁾

El conteo de leucocitos es mayor en padecimientos inflamatorios e infecciosos y menor en mixedema (manifestación poco frecuente del hipotiroidismo) siendo así útil para el diagnóstico de pericarditis el cual se deduce a partir del recuento de mononucleares/linfocitos mayor a $5000/\text{mm}^3$. En el caso de endocarditis bacteriana una cantidad superior a $1000 \text{ leucocitos}/\mu\text{L}$ con un porcentaje de neutrófilos predominante es indicativa de esta enfermedad. No obstante, aunque el análisis citológico es de importancia para confirmar la existencia de células malignas, se dificulta debido a que la morfología de las células mesoteliales reactivas y las malignas es similar tal como se muestra en las figuras 46 y 47 por lo que pueden confundirse. Las células de carcinoma metastásico de pulmón o de mama son las que se observan con mayor frecuencia y éstas son semejantes a las encontradas en líquido pleural. ^(9,12,107,111,115)

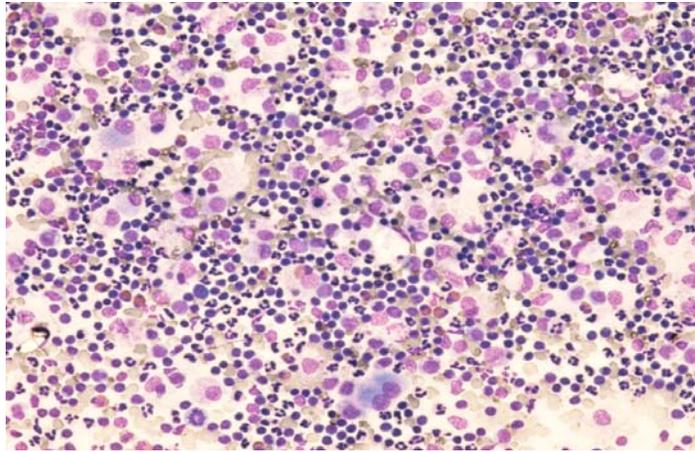


Figura 61. Linfocitos en gran cantidad y células mesoteliales aisladas o en pequeños acúmulos de líquido pericárdico en pericarditis. 200x ⁽¹¹¹⁾

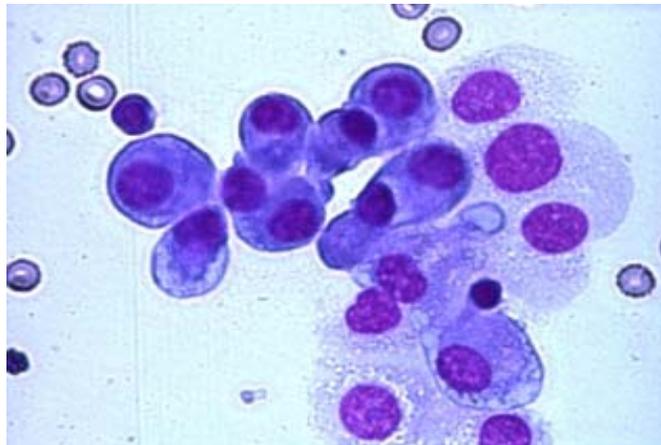


Figura 62. Acúmulo de células mesoteliales reactivas en líquido pericárdico. 400x. (115)

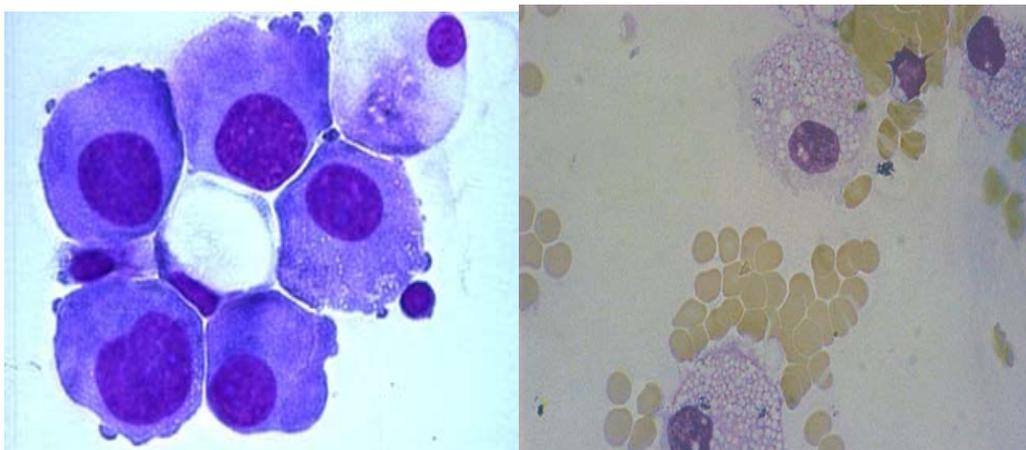


Figura 63. Células de mesotelioma maligno en derrame pericárdico. 400x ^(9, 115)

6.6 EXAMEN QUÍMICO

El análisis químico en el líquido pericárdico de mayor valor para el diagnóstico clínico comprende las determinaciones de glucosa, proteínas, LDH, Lípidos y la evaluación del pH. ^(12,104)

GLUCOSA

En pericarditis la concentración de glucosa suele ser baja, un valor menor a 40 mg/dL se encuentra en derrames de origen bacteriano, tuberculoso, reumático o maligno. ^(12,104)

PROTEÍNAS

Su importancia reside en ser un parámetro útil para la diferenciación de exudados y trasudados. Un exudado contiene una concentración mayor de 3.0 g/dL y una relación entre líquido pericárdico /suero superior a 0.5. ⁽¹¹²⁾

LACTATO DESHIDROGENASA

La medición de LDH en el líquido pericárdico cuyo valor sea mayor de 30 U/L o bien una relación líquido pericárdico/ suero superior a 0.6 sirve para distinguir un exudado de un trasudado. ^(12,37)

TRIGLICÉRIDOS

Una concentración de triglicéridos de 5 – 50 g/L evidencia un derrame quiloso el cual es producido por la comunicación entre el pericardio y el ducto torácico causado por anomalías congénitas, trauma, obstrucción, o provocado de manera iatrogénica durante cirugía. ^(12,116)

pH

Se presenta una disminución de este parámetro en neoplasias, uremia, tuberculosis así como en trastornos idiopáticos donde su valor se encuentra entre 7.2 a 7.4 ⁽¹²⁾

CREATININASA

Se emplea para el diagnóstico de infarto al miocardio en donde la fracción CK-MB se encuentra aumentada. ⁽¹¹⁷⁾

6.7 EXAMEN MICROBIOLÓGICO

En el líquido pericárdico no se realizan de rutina tinciones de Gram y cultivos sólo ante la sospecha de una endocarditis o pericarditis bacteriana, fúngica o tuberculosa. Si el líquido es purulento, es necesario enviar posteriormente dos muestras más para tinción de Gram y Zielh-Neelsen y para el cultivo tanto en medios aerobios como anaerobios y en botellas para hemocultivo; es decir, que es obligatorio enviar al menos 3 muestras del líquido pericárdico para descartar infección bacteriana ya que un líquido con estas características también puede confundirse con el derrame producido por otras causas como los quilosos y pseudoquilosos. ^(22,105,112)

La pericarditis viral es la de mayor incidencia y su diagnóstico es obtenido por medio de técnicas como la PCR o la hibridación in situ. La pericarditis fúngica ocurre a menudo en pacientes inmunocomprometidos. En la siguiente tabla se muestra la etiología microbiológica principal de la pericarditis. ^(105,112,118)

Bacterias	Virus	Hongos
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Coxsackie A9, B5, B6	<i>Histoplasma sp</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Echovirus 8	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Virus de Epstein-Barr	<i>Aspergillus sp</i>
<i>Streptococcus β hemolíticos</i>	Citomegalovirus	
<i>Haemophilus influenzae</i>	Virus de herpes simple	<i>Candida sp</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Adenovirus	
<i>Neisseria meningitides</i>	Hepatitis B,C	<i>Coccidioides sp</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	HIV	
	Parvovirus B19	

Tabla No. 13 Microorganismos más frecuentes causantes de pericarditis. ^(104,105,112,1116,118)

6.8 PRUEBAS ADICIONALES

ADENOSINA DESAMINASA

Sirve para establecer el diagnóstico de pericarditis tuberculosa con un valor superior a 40 U/L. ^(119,120)

PEPTIDO NATRIURETICO CEREBRAL (BNP)

Su determinación por quimioluminiscencia es útil para evaluar las disfunciones de los ventrículos del corazón. ⁽¹²⁰⁾

7. FUNDAMENTO BIOQUÍMICO DE LAS DETERMINACIONES REALIZADAS EN LÍQUIDOS CORPORALES.

Es importante mencionar que existe variedad en tecnología y equipos automatizados para realizar las determinaciones bioquímicas que incluyen el uso de métodos enzimáticos, cinéticos o mediante la formación de complejos específicos aunque todavía en algunos laboratorios se hacen pruebas manuales, sin embargo se describen los métodos más comúnmente realizados en bioquímica clínica enfatizando que el químico siempre debe utilizar el que se encuentre disponible en su lugar de trabajo. ⁽¹²¹⁾

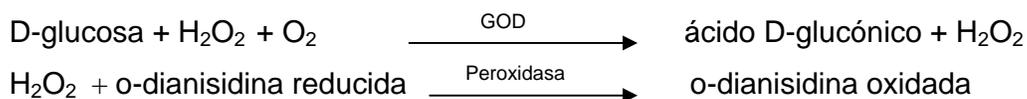
GLUCOSA

Existen diferentes métodos para determinar la concentración de glucosa. El más conocido utiliza un método enzimático colorimétrico.

METODO DE LA GLUCOSA OXIDASA

Es un método que se basa en la especificidad de la enzima glucosa oxidasa (GOD) por la D-glucosa, que cataliza la transformación de la D-glucosa a ácido D-glucónico y peróxido de hidrógeno en presencia de oxígeno y agua.

En una segunda reacción el peróxido de hidrógeno con o-dianisidina en presencia de peroxidasa forma un producto coloreado (o-dianisidina oxidada). La o-dianisidina oxidada con ácido sulfúrico se transforma en un producto coloreado mucho más estable.



La absorbancia del producto rosado medida a 540 nm es proporcional a la concentración de glucosa. ⁽¹²²⁾

PROTEÍNAS

Para cuantificar las proteínas en líquidos corporales se utilizan muchos métodos químicos e instrumentales con los que se han hecho las siguientes suposiciones:

- 1) Todas las proteínas son cadenas de polipéptidos que contienen un 16 % en peso de nitrógeno.
- 2) Cada proteína reacciona químicamente como todas las demás proteínas.

La primera aseveración no es cierta y la segunda tampoco es siempre cierta aunque estas simples suposiciones hicieron de la medición de las proteínas totales un procedimiento práctico aunque empírico. ⁽¹²³⁾

La cantidad de proteínas totales se obtiene mediante un método de punto final en donde las proteínas reaccionan en medio ácido con rojo de pirogalol (PR) y aniones molibdato (Mo) dando un compuesto coloreado con un pico de absorción a 360 nm. El color azul desarrollado es directamente proporcional a la cantidad de proteínas presentes en la muestra. ^(123,124)

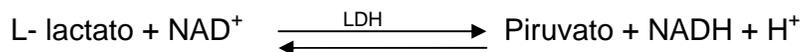
Rojo de pirogalol + Molibdato + Proteínas \longrightarrow complejo PR-Mo-Proteínas

ALBÚMINA

Los métodos más utilizados se basan en la unión de albúmina a colorantes o indicadores siendo el más común el que utiliza verde de bromocresol en medio de reacción tamponado pH= 3.6. El cambio de las propiedades ópticas que muestra el complejo formado, permite cuantificar fotométricamente a 625 nm la albúmina proporcional que se encuentra en la muestra.

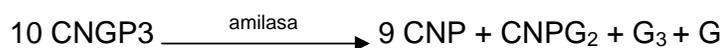
LACTATO DESHIDROGENASA

Es un método cinético enzimático. En esta reacción la LD-L cataliza la oxidación reversible de L- lactato a piruvato con la reducción concurrente de β -dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD) a de β -dinucleótido de adenina nicotinamida reducida. La velocidad de formación de éste último medido por el incremento de absorbancia a 340 nm es proporcional a la actividad de la LDH presente en la muestra. ^(22,125)



AMILASA

Se obtiene mediante un método cinético enzimático en donde se mide la actividad de α -amilasa. La amilasa hidroliza el sustrato 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltriosido (CNGP3) a 2-cloro-4-nitrofenol (CNP), maltotriosa (G3) y glucosa (G) según la siguiente reacción:

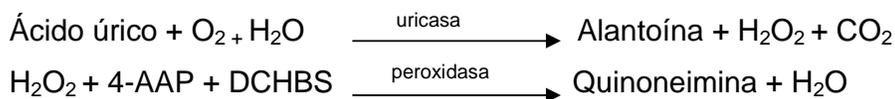


La velocidad de formación de 2-cloro-4nitrofenol, determinado fotométricamente a 405 nm es proporcional a la actividad enzimática de α -amilasa en la muestra.

ÁCIDO ÚRICO

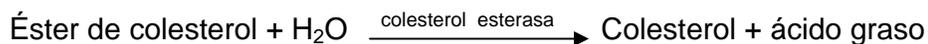
Se obtiene mediante un método enzimático colorimétrico. El ácido úrico es oxidado por la uricasa para producir alantoína y peróxido de hidrógeno que en presencia de peroxidasa reacciona con uno o varias moléculas aceptoras de oxígeno las más comúnmente utilizadas son la 4-aminofenazona, el 3—metil-1-benzotiazolin hidrazona (MBTH), la 2,2-azino-di-(3-etil-benzotiazolin)-6-sulfonato (MBTH), la 4-aminoantipirina (4-AAP) y la ortodianizina que reaccionan, por ejemplo, con el sulfato de 3,5- dicloro-2-hidroxibenceno (DCHBS) en una reacción catalizada por peroxidasa para producir un producto coloreado. Se mide el cambio de absorbancia a 520 nm el cual es directamente proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra.

(22, 123)

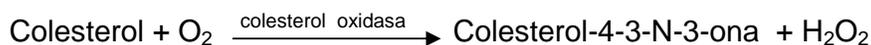


COLESTEROL

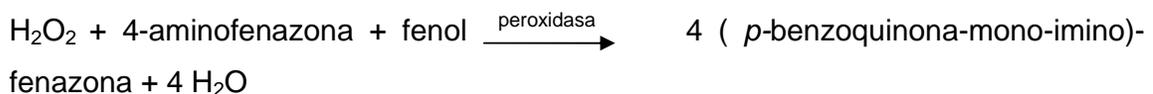
Es un método enzimático colorimétrico que se basa en el uso de colesterol oxidasa, que puede actuar sobre el colesterol no esterificado y por tanto debe hidrolizar a los ésteres mediante el uso de la enzima colesterol esterasa que cataliza la siguiente reacción:



El colesterol libre, incluyendo el originalmente presente es oxidado por la colesterol oxidasa de acuerdo a la reacción:



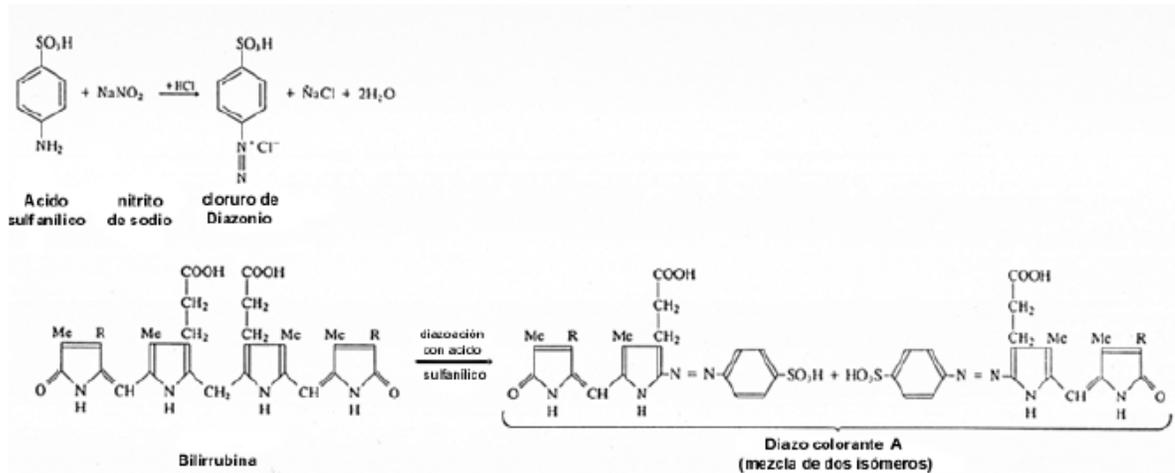
El peróxido de hidrógeno reacciona con fenol y 4 aminofenazona en presencia de peroxidasa para formar una quinona coloreada que es medida a 500 nm



BILIRRUBINA

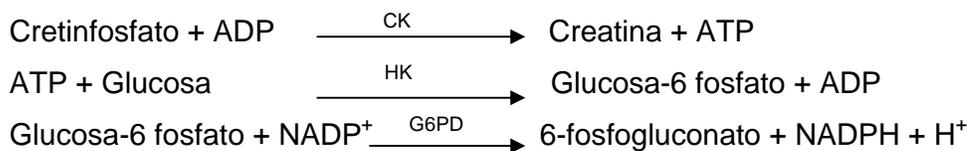
El método químico más ampliamente usado para la cuantificación de la bilirrubina está basado en la diazorreacción. En esta reacción, el ácido sulfanílico diazotado (diazoreactivo) reacciona con la bilirrubina para producir dos azodipirroles los cuales son de color púrpura a pH neutro y azules en pH ácido o básico. La fracción de bilirrubina que reacciona con el diazoreactivo en ausencia de alcohol es conocida

como bilirrubina directa. La bilirrubina indirecta se obtiene de la diferencia entre la bilirrubina total (la cual se obtiene después de agregar alcohol a la mezcla de reacción) que se mide a 546 nm y la bilirrubina directa obtenida a 578 nm. ^(125,123)



CREATINCINASA

Se determina mediante una serie de reacciones encadenadas. La creatincinasa cataliza la conversión de cretinfosfato a creatina con la fosforilación del ADP para formar ATP. Este ATP reacciona con glucosa en presencia de hexoquinasa (HK) formando glucosa-6 fosfato la cual es oxidada por NADP en presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) resultando el 6-fosfogluconato y NADPH. Este último es medido espectrofotométricamente de manera que la velocidad con la que aumenta la absorbancia a 340 nm debida a la reducción del NADP a NADPH representa una medida de la actividad de la CK. ⁽¹²³⁾



CREATINCINASA - MB

Se determina a través de un método inmunoquímico en donde un anticuerpo específico inhibe las dos subunidades M de la CK- MM (CK3) y la subunidad M de la CK-MB (CK2) lo que permite medir la subunidad B de la CK – MB. La concentración catalítica de la CK-B que corresponde a la mitad de la actividad CK-MB se determina utilizando las reacciones acopladas de la hexoquinasa y la Glucosa-6 fosfato deshidrogenasa a partir de la formación de NADPH medido a 340 nm de igual forma que en la CK. ⁽¹²³⁾

LACTATO

Su medición se lleva a cabo de forma amperométrica. La enzima lactato oxidasa inmovilizada en un biosensor de lactato, convierte selectivamente el lactato en piruvato y en peróxido de hidrógeno. El H_2O_2 liberado se oxida en un electrodo de platino para producir una corriente que es proporcional a la concentración de lactato en la muestra. ⁽¹²³⁾



TRIGLICÉRIDOS

Consiste en un método enzimático colorimétrico donde el paso inicial es la hidrólisis de triglicéridos con lipasa que libera glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es posteriormente fosforilado con ATP en presencia de glicerolcinas (GK) para producir glicerol-fosfato (GP) y adenosina-difosfato (DAP). El GP es entonces convertido a dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno por glicerol fosfato oxidasa (GPO). Al final, el peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) o con 4-aminiantipirina y un fenol como el p-clorofenol, en una reacción que es catalizada por la peroxidasa (POD) obteniendo una coloración roja. La quinoneimina posee un pico de absorción a 505 nm. La intensidad de color es proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra. ^(22, 123)



SODIO, POTASIO Y CLORO

Su determinación se lleva a cabo mediante el método del electrodo de ión selectivo (ISE) que consiste en una membrana delgada que se une solamente al ión que se pretende determinar. La membrana selectiva de iones está constituida de un polímero orgánico hidrófobo impregnado con una solución orgánica viscosa que contiene un intercambiador iónico y a veces un ligando que se une selectivamente al catión o anión (Na^+ , K^+ , Cl^-). El interior del electrodo contiene la disolución de relleno con los iones. El exterior del electrodo se encuentra dentro de una disolución de analito que contiene otros iones. La diferencia de potencial eléctrico a través de la

membrana selectiva de iones se mide por dos electrodos de referencia que pueden ser Ag/AgCl. Si varía la concentración (o actividad) del catión en la disolución del analito, el voltaje entre los dos electrodos también cambia. Usando una curva de calibración el voltaje indica la actividad del catión en el analito. ^(123, 132)

MAGNESIO

El magnesio en medio alcalino forma un complejo color púrpura en presencia de calmagita con un pico de absorción a 520 nm cuya intensidad de color es proporcional a la concentración en la muestra. ⁽¹²³⁾

pH

La concentración de iones hidrógeno de una solución puede medirse con algunos colorantes llamados indicadores ácido-base que en solución se disocian en iones cuyo color es diferente del de la molécula sin disociar. Para medir los líquidos corporales se utilizan tiras de papel absorbente impregnadas con uno o varios indicadores en las que se obtiene una medida aproximada del pH por comparación con tablas coloreadas de referencia. ⁽¹²⁶⁾

ANEXO 1

RECuento CELULAR

Habitualmente el recuento celular y diferencial se realiza manualmente pero es un procedimiento laborioso que consume mucho tiempo y está sometido a la variabilidad de los técnicos. En los últimos años el avance tecnológico ha permitido aportar nuevas herramientas de diagnóstico médico por medio de la introducción a los laboratorios de sistemas automatizados para poder manejar un control de calidad y precisión más eficientes. ^(9,18)

MÉTODO MANUAL

El recuento celular manual se hace mediante un hematocitómetro el cual consta de dos campos de conteo cada uno con nueve cuadros que tienen dimensión conocida de tal manera que mediante fórmulas se obtiene el número de células por mm^3 . En el área clínica se utiliza la cámara de Neubauer o la cámara de Fuschs-Rosenthal, la diferencia entre ambas cámaras se debe al volumen de cada cuadro. ^(9,127)

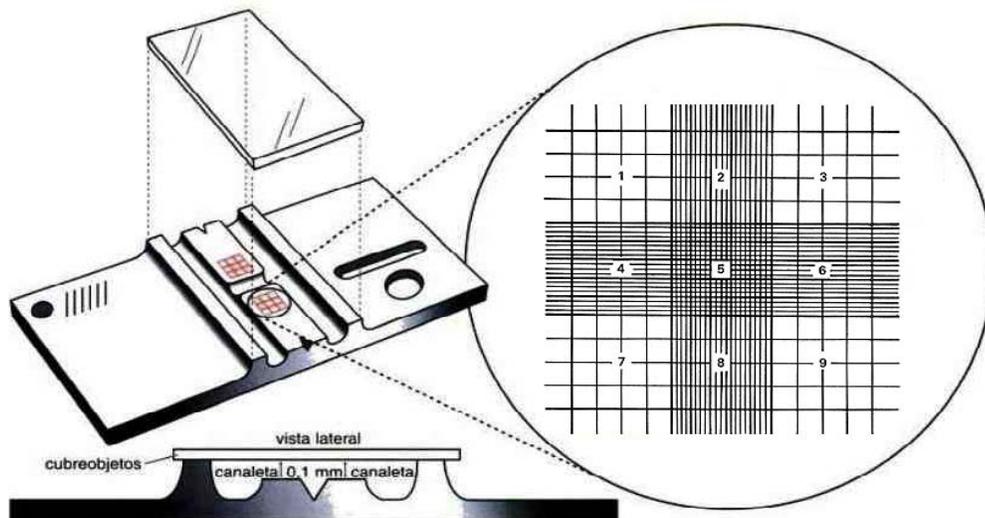


Figura 64 Hematocitómetro. Se muestran los 9 cuadros que constituye cada campo.

Método.

1. En un tubo de ensayo se realiza una dilución 10:11 (se agregan 100 µL de la muestra y 10 µL de colorante de azul de Unna). Si el líquido es turbio o se encuentra muy concentrado, debe efectuarse una dilución previa con líquido de Turk.: preparar una dilución 1:20 empleando 0.05 mL del líquido corporal y 0.95 mL de líquido de Turk.
2. Homogenizar la muestra, invirtiendo el tubo de 10 a 15 veces, con excepción del LS el cual debe ser mezclado de 5 a 10 minutos debido a su viscosidad. Cargar la cámara de Neubauer o bien la de Fuschs-Rosenthal y leer al microscopio los 9 cuadrantes. Primeramente se observa la distribución y agrupamiento de las células con el objetivo de 10 y 40x, después se cambia a inmersión, para una mejor observación e identificación ya que pueden sufrir alteraciones debido a la centrifugación mostrándose distorsionadas en vacuolas y citoplasma, como también con nucléolos prominentes y agrupamientos celulares semejantes a neoplasia. La lectura se realiza en forma de "L".^(22,18,72)
3. De acuerdo a la cuenta celular se determina el número por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{No de células / mm}^3 = \frac{\text{No. Células contadas} \times \text{Inverso de la dilución}}{\text{No. De cuadros contados} \times \text{volumen del cuadro}}$$

Para la cámara de Neubauer:

$$\text{No de células / mm}^3 = \frac{\text{No. Células contadas} \times 1.1}{\text{No. De cuadros contados} \times 0.1 \text{ mm}^3}$$

Si se utiliza la cámara de Fuschs- Rosenthal se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{No de células / mm}^3 = \frac{\text{No. Células contadas} \times 1.1}{\text{No. De cuadros contados} \times 0.2 \text{ mm}^3}$$

REPORTE

El informe debe contener el Número de células /mm³ y la cuenta diferencial en porcentaje de polimorfonucleares y mononucleares.^(22,18)

METODO AUTOMATIZADO.

El sistema ADVIA 120 de la casa comercial Siemens medical solutions fue el primer instrumento automatizado aprobado por la FDA, utiliza los principios de citometría de flujo, dispersión de la luz y absorbancia para contar eritrocitos y leucocitos y así proporciona el recuento diferencial de leucocitos que incluye los porcentajes y los números absolutos de células mononucleares y polimorfonucleares en las muestras que contienen más de 20 leucocitos/ μL .

Principalmente este método fue ideado para LCR. La muestra se somete previamente al tratamiento con un reactivo para fijar las células y que adquieran forma esférica. La muestra es aspirada por el instrumento y por medio de 3 mediciones ópticas las células pueden ser diferenciadas. ⁽⁹⁾



Figura 65. Advia 120

Dependiendo del instrumento, existen actualmente analizadores que aplican tecnologías probadas de impedancia electrónica, citometría de flujo, fluorescencia o la combinación de dos de éstas que aseguran un conteo exacto en fluidos corporales a partir del análisis de una sola muestra. La tecnología de citometría de flujo fluorescente por ejemplo, permite diferenciar de forma confiable las poblaciones normales de leucocitos, tal es el caso del analizador XT-2000-i de Sysmex o el COULTER-LH 750 de Beckman-Coulter y aunque estos aparatos pueden realizar conteos directos a partir de la muestra inicial es necesario seguir las instrucciones del manual de cada instrumento.



Figura 66. Analizador sysmex XT-2000-i, COULTER-LH 750

Gracias al avance tecnológico recientemente se ha lanzado al mercado un equipo automatizado para realizar el conteo e identificación diferencial en las muestras de líquidos corporales, el analizador CellaVision DM1200 que es capaz de identificar la estirpe celular existente en una preparación de la muestra y aunque este instrumento no se utiliza en México e internacionalmente su aplicación se enfoca al área docente y de investigación, el objetivo de esta tecnología es generar una perspectiva a futuro de gran utilidad para el químico en el trabajo del laboratorio clínico.

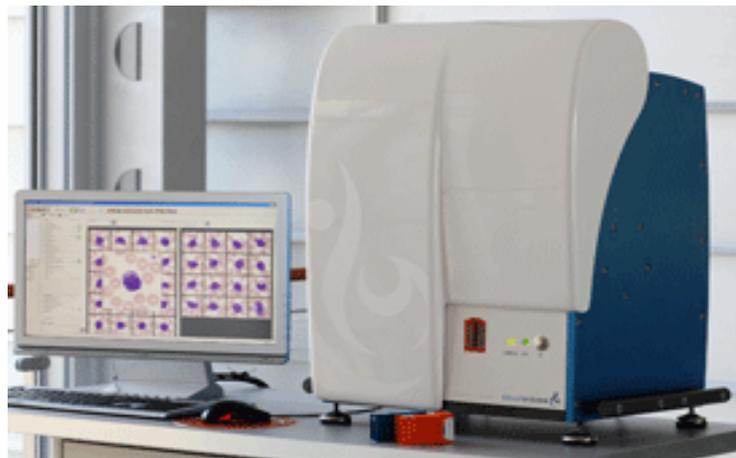


Figura 67. CellaVision DM1200

ANEXO 2

TINCION DE WRIGHT

FUNDAMENTO

Las reacciones de tinción dependen del pH. El azul de metileno libre es básico y tiñe los componentes celulares ácidos o basófilos como el RNA. La eosina libre es ácida y tiñe los componentes básicos como la hemoglobina o los gránulos eosinófilos. En tanto que los neutrófilos contienen gránulos citoplasmáticos con pH neutro y toman características de ambos colorantes. ⁽¹²⁷⁾

METODOLOGÍA

1. Centrifugar la muestra de 2500 - 3000 rpm durante 15 minutos
2. Del sedimento tomar una gota colocándola en la parte superior del portaobjetos y dejándola escurrir en posición vertical
3. Dejar secar a temperatura ambiente
4. Una vez preparado el frotis se tiñe con colorante de Wright durante 5 minutos
5. Agregar solución buffer de fosfatos pH= 6.8 o agua corriente hasta formar un “espejo de plata” y dejar reposar 5 minutos
6. Enjuagar con agua y dejar secar al aire ^(22, 26)

INTERPRETACIÓN

Los núcleos se teñirán en diferentes tonos de púrpura. El citoplasma se teñirá en diferentes tonos de azul a rosa claro. El citoplasma de algunas células puede presentar gránulos finos de rojizos a lila. Los basófilos se observarán con gránulos azul oscuro-negros en el citoplasma. Los eosinófilos tienen gránulos naranja brillante en el citoplasma. Los eritrocitos deben mostrar un color de rosa a naranja ⁽¹²⁸⁾

REPORTE

Incluir en el informe el porcentaje de cada estirpe celular observada en un conteo de 100 células. ^(22, 26)

.

ANEXO 3

TINCIÓN DE GRAM

La tinción de Gram fue creada por Hans Christian Gram a finales del siglo XIX y en la actualidad es la técnica principal utilizada para el examen microscópico de las bacterias de importancia clínica. ⁽¹²⁹⁾

FUNDAMENTO

Las diferencias en la composición de las paredes celulares de las bacterias grampositivas que contienen una capa gruesa de peptidoglucano con enlaces cruzados de ácido teicoico y las de las bacterias gramnegativas cuya capa de peptidoglucano es más delgada siendo incapaces de retener el colorante cristal violeta, decolorándose con alcohol cetona para captar finalmente el colorante safranina.

METODOLOGÍA

1. Una vez preparado el frotis, fijarlo con calor y después se cubre con cristal violeta, dejar en reposo por 1 minuto.
2. Lavar la preparación con agua, escurrir y agregar solución de lugol dejando en reposo por 1 minuto.
3. Escurrir y proceder a la decoloración con la solución de etanol-acetona hasta que casi no libere color violeta. Lavar con agua inmediatamente.
4. Aplicar solución de safranina por 1 minuto, lavar el portaobjetos con agua y dejar secar al aire. ⁽¹²⁹⁾

REPORTE

Informar en el reporte presencia escasa, moderada o abundante de bacterias grampositivas o gramnegativas y su agrupación en el espécimen estudiado. ⁽¹¹⁷⁾

ANEXO 4

TINCIÓN DE ZIEHL-NEELSEN PARA BACILOS ÁCIDO ALCOHOL RESISTENTES

FUNDAMENTO

Esta tinción es destinada de manera específica a un subgrupo de bacterias cuyas paredes celulares contienen ácidos micólicos (de cadenas largas). Estos ácidos permiten que las células resistan la decoloración con alcohol ácido. ⁽¹²⁹⁾

METODOLOGÍA

1. Una vez preparado el frotis fijarlo al calor, cubrir el portaobjetos con carbolfucsina y calentar con el mechero de bunsen por debajo del portaobjetos pasando la flama constantemente durante 7 minutos sin que el colorante se evapore totalmente.
2. Lavar la preparación con agua.
3. Colocar una solución de alcohol ácido el cual consiste en una mezcla de HCl al 3% en etanol al 95% hasta eliminar la mayor cantidad de colorante posible.
4. Cubrir el portaobjetos con azul de metileno que es el colorante de contraste y dejarlo actuar durante un minuto.
5. Finalmente enjuagar con agua y dejar secar al aire.

REPORTE

Informar en el reporte presencia escasa, moderada o abundante de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) encontrados en 100 campos del especimen estudiado.

⁽¹¹⁷⁾

ANEXO 5

TINCIÓN DE TINTA CHINA PARA CRIPTOCOCOS

Esta tinción es útil para la búsqueda de *Cryptococcus neoformans* en muestras clínicas, especialmente en LCR. Utiliza tinta china la cual destaca el la cápsula como un halo claro. ⁽¹²²⁾

FUNDAMENTO

La composición de la cápsula en los microorganismos posee un alto contenido de lípidos y polisacáridos como dextranas y alginatos los cuales no permiten la penetración del colorante en ella por lo que se observará como una parte no teñida. ^(22,130)

METODOLOGÍA

1. En un portabjetos colocar una asada del espécimen previamente centrifugado a 3000 rpm durante 10 – 15 minutos.
2. Agregar una gota de tinta china sobre o a un costado de la asada y colocar un cubreobjetos.
3. Observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

REPORTE

Indicar como positivo o negativo. ⁽²²⁾

ANEXO 6

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

COLORANTE DE WRIGHT

Colorante de Wright en polvo	9 g
Colorante de Giemsa en polvo	1g
Glicerina U.S.P	90 mL
Metanol	2910 mL

Mezclar los reactivos en una botella oscura grande y tapar .Dejar reposar durante un mes antes de usar. El frasco debe agitarse bien una vez por día durante los primeros 3-4 días. Antes de utilizar es conveniente filtrar la solución en un envase más pequeño.

SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE FOSFATOS PARA TINCIÓN DE WRIGTH

Para prepararla se requiere de dos soluciones madre:

Solución A	KH_2PO_4	9.5 g/L
Solución B	Na_2PO_4	9.07 g/L

Para obtener 100 mL de amortiguador pH= 6.8 se mezclan 50 mL de solución A con 50mL de solución B y se agregan 90 mL de agua destilada ⁽¹²⁸⁾

COLORANTE AZUL DE UNNA

0.5 g de K_2CO_3
0.5 g de azul de metileno

Agregar el azul de metileno en 100 mL de agua, mezclar y posteriormente adicionar el K_2CO_3 mezclando suavemente. Dejar reposar esta solución 24 horas y posteriormente mantener en refrigeración. ⁽²²⁾

SOLUCIÓN DILUYENTE DE TURK

Ácido acético

Ácido acético	30 mL
Agua desmineralizada.....	1000mL

Mezclar el ácido acético con el agua desmineralizada y posteriormente a 100 mL de esta solución agregar 3 gotas de azul de metileno. ⁽¹³¹⁾

CRISTAL VIOLETA

Solución A

Cristal violeta (violeta de genciana).....2 g
Etanol (95%).....20 mL

Solución B

Oxalato de amonio.....0.8 g
Agua.....80 mL

Dejar la solución B en reposo durante una noche o calentar a fuego bajo hasta la solubilización total, posteriormente mezclar con la solución A y filtrar.

LUGOL (SOLUCION DE IODO IODURADO)

Iodo metálico.....1 g
Ioduro de potasio.....2 g
Agua destilada.....300 mL

En un mortero mezclar el iodo y el ioduro de potasio moliéndolo finamente, aforar con agua y agitar vigorosamente.

ALCOHOL-ACETONA

Etanol (95%).....800 mL
Acetona200 mL

SAFRANINA

Safranina0.25 g
Etanol (95%).....10 mL
Agua.....100 mL

Disolver la safranina en el etanol, agregar agua destilada y filtrar con papel filtro.

FUCSINA FENICADA

Solución A

Cristales de fenol90g
Agua destilada.....105 mL

Colocar los cristales de fenol en baño de agua a una temperatura de 45 °C, cuando se hayan disuelto agregar el 10 agua y enfriar. Tomar 5 mL de esta solución y mezclar con 95 mL de agua destilada

SOLUCION B

Clorhidrato de fucsina básica.....0.3 g
Etanol (95%).....10 mL

Disolver el colorante en el etanol.

Mezclar las soluciones A y B y dejar reposar durante 2 semanas. Filtrar con papel filtro antes de utilizarla.

ALCOHOL ÁCIDO

Ácido clorhídrico concentrado.....3 mL
Etanol (95%).....97 mL

Agregar con cuidado y sobre las paredes del recipiente HCl sobre el etanol.

AZUL DE METILENO DE LOEFFLER

Solución A

Azul de metileno.....0.3 g
Etanol (95%).....30 mL

Solución B

Hidróxido de potasio.....0.1 g
Agua destilada.....100 mL

Mezclar solución A con solución B. Llenar el frasco solo a la mitad y de preferencia con tapón de algodón. Agitar el frasco con frecuencia.

DISCUSION

Aunque todas las fases del análisis de líquidos corporales son de importancia considero que la etapa que más puede afectar un buen resultado de laboratorio es la fase preanalítica y se debe recalcar que una buena toma de muestra es indispensable para ejecutar un estudio de calidad del espécimen en especial porque se trata de muestras de única obtención y siendo ésta en donde existen mayores variables a controlar, desde el tipo de antiséptico a utilizar para la punción, el tipo de aguja utilizada, el sitio adecuado de punción, el orden de recolección de los tubos hasta la identificación y transporte que si no han sido bien instruidos al personal médico, de enfermería y recepción pueden repercutir en el resultado final.

El analista debe tener un criterio bien desarrollado para establecer una prioridad ante la llegada de un líquido corporal al laboratorio con respecto a otras muestras debido a su rápida desintegración celular y en los errores que puede provocar en el resultado. Por eso, en algunos laboratorios se prefiere dividir la muestra en diferentes secciones para su análisis con el objetivo de hacer más ágil el proceso, sin embargo, esto implica variabilidad entre los analistas. Lo idóneo es instruir a todo el personal para que sea capaz de realizar un análisis de manera completa de un líquido corporal de manera rápida y precisa e incluso instaurar un área específica para su tratamiento en hospitales o laboratorios donde la prevalencia de estas muestras sea mayor.

En el LCR una parte importante es la centrifugación de la muestra que de acuerdo a Díaz Portillo y a otros autores debe hacerse antes de las 2 horas después de recolectarla para evitar falsos positivos debido a la lisis de eritrocitos a través del tiempo y en especial en muestras hemorrágicas.

Aunque varios autores proponen que se realice la medida en el suero del paciente de parámetros bioquímicos como glucosa y proteínas de dos a tres horas antes de la extracción de LCR muchas veces esto no es posible debido a que retrasa el diagnóstico de los pacientes del servicio de urgencias.

Un área de oportunidad es el diagnóstico microbiológico de enfermedades en líquidos corporales puesto que se deben de buscar nuevos sistemas de aislamiento inicial de patógenos debido a que los métodos actuales reportan una baja sensibilidad en etapas iniciales de enfermedad, en especial para el LCR en donde el diagnóstico se dificulta por que las estructuras bacterianas no logran pasar la BHE. En el caso del líquido de ascitis este problema se acentúa de acuerdo con A. Ferrer quien menciona que aún en condiciones de normalidad posee actividad bactericida y es por esta razón que particularmente en este líquido es que autores como S. Comar recomienda utilizar volúmenes grandes de muestra para el análisis bacteriológico.

Un método que pudiera proponerse es la siembra de las muestras de líquidos corporales previa filtración por membrana del mismo sedimento utilizado para la siembra habitual la cual nos daría la ventaja de tener una mayor probabilidad de aislamiento de los patógenos.

Otro aspecto que no se toma en cuenta es tal y como lo menciona Dean A. Sehusen y colaboradores es que el previo tratamiento con antibióticos al paciente reduce ampliamente la sensibilidad del cultivo especialmente cuando se administra por vía endovenosa.

Aunque internacionalmente la aglutinación en látex se considera obsoleta y de baja especificidad, en nuestro país se utiliza todavía como una prueba del diagnóstico microbiológico por lo que se recomienda que esta prueba se realice sólo ante la inminente sospecha de meningitis bacteriana y si tanto la tinción de BAAR como los cultivos para su identificación han sido negativos a las 48 hrs. No obstante, debido a que es una prueba rápida de ejecutar (de 10 a 15 minutos) es mejor considerarla en la etapa inicial del diagnóstico pues su aportación puede ser de mayor utilidad que en tiempo intermedio de éste. Por otro lado y si el presupuesto del laboratorio lo permite es preferible utilizar la PCR por ser considerada actualmente como una técnica de alta sensibilidad y especificidad para *M. tuberculosis* y también para la identificación de virus.

En el estudio de líquidos corporales se da un peso mayoritario en el análisis citológico pero a diferencia de otros líquidos, en el líquido sinovial considero que la mayor fuente de información diagnóstica la posee el análisis microscópico por la cantidad de cristales que pueden localizarse y su correlación etiológica con enfermedades de alta incidencia en la población como la artritis. Es importante aclarar que también existe la posibilidad de encontrar uno o más tipos de cristales en una sola muestra indicando así una artropatía mixta. Cabe mencionar que el analista responsable de realizar este análisis debe desarrollar ya cierta experiencia en la observación de éstos debido a que suelen confundirse los artefactos con cristales y por eso es necesario conocer ampliamente tanto su forma como su refringencia.

Los criterios de Light pueden clasificar correctamente y con una alta sensibilidad (aproximadamente 98%) a los exudados pero este criterio puede falsamente confundir exudados con otro tipo de derrames pleurales cardiacos o hidrotórax hepáticos con una incidencia de alrededor de 30 %. Dichas aseveraciones han sido dadas por la sociedad española de neumología y cirugía torácica así como en el estudio reportado por Hassan y colaboradores y debido a esto es que se han tomado en cuenta más parámetros para resolver este problema como lo es el gradiente de albúmina que mediante varios estudios en distintas partes del mundo ha demostrado tener una alta eficiencia y precisión en la clasificación de exudados y trasudados. M. Porcel también propone que para evitar que exista una mala clasificación de los trasudados por falla cardiaca es conveniente medir los niveles de BNP en el líquido pleural. Debemos tomar en cuenta que los exudados pleurales aparecen como una manifestación inicial de muchas enfermedades pero también se dan como consecuencia de complicaciones de otros padecimientos y por eso es importante clasificarlos adecuadamente. Otro estudio realizado por D. Jiménez Castro y colaboradores ha evidenciado que la determinación de LDH y colesterol otorgan una sensibilidad equivalente al criterio de Light para dicha clasificación y que ésta es aplicable a varios los líquidos corporales.

En el caso de líquido de ascitis se introdujo el gradiente de albúmina suero-ascitis el cual tiene una mejor discriminación entre la presencia o no de hipertensión portal aunque no es del todo específica de la real causa de ascitis. Las evidencias obtenidas por Valdivia M., Plancarte R., Beg M y Espinoza M. demuestran que este

nuevo parámetro constituye un mejor método para la evaluación de ascitis comparado con el concepto tradicional establecido por Light. Además, los estudios realizados por Sahin, Vyankatesh y por la sociedad europea del estudio del hígado mostraron que por medio de la determinación del nivel de colesterol en el líquido de ascitis es posible distinguir entre la ascitis maligna y la tuberculosa lo cual genera amplias expectativas en el uso de este espécimen como una fuente más de diagnóstico.

Gaur DS y colaboradores establecieron que el diagnóstico de malignidad por medio del análisis de líquido pleural necesita ampliar su rango de efectividad porque el análisis celular es complicado tanto por la inexperiencia de los analistas así como por otros factores entre ellos la degradación celular y por eso no siempre es posible demostrar la presencia de células malignas en los derrames con características de malignidad. Esto dificulta en gran medida el diagnóstico en varias muestras, así que comprobaron que al utilizar el estudio de laboratorio conjunto a la biopsia pleural se aumenta la efectividad del diagnóstico. Así también lo establece otro estudio efectuado por CK Liam en pacientes asiáticos con resultados semejantes.

IV. CONCLUSIONES

- El análisis de los líquidos corporales constituyen una fuente importante en el diagnóstico de un gran número de enfermedades.
- Los líquidos corporales de mayor importancia para el diagnóstico médico son: Líquido cefalorraquídeo, sinovial, pleural, peritoneal y pericárdico.
- Las funciones principales de los líquidos corporales son lubricación, amortiguamiento, protección de órganos, transporte de nutrientes, desecho, reproducción y homeostasis.
- El estudio de los líquidos corporales en el laboratorio clínico comprende 4 rubros: Análisis físico, microscópico, químico y estudio bacteriológico.
- Es recomendable seguir las técnicas establecidas en las guías internacionales para obtener un resultado que brinde mayor confiabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Shirley R. Burke. Líquidos corporales. Composición y fisiopatología. Editorial interamericana. México 1973 Págs 1-27.
- 2 Bettelheim F.A, Brown W.H, Campell M.K. , Farrell S., Torres O.J. Introduction to general organic and biochemistry 2013. Brooks/cole. Décima edición. United States of America. Chapter 32.
- 3 Weyer S. , Röthlingshöfer L. , Walter M. , Leonhardt S. Evaluation of bioelectrical impedance spectroscopy for the assessment of extracellular body water. Acta polytechnica 2012; 52 (5): 120
- 4 Bianchetti M., Simonetti G.D., Bettinelli A. Body fluids and salt metabolism – Part I. Italian Journal of pediatrics 2009; 35:36. 1-3.
- 5 Gwinnutt M., Thorburn J. Body Fluids Part I. Anaesthesia tutorial of the week. World Federation of societies of anaesthesiologists 2010; 184. Págs 1-8
- 6 Mundt L.A., Sanahan Kristy. Graff's Textbook of routine uryanalysis and body fluids. Lippincott Williams & Wilkins. Second edition. Chapter 8 y 9 Págs 220 - 238. Chapter 11 págs 254-260.
- 7 Becker J.D. Textbook of anatomy and physiology. Openstax college 2013. Unit 5. Págs 2-4.
- 8 Maya L. C., Líquidos y electrolitos en la niñez primera parte: fisiología y fisiopatología. Revista PRECOP de la sociedad colombiana de pediatría 2009. Año 4. Módulo 1 págs 6 – 8.
- 9 Strassinger S.K., Schaub M., Análisis de orina y de los líquidos corporales. Editorial médica panamericana. 5ta edición .2010. págs. 179-238.
- 10 Kaplan L.A., Pesce A.J., Kamerzak S.C., Clinical chemistry. Theory, analysis , correlation. Mosby editorial. Fourth edition USA 2003. Chapter 41 .Págs 779-785.
- 11 Clinical and Laboratory Standars Institute (CLSI). Analysis of body fluid in chemical chemistry, approved guideline. CLSI document C-49-A . USA 2007. Págs 1-30.
- 12 Gregory P. Smith., Carl R. Kjeldsberg. Líquido cefalorraquídeo, sinovial y líquidos serosos del organismo. El laboratorio de diagnóstico clínico. Editorial Marban. 2005. Capítulo 19 .Págs 403 – 422.
- 13 Kale A.B, Modi M., Thorat A.P., Chalak S.S., Patil A.B., Evaluation of biochemical parameters to differentiate transudates from exudates in certain diseases. Journal of clinical and diagnostic research. 2010. June; (4): 2478-2479.
- 14 Light R.W. Pleural Effusions: The separation of trasudates and exudates. Egyptian journal of broncology vol 1. No. 1 2007. Págs 8, 9.
- 15 Funes Espinoza Bárbara, Panozo Meneces Adela, Cardoso Salinas Teresa. Bioseguridad y seguridad química en el laboratorio.Impresiones Poligraf .Primera edición. Bolivia 2006. Página VIII.

- 16 Péman Javier, Ramos Pilar, Iglesias Isabel. Procesamiento de las muestras de sangre, líquidos estériles y tejidos. Revista iberoamericana de micología 2001. ISBN 84-607-3050-6 Págs 6-1 a 6-6.
- 17 United Nations. Recommended guidelines or quality assurance and good laboratory practices. USA 1995.
- 18 Clinical and Laboratory Standars Institute.(CLSI) Body Fluid Analysis for cellular composition: Proposed guideline. CLSI document H-56-P. USA 2005. Págs 1-72
- 19 Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011 Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. Diario Oficial de la Federación 2010.
- 20 British thoracic society. BTS pleural disease guideline 2010. A quick reference guide. Thorax 2010 vol 65 supplement 2. Págs 1-12.
- 21 Sierra Amor Rosa Isabel. El laboratorio clínico y el control de calidad. Bioquímica 31;(2) 2006: 39-40.
- 22 Espinosa Muñóz Cecilia. Manual de Líquidos corporales versión 1. Editorial del Hospital General de México. 2006. Págs. 1-124.
- 23 Ventura Pedret S., Chueca Rodríguez P., Rojo Vizcaíno I., Castaño Vidriales J.S. Errores relacionados con el laboratorio clínico. Química clínica 2007; 26 (1): 23 – 28.
- 24 Ministry medical group of Saint Michael's Hospital. Laboratory policy and procedure for citology nongynecological body fluids. Canadá 2001.
- 25 Ajello Gloria, Boop Cheryl, Fackllam Richard, Elliot John, Knapp Joan, Popovic Tanja, Wells Joy, Dowell Scott. Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo. OMS. USA 2004.
- 26 Manual de instructivos de trabajo del Hospital Ángeles Lomas 2011. Citoquímico de líquidos orgánicos. Págs 2- 5.
- 27 Sevillano G., Cacabelos P., Cacho G.J., Alteraciones del líquido cefalorraquídeo y de su circulación: hidrocefalia, pseudotumor cerebral y síndrome de presión baja. Medicine 2011; 10 (71): 4814-4824.
- 28 Uribe Carlos Santiago, Arana Chacón Abraham, Lorenzana Pompo Pablo. Neurología. Fundamentos de medicina. Editorial corporación para investigaciones biológicas. Séptima edición. Colombia 2010. Capítulo 5. Página 109.
- 29 Silva. M., García B. M., Laboratorio de bioquímica. Técnico superior en laboratorio de diagnóstico clínico. España 2006. Editorial Eduforma. Primera edición. Capítulo 5. Págs. 97-111.
- 30 Bishop Michael L., Fody Edward P., Schoeff Larry. Clinical Chemistry. Principles, procedures, correlations. Editorial Lippincot Williams & Wilkins 5ta Ed. USA 2005. Chapter 27. Págs 560-566.
- 31 Netter F.H. Colección CIBA de ilustraciones médicas. Editorial Elsevier Masson 2005. Tomo 1.

- 32 Suardíaz Jorge, Cruz Celso, Colina Ariel. Libro de pruebas diagnósticas de laboratorio clínico. Editorial Ciencias médicas. Primera edición. Cuba 2004. Capítulo 32. Págs. 387-392.
- 33 Hernández E. Núñez C. Estudio del Líquido cefalorraquídeo. Revista de Diagnóstico Biológico. Volumen LIV. Nº 1. Enero-Marzo-2005. Págs.47-50.
- 34 Díaz Portillo J., Fernandez del Barrio M.T., Paredes Salido F. Aspectos básicos de bioquímica clínica. Ediciones Díaz de Santos S.A. Primera edición. España 2005. Págs 205 – 212.
- 35 Organización Panamericana de la salud. Manual de técnicas básicas para un laboratorio de salud. Serie paltex para técnicos y auxiliares no. 2. EUA. 1983. Págs 339 – 347.
- 36 De Hoyos Velázquez Carolina. Manual de líquidos corporales. Hospital san Rafael de Yolombo. 2008. Págs. 2-37.
- 37 Association of clinical biochemist in Ireland (ACBI). The biochemistry of body fluids.
- 38 Moghtaderi A., Alavi-Naini R. Sanatinia S,. Lumbar puncture: Techniques, complications and CSF analyses. Emergency medicine an international perspective. Edited by Michael Blavias. Irán 2012. Págs 43-58.
- 39 Verdú Alfonso. Carzorla María Rosario. Punción lumbar y la medición de la presión del líquido cefalorraquídeo. Ann Pediatr Contin 2004; 2(1): 45- 50.
- 40 Campuzano G.E., Buño S.A., Díaz G.R. Galán O.A., Guevara R.P., Malumbres S., Marín S. J.,Muñoz P.M., Navarro S.X., Saézn P.O., Oujo E., Del Río B.N. Recomendaciones para el estudio del líquido cefalorraquídeo. Revista de la sociedad española de bioquímica clínica y patología molecular. España 2010. Documento K fase 3 versión 2. Págs 12 -16.
- 41 Malarkey Louise M., Mc morrow Mary Ellen. Nurse´s manual of laboratory test and diagnostic procedure. W.B Saunders editorial. Second edition. USA 2000. Págs 301 – 341, 457 – 461, 703 -745.
- 42 Prieto Valtueña Jesús M. La clínica y el laboratorio. Editorial Elsevier-masson. 20va edición. España 2006. Capítulo 8. Págs 237 -275.
- 43 Rodríguez Santiago-segade Villamarín. Líquido cefalorraquídeo. Ed Cont Lab Clín 2006;9:49-56
- 44 Kölmel Hans W. Citología del líquido cefalorraquídeo. Salvat editores. España 1981. Págs 12-16
- 45 Valdes R., Kroft S., Ross C., Schnitzer B., Singleton M.D., Peterson M.D., Finn W. Cerebrospinal fluid involvement in mantle cell lymphoma. Mod Phatol. 2002; 15(10): 1073 -1079.
- 46 Gia-khanh nguyen M.D. Essentials of fluid cytology. Editorial of University of Alberta. Canada 2009. Págs 9 -71.
- 47 Aguirre Cruz María Lucinda, Sotelo Morales Julio. Tumores cerebrales volumen 1. Editorial médica panamericana Primera edición. México 2008. Págs 178- 181.

- 48 Yap YF Clementine., Choon Aw Tar. Revisiting cerebrospinal fluid (CSF) examination. Proceedings of Singapore healthcare. Volume 19. Number 4. 2010. Págs 355-358.
- 49 Govantes B.J., Lorenzo F.P., Govantes E.F., Manual Normon. Editado por laboratorios normon. Séptima edición. España 1999. Capítulo IV – VII. Págs 153 -172.
- 50 Dommash D., Mertens H.G., Odriozola L. Líquido cefalorraquídeo. Ediciones Toray. Primera edición. España 1983. Págs 83.
- 51 Marzia Puccioni Sholer. Cerebrospinal fluid oligoclonal IgG bands in multiple sclerosis: what does mean? Arq Neuropsiquiatr 2012: 70(8);569-570.
- 52 Kumar T.A., Punith K., Santosh R., Kumar R., Medha R., Sudhir U. Significance of cerebrospinal fluid C-reactive protein level in pyogenic and non pyogenic meningitis in adults. Journal, Indian academy of clinical medicine. JIACM 2010; 11(2): 112-115.
- 53 Ruiz Reyes Guillermo. Fundamentos de la interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. Editorial Panamericana. Primera edición. México 2004. Págs. 109 -123.
- 54 Huy N., Thao N., Diep D.T., Kikuchi M., Zamora J., Hirayama K. Cerebrospinal fluid lactate concentration to distinguish bacterial from aseptic meningitis: a systemic review and meta-analysis. Huy et al. Critical care 2010. 14:R240. Págs 1-15.
- 55 Haensch Carl-Albrecht. Cerebrospinal fluid magnesium level in different neurological disorders.
- 56 Codina M.E., Cueto M. Vicente D., Echavarría J.E., Prats G. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011;29(2):127–134
- 57 Grupo Catalán de citología hematológica. Citología de líquidos biológicos. Revista de la sociedad española de hematología y hemoterapia.
- 58 Hunt Rachel, Jenkins-Waud Jon. Evaluation of the tumor markers AFP and β hCG in cerebrospinal fluid. The biomedical scientist 2011. Págs 842 - 843.
- 59 Fujimaki T., Mishima K., Asai A., Tabuchi K., Kobayashi M. Suzuki I., Kirino T. Levels of β -human chorionic gonadotropin in cerebrospinal fluid of patients with malignant germ cell tumor can be used to detect early recurrence and monitor the response to treatment. Jpn J Clin Oncol 2000: 30 (7) 291-294.
- 60 Padrós S. G., Galán O. A., Guillén C. E., Hortas N. M., Marín S.J., Muñoz P.M. Noguera B. A. Recomendaciones para el estudio del líquido sinovial. Química clínica 2004: 23 (6) 434-437.
- 61 Rojas Cilia. Estudio del líquido sinovial. Guía de procedimientos en reumatología 2011. Págs. 41 – 47.
- 62 Denton John. Synovial fluid analysis in the diagnosis of joint disease. Diagnostic Histopatology 2012:18 (4) 159-168.
- 63 Martínez Castillo Araceli, Núñez Carlos, Cabiedes Javier. Análisis de líquido sinovial. Reumatol clin 2010: 6 (6): 316 – 321.

- 64 Calvo Cristina, Collado M. Paz, Díaz Delgado Rafael. Artrocentesis e infiltración articular. *An Pediatr Contin* 2006; 4(5): 316 – 319.
- 65 Ramos Niembro Francisco., Lom Orta Horacio. Reumatología: diagnóstico y tratamiento. Editorial el manual moderno. Primera edición. México D.F 2008. Capítulo 7. Pág 95.
- 66 Martínez de Albornoz Torrente P. Forriol F. Modificación del líquido sinovial en afecciones articulares de la rodilla. *Rev ESp Cir Ortop Traumatol.* 2012; 56 (2): 140 – 148.
- 67 Anaya Juan Manuel. Descripción molecular de TNF- α . *Reumatología* 2003; 19 (2): 112-120.
- 68 Suárez Martín R. Bautista Susel R. E. ,Serrano Espinoza I. Mecanismos inmunológicos y blanco de las lesiones inflamatorias. *Revista cubana de reumatología Volumen XIV. Número 19: 2012.*
- 69 López- Armada María José, Vamonde García Carlos, Carames Beatriz, Lires Berta Cillero- Pastor, Blanco García Francisco Javier. Evidencias de mecanismos de inflamación en osteoartritis. *Reumatol Clin.* 2007; 3 Supl 3: S23-7 25.
- 70 Comar Samuel R., Schutz Tamiryz., De araujo Machado N., Da silva Franciane. Haas Patricia. Análise citológica do líquido peritoneal. *Estud biol* 2010/2011 jan/dez; 32/33 (76-81): 73-79.
- 71 Pérez Torres E., Abdo Francis J.M., Bernal Sahagún F.,Kershenobich Stalnikowitz D. *Gastroenterología.* Editorial Mc Graw Hill Interamericana. Primera edición. México D.F 2012. Capítulos 49 y 65. Págs 403- 407, 545-546.
- 72 Noguera Bennaser A., Galán Ortega A. Guillén Campuzano E., Hortas Nieto M.L., Marín Soria J.L. Padrós Soler G. Recomendaciones para el estudio de líquidos biológicos serosos en el laboratorio de urgencias. *Química clínica* 2004; 23(3): 141-145
- 73 Seung-Moo Noh. Measurement of peritoneal fluid pH in patients with non-serosal invasive gastric cancer. *Yonsei medical journal* 2003; 44 (1): 45-48.
- 74 Plancarte R., Guillén M.R., Guajardo J., Mayer F. Ascitis en los pacientes oncológicos. Fisiopatogenia y opciones de tratamiento. *Rev. Soc. Esp. Del dolor* 2004 11(3): 156-162.
- 75 García Compeán D., Maldonado Garza Héctor J. *Gastroenterología y hepatología. Objetivos y su desarrollo.* Editorial el manual moderno. México D.F 2009. Capítulo 6.6 Págs 252- 257.
- 76 Sleisenger Marvin H., Fordtran Jhon S. *Enfermedades gastrointestinales. Fisiología, diagnóstico y tratamiento.* Tomo II. Editorial médica panamericana. 5^{ta} edición. Argentina 1994. Capítulo 99. Págs 2035-2045.
- 77 European Association for the study of the liver (EASL). EASL clinical practice guidelines of the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Journal of hepatology* 2010 vol 53. Págs 397 – 417.

- 78 Tadakata Yamada M.D. Manual de gastroenterología. Editorial Lippincott Williams & Wilkins. Segunda edición. España 2008. Capítulo 18. Págs 128, 129.
- 79 Guillén Núñez María del Rocío et al. Manejo paliativo de la ascitis en pacientes oncológicos. *Cancerología* 2008 (3): 149-157.
- 80 Beg M., Husain S., Ahmad N. Akhtar N. Serum/ascites albumin gradient in differential dignoses of ascites. *Journal Indian academy of clinical medicine* Vol 2. No. 1 and 2 . January-June 2001 págs 51-53.
- 81 Anchinmane V.T., Puranik G.V., The diagnostic separation of trasudates and exudates in ascitic fluid and pleural fluid. *Bombay hospital journal*. 2011 vol 53 no.2 págs 166-172.
- 82 Sachin B. Ingle., Chitra Hinge. Utility of ascitic fluid cholesterol levels in alignant ascites. Research article. *International journal of basic and applied medical sciences*. 2012 Vol. 2 (3). September – December págs 79 – 82.
- 83 A. Ferrer Marcellés, I. Gasser Laguna. Indicaciones del cultivo del líquido peritoneal y ascítico. *Medicine* 1998; 7 (78): 3644 -3646.
- 84 Gilberto Angel M. Interpretación clínica del laboratorio. Editorial médica panamericana. Séptima edición. Colombia 2006. Págs 392-395.
- 85 Mansour A. Parsi., Sherif N. Saadeh., Nizar N.Sein, Gary L. Davis, Rocío López, James boone, María R. Lepe, Linsheng Guo, Mohammad Ashfaq, Goran Klintmalm, Arthur Mccullogh. *Clinical advances un liver, pancreas and biliary tract*. *Gastroenterology* 2008;135: 803 -807002E
- 86 Cruz Mena, E. Moreno Bolton, R. Aparato respiratorio. *Fisiología y clínica*. Quinta edición 2008. Capítulo 8 Págs. 108-110.
- 87 Almonacid S.C., Álvarez M.C, Álvaro A. M. Manual de neumología clínica. Editorial Neumomadrid. Segunda edición. 2009. Capítulo 18. Págs. 288 – 300.
- 88 Martínón Torres Federico., Martínón Sánchez José María. Toracocentesis y drenaje pleural. *An Pediatr Contin* 2003; 1(3):159-65.
- 89 Porcel José M. Handling pleural fluid samples for routine analyses. *Biomedical research institute of Leida*. Págs 19- 22
- 90 Arnab Maji.,Malay Kumar M.,Debraj Jash.,Kaushik Saha.,Abhijit Kundu., Debrabata Saha.,Anupam Patra. Role of common investigations in aetiological evaluation of exudative pleural effusions. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2013.
- 91 Sociedad española de neumología y cirugía torácica (SEPAR). Normativa sobre el diagnóstico y tratamiento del derrame pleural. Editorial Respira. España. 2013. Págs. 2-31.
- 92 Najib M. Rahman., Stephen J. Chapman., Robert J.O. Davies. Pleural effusion: a structured approach to care. *British medical bulletin* 2004; 72: 31 - 47.
- 93 Light R.W. Clinical practice. Pleural effusion. *N Engl J med*. 2002 jun 20:346 (25): 1971-1977
- 94 T. Hassan. M. Al-alawi, S.H. Chotirmall, N.G. Mc Elvaney. Pleural fluid analysis: standstill or a work in progress? *Pulmonary medicine* 2012. Article ID 716235. Págs 1-8.

- 96 Gaur D.S., Chauhan N., Kussum A., Harsh M., Takelar M. Kishore S., Pathak V.P. Pleural fluid analysis – Role in diagnostic pleural malignancy. *Journal of Cytology* 2007; 24 (4) :183- 188.
- 97 Villena Garrido V. ¿De qué nos informa el líquido pleural? *Arch Bronconeumol* 2003; 39 (5): 193- 194.
- 98 Romero Serrano Octavio., Pascual Reynoso Francisco. *Neumología*. Cuarta edición. Editorial trillas. México D.F 2006. Capítulo 40. Págs 286 -293.
- 99 Porcel M. Pearls and myths in pleural fluid analysis. *Respirology* 2011: 16. Págs 44-52.
- 100 Bohumik S.K., Rahman M.M., Ibrahim M., Hiron M.M., Ahamad M. Evaluation of Adenosine desaminase (ADA) activity for diagnostics of tubercular pleural effusion. *Bangladesh J. Med Biochem* 2013; 6(2): 40 – 48.
- 101 Hoda Abu –Youssef, Sherif Amin, Hassan Amin, Essan Osman. Value of c-reactive protein in etiologic diagnosis of pleural effusion. *Egyptian journal of broncology* vol 4. No. 2 December 2010. Págs 124 -130.
- 102 Tetsuo Sato. Differential diagnosis of pleural effusions. *JMAJ* 49 (9-10): 315-319, 2006
- 103 Thylén A., Hjerpe A., Martensson G. Hyaluronan content in pleural fluid as a prognostic factor in patients with malignant pleural mesothelioma.
- 104 Vereá Hernando H.R., Masa Jiménez J.F., Dominguez Juncal L., Pérez García-Buela J., Martín Egaña M., Fontan Bueso J. Mening and diagnostic value of determining the lysozime level of pleural fluid. *Chest*. 91 (3): 342-345. 1987.
- 105 Clavería R. Cristian., Vergara G. Luis., Negrón M. Sandra., Luz López L. Carmen., Zelada P. Pamela., Carrasco O. Juan A. Derrame pericárdico, enfrentamiento clínico. *rev Chil Pediatr* 2009; 80 (3) 267 – 273.
- 106 Consejo de salubridad general. Guía de práctica clínica IMSS-463-11 diagnóstico y tratamiento de la pericarditis en el adulto. Págs 2- 11
- 107 Runge Marschal S., Ohman Magnus E., *Netter's cardiology*. Editorial Icon learning systems. First Edición. USA 2004. Chapter 35. Págs 334, 342.
- 108 Imazio Massimo., Adler yehuda. Management of pericardial effusion. *European heart journal* November 2012. Págs 1-13.
- 109 Tortora Gerard J., Derrickson Bryan. *Principios de Anatomía y fisiología*. Editorial médica panamericana. Treceava edición. México D.F 2011. Capítulo 20 Página 458.
- 110 Topol Eric J. *Tratado de medicina cardiovascular*. Editorial Lippincott Williams & Wilkins. Tercera edición. España 2008. Capítulo 26. Página 432.
- 111 Braunwald Eugene. *Tratado de cardiología*. Volumen II. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. Quinta edición. México D.F 2001. Capítulo 43 Págs 815 y 816.
- 112 Petcu D.P.,Petcu C., Popescu Carmen F., Alexandru D. Clinical and cytological correlations in pericardial effusions with cardiac tamponade. *Romanian Journal of morphology and embryology* 2009. 50 (2): 251-256.

- 113 Maisch Bernhard., Seferovic Petar M., Ristic Arsen D., Erbel Raimund., Rienmuller Reiner, Adler Yehuda., Tomkowski Witold Z., Thiene Gaetano., Yacoub Magdi H. Guidelines on the diagnostic and management of pericardial diseases of the European society of cardiology. *European heart journal* 2004; 25: 587 – 610.
- 114 Vargas Barrón Jesús. Tratado de cardiología. Sistema inter editores. México D.F 2007. Capítulo 15. Págs 683 y 684.
- 115 Guindo Josep., Sagrista Jaume. Derrame pericárdico. *C&AP* 2007; 2: 53 -59.
- 116 Hathila RN., Dudhat R., Saini P., Italiya S., Kaptan K., Shah M., Diagnostic importance of serous fluid examination for detection of various pathological conditions. *Int J Med Sci and public health* 2013; 2: 975 -979
- 117 Marín Jorge, Duque Mauricio, Uribe William, Medina Eduardo. Guías de manejo de enfermedad pericárdica. *Revista colombiana de cardiología* 2005. Volumen 11 número 7 Págs 322-324
- 118 Ege Turan, Hulusi Melih, Cikirikcioglu M, Arar Cavidam, Duran Enver. Analysis of C-reactive protein and biochemical parameters in pericardial fluid. *Yonsei medical journal* 2006. Vol 47 No. 3 págs 372 – 376
- 119 Marso Steven P., Griffin Brian P., Topol Eric J., Manual of cardiovascular medicine. Editorial Lippincott Williams & Wilkins. USA. 2000. Página 364
- 120 Tuon Felipe F., Da silva Vivian., Duboc Gisele M., Antonagelo Leila, Ho Yeh Li. The usefulness of adenosine deaminase in the diagnostic of tuberculous pericarditis. *Rev.Inst.Med. S. Paulo* 2007. 49(3):165 – 170
- 121 Lee Jae-Hwan, Lee Cheol W., Lee Sang-Gon, yang Hyun S. Hong Miyeong-ki, Kim Jae-Joong, Park Seon-wook, Chi Hyun-Sook, Park Seung-Jung. Comparison of polymerase chain reaction with adenosine deaminase activity in pericardial fluid for the diagnosis of tuberculosis pericarditis.
- 122 Martha A. Sánchez Rodríguez, Rosa Colunga Reyes, Ma. del Pilar Cedillo Martínez. Ecuaciones para eliminar la interferencia de sueros hemolisados, ictericos e hiperglucémicos en las determinaciones rutinarias de química clínica. *Bioquímica*, vol. 27, núm. 2, junio, 2002, pp. 46-52.
- 123 Giraldo Giraldo Antonio, Loango Chamorro Nelsy, Mejñia Doria Clara María. Laboratorio de bioquímica una visión práctica. Editorial de la universidad de Quindio. Colombia 2010. Capítulo 4 Págs 81-84
- 124 Burtis Carl A., Ashwood Edward L., Bruns David E. Tietz fundamentals of clinical chemistry. Elsevier Saunders Sixth edición. págs 312, 371,434.
- 125 Yang J.Y., Chien T.I., Lu J.Y., Kao J.T. Heparin interference in the cerebrospinal fluid protein assay measured in the pyrogallol red-molibdate complex. *Clin. Chim Acta* 2009. 408 (1-2): 75-78.
- 126 Henry Richard J., Cannon Donald C., Winkelman James. Química clínica. Principios y técnicas. Editorial Tood – Sanford. 20va edición. Volumen 2.2005
- 127 Harris C. Daniel. Análisis químico cuantitativo. Editorial Reverté. Tercera edición. España 2007. Págs 335 – 337

- 128 Rodak Bernadette F. Hematología. Fundamentos y aplicaciones. Editorial médica panamericana. Segunda edición. España 2005. Capítulo 13 págs 159 -161.
- 129 Castro Castillo Alfredo. Guerrero Bermúdez Olga. Técnicas de diagnóstico parasitológico. Segunda edición. Editorial de la universidad de costa rica 2006. Página 25.
- 130 Forbes Betty. Diagnóstico microbiológico. Editorial médica panamericana 2009. Capítulo 6
- 131 Willey Joane, Sherwood Linda, Wolverton Chris. Prescott's Microbiology. Editorial Mc Graw Hill Higer education. USA 2013.
- 132 Patiño Pedro E., Ramírez Edgar E. Manual de la facultad de ciencias exactas físicas y naturales. Colombia 2006.

EN INTERNET:

Liquido sinovial

www.casatorrecilla.com

[http://escuela.med.puc.cl/paginas/Cursos/tercero/AnatomiaPatologica/Imagenes AP/fotos942-947/943.jpg](http://escuela.med.puc.cl/paginas/Cursos/tercero/AnatomiaPatologica/Imagenes_AP/fotos942-947/943.jpg)

<http://images.rheumatology.org/viewphoto.php?imageId=2861717>

<http://images.rheumatology.org/viewphoto.php?imageId=2861722>

<http://images.rheumatology.org/viewphoto.php?imageId=2861719>

<http://images.rheumatology.org/viewphoto.php?imageId=4311645>

Liquido pleural.

<http://escuela.med.puc.cl/Publ/ManualSemiologia/260ExamenPulmonar.htm>

<http://anatomia.og.cr/pulmones-y-traquea/index.html>

<http://www.escuelapedia.com/pleura/>

<http://www.sccp.org.co/plantilas/Libro%20SCCP/Lexias/torax/quilotorax/quilotorax.htm>

Liquido peritoneal

<http://www.advancedrenaleducation.com/PeritonealDialysis/BasicPrinciplesofPD/AnatomyofthePeritoneum/tabid/150/Default.aspx>

<http://bio233notes.blogspot.mx/2010/08/chapter-1-notes.html>

<http://biancabelcherpa.blogspot.mx/2012/04/paracentesis-video.html>

<https://depts.washington.edu/hepstudy/modules.html>

<http://www.zambon.es/servicios/atlas/fichas/4082.htm>

<http://www.ciap-lab.com.ar/servicios.php>

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292009000300011

http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=2783147_1757-1626-2-192-2&req=4

<http://www.cito-latam.com/page/microfotografias/id/152/title/L%C3%ADquido-de-cavidades>

Líquido pericárdico

<http://www.medicinageriatrica.com.br/2007/08/19/>

<http://www.symptomlog.com/Health+Procedures/Pericardiocentesis.htm>

Anexos

<https://www.sysmex.com/la/es/Products/Hematology/XTSeries/Pages/XT-1800-Hematology-Analyzer.aspx>

<http://labymed.actualizaweb.com/wp-content/uploads/2013/09/LH-750.pdf>

<http://www.cellavision.com/?id=5244>