

CITOQUÍMICO DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO: RECOMENDACIONES PARA SU ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y REPORTE DE RESULTADOS.

CYTOCHEMICAL OF THE CHEPHALORAQUIDAL FLUID: RECOMMENDATIONS FOR ITS ANALYSIS, INTERPRETATION AND REPORT OF RESULTS.

Dayana Requena S^{1,2}, Alexander Gil T^{1,2}

ABSTRACT

The study of cerebrospinal fluid has been for years the most widely used test to diagnose central nervous system infections. Minimal variations in any of its chemical and cellular components can provide valuable information about subarachnoid space infections. Consequently, the analysis of the cerebrospinal fluid is of great importance for the diagnosis of the possible cause of infection and allows establishing the proper treatment early. In Venezuela, clinical laboratories do not have a standard protocol to perform cerebrospinal fluid cytochemistry and, for the cause of it, the purpose of this research was to compile the tests most frequently performed on samples of cerebrospinal fluid and provide some recommendations to the clinical laboratories perform cellular and chemical analysis of this liquid. The study of the cerebrospinal fluid makes is up of: the physical examination that visually assesses color and appearance; the chemical examination to know the concentration of various compounds of interest such as glucose, proteins, enzymes, among others; the microscopic examination whose purpose is to search for cells: red cells and leukocytes, and the microbiological study that identifies and isolates the infectious agent causing the disease. For the counting of leukocytes it is recommended to use manual methods (Neubauer chamber count), since under normal conditions low cellularity is observed, and any variation in it is considered pathological. The findings of the cerebrospinal fluid combined with the patient's clinical situation, allows differentiating viral from bacterial meningitis and deciding whether antibiotic treatment is required.

KEY WORDS: cerebrospinal fluid, cytochemistry, meningitis.

RESUMEN

El estudio del líquido cefalorraquídeo ha sido durante años el examen más utilizado en el diagnóstico de infecciones del sistema nervioso central. Variaciones mínimas en cualquiera de sus componentes químicos y celulares, pueden aportar información valiosa acerca de las infecciones en el espacio subaracnoideo. Por ello, el análisis del líquido cefalorraquídeo reviste gran importancia en el diagnóstico de una posible causa infecciosa y permite instaurar el tratamiento adecuado precozmente. En Venezuela, los laboratorios clínicos no cuentan con un protocolo estándar para realizar el citoquímico del líquido cefalorraquídeo, por esa razón el propósito de esta revisión fue consolidar los exámenes realizados más frecuentemente en muestras de líquido cefalorraquídeo y formular algunas recomendaciones para los laboratorios clínicos que realizan análisis químico y celular de este líquido. El estudio del líquido cefalorraquídeo lo conforman: el examen físico que visualmente valora color y aspecto; el examen químico para conocer la concentración de varios compuestos de interés como glucosa (glucorraquia), proteínas (proteinorraquia), enzimas, entre otros; el examen microscópico cuya finalidad es buscar células: hematíes y leucocitos, y el estudio microbiológico que identifica y aísla el agente infeccioso causante de la enfermedad. Para el conteo de leucocitos se recomienda emplear métodos manuales (recuento en cámara de Neubauer), debido a que en condiciones normales se observa baja celularidad, y cualquier variación en él se considera patológica. Los hallazgos del líquido cefalorraquídeo combinados con la situación clínica del paciente, permiten diferenciar las meningitis víricas de las bacterianas y decidir si se precisa tratamiento antibiótico.

PALABRAS CLAVE: : líquido cefalorraquídeo, citoquímica, meningitis.

Recibido: Marzo 07, 2020

Aprobado: Septiembre 09, 2020

INTRODUCCIÓN

¹Departamento Clínico Integral, Escuela de Bioanálisis "Prof. Omaira Figueroa H", Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo-Núcleo Aragua. ²Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco J. Triana-Alonso", Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo-Núcleo Aragua.

Dayana Requena. ORCID: 0000-0002-9337-0064

Alexander Gil T. ORCID: 0000-0003-1746-0129

Correspondencia: dayanacrs@gmail.com

El líquido cefalorraquídeo (LCR) es un líquido incoloro, cubre el encéfalo y la médula espinal, circula por el espacio subaracnoideo, los ventrículos cerebrales y el canal medular central; producido por los plexos coroides en el cerebro y en el espacio extracelular del parénquima cerebral¹. Entre sus funciones se encuentran: amortiguación ante cualquier agresión física, transferencia de sustancias entre la sangre y el tejido

nervioso, transporte de productos de la degradación metabólica al sistema venoso y es el vehículo de protección inmunológica para el sistema nervioso central (SNC)².

El agua constituye el 99% de la composición del LCR, el cual tiene una osmolaridad de 281 mOsm/L, parecida a la del plasma. Aproximadamente 80% de las proteínas del LCR proceden del suero y 20% se producen intratecalmente. Las proteínas son transportadas desde el suero al LCR por pinocitosis o por transportadores específicos y su concentración depende del radio molecular, la carga, la concentración plasmática de la proteína y el estado funcional de la barrera hematoencefálica. Las proteínas específicas del LCR como la proteína básica de la mielina, la proteína ácida fibrilar glial o la beta-2-transferrina constituyen solo el 1-2% de las proteínas totales en el LCR normal y la albúmina es la proteína que se encuentra en mayor concentración (entre 12 y 32 mg/dL)³.

En el adulto el volumen total de LCR oscila entre 90 a 150 mL y en recién nacidos varía entre 10 a 60 mL¹. El LCR se obtiene mediante una técnica que se denomina punción lumbar. Se realiza introduciendo un catéter en el espacio subaracnoideo espinal en la zona lumbar, a nivel de las vértebras lumbares L3-4 o L4-5. Son menos comunes la punción cisternal, en la que se inserta la aguja entre el atlas y el hueso occipital para extraerlo de la cisterna magna y la punción ventricular que implica la punción directa de los ventrículos laterales del cerebro insertando la aguja a través de la fontanela en los neonatos, o por el orificio del trepano en los demás casos^{4,5}.

Cualquiera de las técnicas empleadas para la recolección del LCR, corresponde a un procedimiento estrictamente médico, previa evaluación clínica para descartar hipertensión endocraneana¹.

Se recomienda recolectarlo en cuatro tubos estériles, provistos de tapas herméticas, el primero de los cuales es para exámenes químicos e inmunológicos, el segundo y el tercero para pruebas microbiológicas y estudios moleculares para agentes infecciosos y el cuarto para recuento de células sanguíneas. Idealmente los tubos deben ser de plástico (polipropileno) para evitar adherencias de las células de la muestra al vidrio del tubo¹. Sin embargo, dada la complejidad de la toma de la muestra, es común que el laboratorio reciba solo un tubo para realizar el estudio completo del LCR.

El estudio del LCR ha sido durante años una de las principales fuentes de información diagnóstica para

infecciones del SNC. Variaciones mínimas en cualquiera de sus componentes químicos y celulares, pueden aportar información valiosa acerca de las infecciones en el espacio subaracnoideo⁶. Por ello, este análisis reviste gran importancia en el diagnóstico de una posible causa infecciosa y permite instaurar el tratamiento adecuado precozmente⁷. El estudio del LCR lo conforman: el examen físico que visualmente valora color y aspecto; el examen químico para conocer la concentración de varios compuestos de interés como glucosa (glucorraquia), proteínas (proteinorraquia), enzimas, entre otros; el examen microscópico cuya finalidad es buscar células: hematíes y leucocitos, fundamentalmente; por último, el estudio microbiológico identifica y aísla el agente infeccioso causante de la enfermedad. Además existe la tendencia a relacionar variables citoquímicas del LCR con variables sanguíneas para proveerle mayor utilidad a las mismas en el diagnóstico final de la patología⁸.

Por lo expuesto, se planteó realizar una revisión del tema con la finalidad de consolidar los exámenes realizados más frecuentemente en muestras de LCR, con recomendaciones para los laboratorios clínicos que realizan análisis químico y celular de este líquido, contribuyendo a la estandarización, y proporcionando información relevante sobre valores de referencia, correcta manipulación, transporte y análisis. En la mayoría de los casos se seleccionaron algunas metodologías que pueden efectuarse en laboratorios con infraestructura básica, con lo cual se espera contribuir al estudio del LCR y proporcionar algunas herramientas de interés para su adecuada clasificación y análisis.

Para la revisión se efectuó una búsqueda del tema utilizando el buscador Google Académico y la base de datos PubMed-Medline, los términos utilizados en español e inglés, fueron: líquido cefalorraquídeo, LCR; citoquímico, estudio bioquímico, meningitis, cerebrospinal fluid, biochemical analysis. Se recopilaron y analizaron un total de 60 publicaciones entre libros, artículos originales y de revisión desde 1981 hasta 2019.

Estudio Macroscópico del LCR

El aspecto del LCR tras realizar una punción lumbar puede dar una idea inicial diagnóstica. En condiciones normales, es incoloro y transparente, por lo que se le caracteriza como agua de roca; esta apariencia puede variar, dependiendo de algunas patologías, proporcionando valiosa información sobre la significancia clínica; por ejemplo, un líquido turbio o de aspecto lechoso, puede indicar un incremento del contenido proteico o lipídico, pero también ser indicativo de infección bacteriana por la presencia de células y/o

bacterias⁹. El aspecto del LCR se debe reportar como claro o transparente (aspecto normal), ligero turbio, turbio o purulento. Cuando existen patologías su color puede ser xantocrómico, blanquecino o verdoso. Es blanquecino ante la presencia de leucocitos y bacterias, y en procesos crónicos como algunas meningitis sépticas o tuberculosas, poliomielitis y encefalitis¹⁰.

La xantocromía es la coloración amarilla, naranja o rosada del LCR, la mayoría de las veces es causada por la lisis de hematíes que resulta en la degradación de la hemoglobina a oxihemoglobina, metahemoglobina y bilirrubina. La xantocromía está presente en más de 90% de los pacientes dentro de las 12 horas posteriores al inicio de hemorragia subaracnoidea y en pacientes con niveles séricos de bilirrubina entre 10 y 15 mg/dL¹¹. La xantocromía en recién nacidos prematuros sanos, puede producirse como consecuencia de los efectos combinados de la inmadurez de la barrera hematoencefálica y las concentraciones fisiológicamente elevadas de bilirrubina y proteínas en sangre¹². Si el LCR es xantocrómico, se sugiere reportar el color después de centrifugar, con presencia o ausencia de botón hemático, ya que permite diferenciar procesos hemorrágicos intracraneales de hemorragia accidental o traumática.

Normalmente, el LCR no presenta coagulabilidad, esto ocurre en condiciones patológicas, en presencia de un alto contenido de proteínas¹³. El líquido procedente de una punción traumática puede formar coágulos debido al vertido de fibrinógeno plasmático en el propio LCR, mientras que el LCR sanguinolento causado por una hemorragia intracraneal no contiene suficiente fibrinógeno para coagular. Las enfermedades en las que el daño de la barrera hematoencefálica permite una mayor filtración de proteínas y de factores de coagulación también causan la formación de coágulos, aunque normalmente no producen un líquido sanguinolento (meningitis, síndrome de Froin, etc.)^{14,15}. La coagulabilidad se reporta como presente o ausente. Cuando el líquido presenta coágulos, se debe indicar en el reporte que el conteo celular puede estar subestimado, ya que algunas células quedan atrapadas en el interior de los coágulos, causando una falsa disminución en el conteo celular.

Estudio Microscópico del LCR

El estudio microscópico del LCR debe ser analizado en la búsqueda cualitativa o cuantitativa de células hematológicas o células malignas. La primera determinación a realizar es el recuento celular, así el laboratorio determinará cuantos leucocitos se encuentran por unidad de volumen (mm^3 o μL)¹, y debe

efectuarse lo más pronto posible procurando que no pase de una hora después de haberse realizado la punción, ya que la lisis celular ocurre rápidamente¹³.

Examen directo: previo al recuento celular por unidad de volumen, se realiza el examen directo del LCR colocando una gota de líquido entre lámina y laminilla y se observa al microscopio en objetivo 40X. Se reporta el número de leucocitos y hematíes presentes por campo, en rangos de dos a tres células¹. Se recomienda observar el sedimento del líquido (posterior a su centrifugación) para concentrar algunos elementos celulares que puedan estar escasos y no sean claramente visibles en la observación directa de la muestra.

Contaje celular: como el recuento normal de leucocitos en el LCR es muy bajo, se recomienda que su análisis se realice de forma manual. Un aumento de leucocitos puede ocurrir en infecciones (virales, bacterianas, micóticas y parasitarias), alergias, leucemia, esclerosis múltiple, hemorragia, traumatismo, encefalitis, y en síndrome de Guillain-Barré¹.

El LCR del adulto normal no contiene más de 5 leucocitos por μL , considerándose un conteo superior a esta cifra sugestivo de alteración del SNC o de las meninges¹⁶; sin embargo, estos valores varían con la edad. (tabla 1). Generalmente se cuenta tanto las células nucleadas como los hematíes, utilizando un hemocitómetro o cámara de Neubauer. Si el recuento de células nucleadas es demasiado elevado se debe proceder a diluir la muestra con solución salina fisiológica o solución de Turk (ácido acético glacial al 2%, violeta de genciana 0,01%)¹¹. Esta última permite la lisis de los hematíes presentes en la muestra.

Procedimiento para el conteo manual del LCR reportado por Gómez *et al* ¹:

1. Homogenice el LCR mezclando suavemente por inversión el tubo que contiene la muestra para suspender las células sedimentadas. La agitación vigorosa puede destruir las células y afectar el recuento celular.
2. Use una pipeta para transferir el LCR a la cámara de Neubauer. Llene el espacio entre el cubre-hematímetro y la cámara de recuento de glóbulos evitando las burbujas de aire. Cargue ambos retículos de la cámara.
3. Mantenga la cámara de Neubauer en una cápsula de Petri con papel filtro húmedo por 5 minutos hasta que los leucocitos sedimenten.

Tabla 1. Composición normal del Líquido Cefalorraquídeo.

	Rango Normal
Color	Claro
Densidad/pH	1.006 – 1.007 / 7,4
Presión	50 – 200 mm H ₂ O
Contaje de Hematíes	Nulo
Contaje de Leucocitos	Recién Nacido: hasta 30 cél /mm ³ Niños: 5 – 10 cél /mm ³ Adultos: 0 – 5 cél /mm ³
Tipo de Leucocitos	Mononucleares, entre el 63 y 99% de las células son Linfocitos
Proteínas en LCR	En adultos: 15 – 40 mg/dL Niños: < 70 mg/dL
Glucosa en LCR	50 – 80 mg/dL (aproximadamente 70% del valor de glucosa en sangre)
Cultivo Microbiológico	Ausencia de microorganismos

Fuente: modificado de Hrishi y Sethuraman, 2019¹⁶

4. Coloque la cámara de Neubauer en la platina del microscopio y fíjela con las abrazaderas; use objetivo 10X de aumento para visualizar el área de lectura, ajuste la iluminación y el condensador para obtener un mejor contraste celular.

5. Constate que la celularidad es semejante en ambos retículos de la cámara (Figura 1). Cualquier discordancia importante o signo de desecación invalida el recuento.

Es importante mencionar que siempre debe existir correlación entre el examen directo y el recuento en cámara. En esta revisión presentamos algunas recomendaciones para el recuento de leucocitos en cámara de Neubauer:

1. En general, si hay presencia de hematíes se recomienda utilizar el objetivo 40X para diferenciar los tipos de células presentes.

2. Si el LCR es transparente e incoloro, y en el examen directo se observó poca celularidad, el contaje se realiza con la muestra sin diluir y se cuentan los nueve cuadrantes (todo el retículo) de la cámara de Neubauer (Figura 1).

3. Si el LCR esta turbio o ligeramente turbio, el contaje se realiza con la muestra diluida (hasta 1/10, no se recomiendan diluciones mayores para el LCR) con solución fisiológica 0,9% o con solución de Turk, y se cuentan los cuatro cuadrantes de las esquinas de la cámara de Neubauer. Es importante considerar el factor de dilución al momento de calcular el recuento de células por mm³.

Un problema que puede surgir en la interpretación del LCR se produce cuando una punción lumbar es traumática. En estos casos la valoración directa de la citología no es correcta y hay que hacer corrección

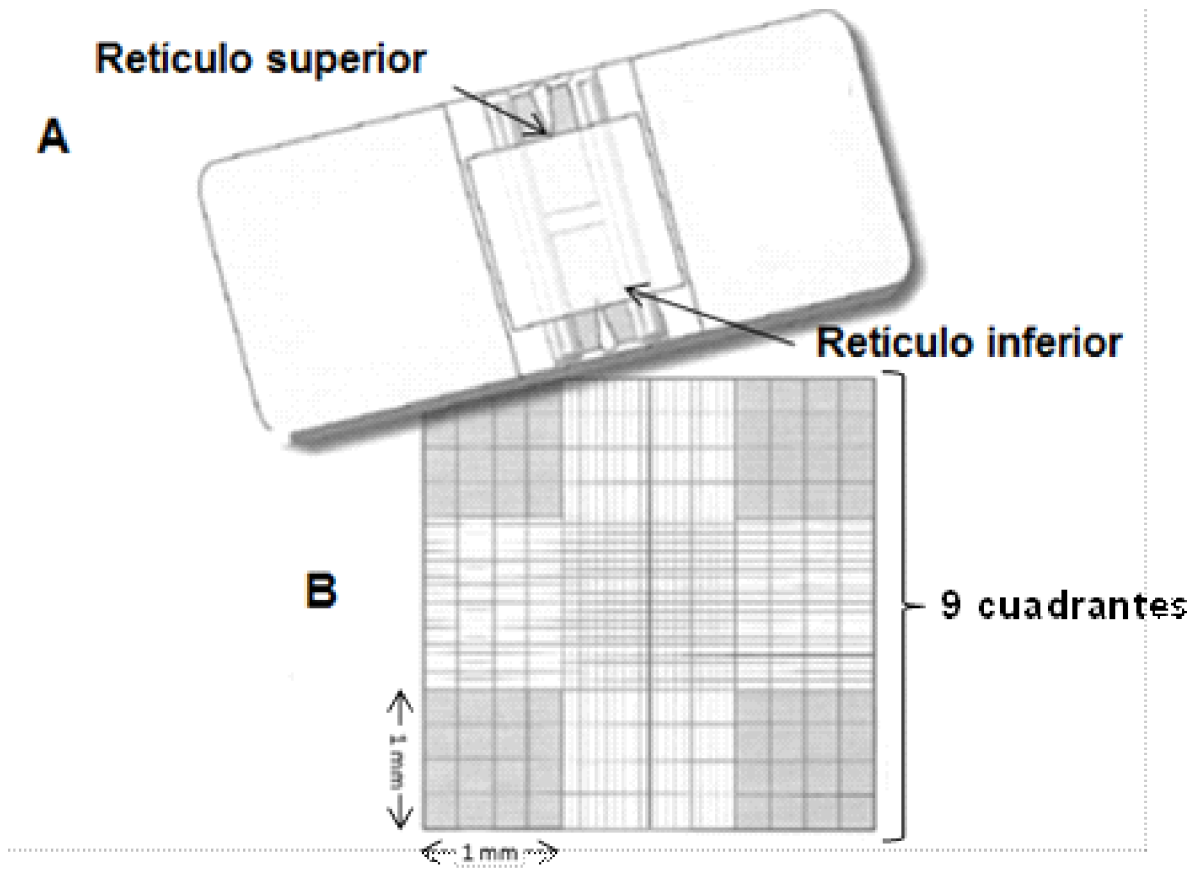


Figura 1. Cámara de Neubauer. A) Visión macroscópica donde se muestran las superficies reticuladas (retículos). B) Visión microscópica donde se observan los nueve cuadrantes para realizar el conteo celular. Las dimensiones de cada cuadrante de la cámara son: 1 mm de longitud, 1 mm de ancho y 0,1 mm de profundidad.

Fuente: Gómez *et al.* 2016¹

del número de leucocitos obtenidos en el LCR^{17,18}. Al respecto, Montero Reguera⁹ reporta que esta corrección se hace de dos maneras, dependiendo del resultado del hemograma:

- Si el recuento de hematíes y leucocitos en sangre es normal, se descuenta un leucocito en LCR por cada 700 hematíes en LCR.
- Si el recuento es anormal: leucocitos reales en LCR = leucocitos en LCR - (Leucocitos en sangre x Hematíes en LCR)/Hematíes en sangre.

Rizvi y Moein-Afshari¹⁹ sugieren incorporar el factor 0,5 a la fórmula anterior, quedando de la siguiente manera: leucocitos reales en LCR = 0,5 x [leucocitos en LCR - (Leucocitos en sangre x Hematíes en LCR)/Hematíes en sangre].

Al combinar los hallazgos del LCR, el hemograma y la situación clínica, se pueden diferenciar las meningitis víricas de las bacterianas y decidir si se precisa tratamiento antibiótico o no.

Fórmula diferencial: Se debe evitar la clasificación simple en porcentaje de mononucleares y polimorfonucleares. La fórmula diferencial de leucocitos ayuda a establecer la línea celular predominante. Es el caso en que la infección viral se asocia con aumento de linfocitos, y las infecciones bacterianas y fúngicas se asocian con un aumento de neutrófilos. La fórmula diferencial también puede revelar eosinófilos que se asocian a alergias y macrófagos con bacterias fagocitadas (indicando meningitis)¹.

En el recuento diferencial de las células en un líquido biológico se deben considerar los porcentajes

de todas las células nucleadas observadas. Así, se incluirán en el recuento diferencial a 100 elementos los porcentajes de neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, células mesoteliales, macrófagos y otros tipos celulares, tales como células plasmáticas o células atípicas²⁰.

La pleocitosis siempre es patológica, sin embargo, un número normal de elementos no excluye un hallazgo citológico patológico. Debido a esta razón, la observación del frotis para el recuento diferencial pertenece a los parámetros básicos de LCR. La tinción de Romanowsky (Giemsa y Wright son las más utilizadas en el laboratorio clínico) permite identificar bien líneas de leucocitos individuales y la activación de la población de linfocitos, incluidas las formas plasmocíticas en las inflamaciones del SNC²¹.

Para ello se debe centrifugar la muestra de LCR (volumen relativo de 0,5 mL) a 1.000 rpm durante 4 minutos, se separa el sobrenadante dejando una cantidad suficiente para reconstituir el sedimento y realizar la extensión. Se realiza la tinción siguiendo las instrucciones empleadas para el hemograma y se observa al microscopio en objetivo de inmersión (100X) diferenciando las células de acuerdo al hallazgo de los leucocitos encontrados. Se debe expresar cada tipo celular en porcentaje¹.

Los constituyentes celulares del LCR normal incluyen linfocitos, monocitos y ocasionalmente, células neuroectodérmicas. En adultos normales, más de dos tercios de las células son linfocitos morfológicamente similares a los de la sangre que cuando se activan por estímulos antigénicos, se transforman en linfocitos activados, y desarrollan un citoplasma más abundante y cambios en el patrón de la cromatina nuclear. Los monocitos constituyen aproximadamente 14% de las células nucleadas del LCR normal¹¹.

Por lo general, la citología del LCR describe pleocitosis linfocítica en procesos inflamatorios serosos y pleocitosis granulocítica en meningitis purulenta. El hallazgo de macrófagos es muy importante en la hemorragia subaracnoidea; las células malignas están presentes en la infiltración maligna de las meninges, provocada por un origen hematológico o carcinomatoso²¹. Las células neuroectodérmicas también pueden aparecer en LCR normales y patológicos y provienen de las meninges y sus células delimitadoras o por contacto con el líquido ventricular. Son las células que más aparecen en este líquido y sobre todo en muestras de niños¹¹.

Se carece de un sistema propio para valorar la descripción y el reporte citológico del LCR²⁰; sin

embargo, cuando el conteo celular es bajo y no es posible calcular el porcentaje de células presentes, se recomienda reportar de forma cualitativa, por ejemplo: escasos elementos mononucleares presentes, y de esta manera se brinda información más completa sobre el tipo de célula presente, así no estén en suficiente cantidad como para hacer el reporte cuantitativo.

Las recomendaciones para el reporte de resultados del estudio macroscópico y microscópico se resumen en la tabla 2.

Estudio Bioquímico del LCR

El estudio bioquímico del LCR, principalmente de la glucosa y proteínas, también es de gran utilidad en el diagnóstico de distintas enfermedades⁹.

Proteinorraquia: Las proteínas normalmente difunden desde el plasma al LCR a través de la barrera hematoencefálica y aunque la mayor parte de las proteínas séricas se hallan también en el LCR, incluyendo el fibrinógeno y lipoproteínas en concentraciones bajas, la proteína con mayor presencia es la albúmina. La concentración de proteínas varía ligeramente con la edad, aunque durante el período neonatal la concentración es mucho mayor (30-140 mg/dl), en el adulto joven descende su concentración hasta 15-40 mg/dl¹².

Un incremento en el contenido de proteínas en el LCR es índice muy confiable de la existencia de un proceso patológico, debido a que toda lesión que afecta el tejido cerebral o la barrera hematoencefálica, provoca un aumento que puede ser ligero (45 - 75 mg/dL), moderado (75 - 100 mg/dL), marcado (100 - 500 mg/dL), o muy marcado (500 - 3.500 mg/dL)¹³.

Las lesiones mencionadas pueden ser de origen bacteriano (meningitis purulenta, meningitis tuberculosa, etc.), viral (herpesvirus, adenovirus, papovavirus, picornavirus, rhabdovirus, etc.), degenerativo (esclerosis múltiple, epilepsia degenerativa, enfermedad vascular cerebral, ciertas neuropatías y encefalopatías degenerativas), micótico (criptococosis, aspergilosis, candidiasis, blastomicosis, mucormicosis), entre otros (hemorragia cerebral, trombosis cerebral, tumor cerebral, etc.). La presencia de hiperproteinorraquia >550 mg/dL sin pleocitosis (<10 mononucleares /mm³) es muy indicativa, aunque no diagnóstica, de síndrome de Guillain-Barré²².

La electroforesis de proteínas permite la evaluación de las proteínas que se encuentran en concentraciones elevadas. La presencia de bandas

Tabla 2. Recomendaciones para el reporte de resultados del estudio macroscópico y microscópico de Líquido Cefalorraquídeo.

Parámetro	Reporte
Aspecto	Claro o transparente, ligero turbio, turbio, purulento
Color	Incoloro*, Xantocrómico (amarillo, rosado o naranja), blanquecino, verdoso
Color después de centrifugar	Incoloro, Xantocrómico (amarillo, rosado o naranja), blanquecino, verdoso
Botón hemático	Presente o ausente
Examen directo	Leucocitos por campo ^a , hematíes por campo ^a , bacterias presentes o ausentes, levaduras presentes o ausentes
Contaje celular	Número de células contadas por mm ³ o µL
Recuento diferencial	Se reporta en % según el tipo de célula observada y se incluyen todas las células nucleadas
Coloración de Gram	Si es negativa: no se observaron bacterias Si es positiva: morfología (coco, bacilo, coco bacilo), color (Gram positivo o Gram negativo), disposición (cocos aislados, en pareja, en cadena o en forma de racimo) y cantidad (escasos, moderados o abundantes) Se debe reportar la presencia de leucocitos polimorfo nucleares o mononucleares y la cantidad observada (escasos, moderados o abundantes)

*Cuando el LCR es transparente e incoloro, se reporta como "agua de roca"

^a%En un rango de 2 a 3 células por campo

Fuente: elaboración propia

oligoclonales es típica de la esclerosis múltiple; un pico monoclonal se relaciona con gammapatía monoclonal²³.

La disminución de la concentración de proteínas en el LCR por debajo de 15 mg/dl puede ser debida a fuga de LCR por causa de un desgarramiento provocado por un traumatismo o punción lumbar previa, o una rinorrea u otorrea de LCR; también por el aumento de la presión intracraneal que puede provocar una mayor filtración de LCR a través de las microvellosidades aracnoideas¹².

Los métodos rutinarios más frecuentes para cuantificar el contenido proteico del LCR son los métodos

turbidimétricos y nefelométricos, además son los más recomendables por su buena precisión, utilización de escasa cantidad de muestra y manejo de un adecuado control de calidad interno. También podrían usarse otras metodologías como cuantificación de proteínas, por el método de precipitación de ácido sulfosalicílico o tricloroacético. Este último es más recomendado por precipitar tanto albúmina como globulinas¹. Una alternativa más reciente es el uso del método de Rojo de Pirogalo¹, el cual es un método basado en el desarrollo de un complejo colorido estable fácilmente medible. La sencillez de este método ha permitido que pueda ser automatizado en la mayoría de los analizadores disponibles actualmente¹³.

Glucorraquia: la concentración de glucosa en el LCR es el resultado de un proceso dinámico de equilibrio con la glucosa plasmática a través de transporte activo en las células endoteliales y simple difusión a través de un gradiente de concentración entre el plasma y el LCR¹. La concentración normal oscila entre 50 -80 mg/dL; en pacientes con glucosa sérica entre 70 - 120 mg/dL se estima que es aproximadamente igual al 60 - 80% del valor hallado en sangre. Por ello, se recomienda determinar conjuntamente glicemia y glucorraquia empleando los métodos habituales para la cuantificación de glucosa¹³.

Concentraciones elevadas de glucosa en el LCR son siempre consecuencia de concentraciones elevadas en plasma y suele estar relacionada con la Diabetes mellitus y otros estados del paciente que cursen con elevación de la misma. La disminución de la concentración de glucosa en el LCR puede deberse a una deficiencia en el mecanismo de transporte activo, una mayor utilización de la glucosa por el SNC, tejidos, leucocitos, eritrocitos, microorganismos o a la existencia de una hipoglicemia prolongada¹². Los hallazgos de bajos niveles de glucosa en LCR, acompañado de un incremento en el recuento de leucocitos y un alto porcentaje de neutrófilos, son indicativos de meningitis bacteriana. Si los leucocitos predominantes son linfocitos en lugar de neutrófilos, se sospecha de una meningitis tuberculosa. También pueden producir disminución de la glucorraquia en tumores, sarcoidosis, cisticercosis y otros parásitos, sífilis meníngeas, entre otras. Por otra parte, si los valores de glucosa en el LCR son normales, con incremento del número de linfocitos, el diagnóstico está a favor de una meningitis viral. Estos patrones clásicos pueden no estar presentes en todos los casos de meningitis, pero cuando lo están pueden ser de utilidad¹.

Cloro: la concentración de cloro en el LCR es mayor que en el plasma, este contiene alrededor de 120 - 127 mmol/L; en todos los tipos de meningitis agudas, la cifra de cloro disminuye, acentuándose este descenso casi en forma constante en la meningitis tuberculosa. Para algunos, valores de cloro menores de 80 mmol/L, se consideran patognomónicos de tuberculosis cerebral¹³.

Lactato: la utilidad de medir los niveles de lactato en LCR ha sido objeto de una investigación detallada. Las concentraciones en LCR son en gran medida independientes del lactato sérico ya que el lactato se ioniza a valores de pH normales y su transferencia a través de la barrera hematoencefálica está limitada en la forma ionizada. La glucólisis cerebral es la fuente principal de lactato en LCR, aunque la elevación del

lactato en LCR es un hallazgo inespecífico y ocurre en varias enfermedades como la meningitis, lesión cerebral hipóxica, hemorragia subaracnoidea y lesión en la cabeza²⁴.

Los niveles más altos de lactato de LCR se encuentran en la meningitis bacteriana en comparación con la meningitis aséptica y se ha informado que los niveles en LCR > 4,2 mmol/L son útiles para distinguir la meningitis bacteriana y viral. Sin embargo, dado que el lactato en LCR permanece elevado durante un período prolongado a pesar del tratamiento exitoso, no es un marcador útil de respuesta a la terapia. Como el D-Lactato es solo un producto del metabolismo bacteriano, los niveles en LCR de este metabolito se han utilizado como un marcador de meningitis bacteriana con una sensibilidad del 92% y una especificidad del 99%^{24,25}.

Lactato Deshidrogenasa (LDH): la LDH se encuentra distribuida en casi todos los tejidos del organismo debido a esto, su concentración en sangre se eleva en muchos procesos: infarto agudo de miocardio, alteraciones hepáticas y renales, anemia hemolítica, traumatismos, neoplasias, etc. Al encontrarse también en el cerebro, puede aumentar su concentración en alteraciones del SNC como las meningitis²⁶.

El intervalo de referencia de la concentración catalítica de LDH en el LCR es 5-25 UI/L (una décima parte de la que se encuentra en plasma) y precede del paso por difusión pasiva desde la sangre a través de la barrera hematoencefálica, difusión desde el tejido cerebral dañado y de los elementos celulares (bacterias, leucocitos y células tumorales) que contienen LDH²⁷.

Las concentraciones catalíticas elevadas de LDH ayudan en el diagnóstico diferencial de las meningitis bacterianas y víricas, ya que casi 90% de las meningitis bacterianas la concentración de esta enzima se encuentra elevada. Cuando se produce una contaminación de la muestra por punción traumática también podemos encontrar concentraciones aumentadas de LDH, así como en algunas meningitis víricas, donde podría constituir un signo de mal pronóstico. También hallamos aumentos de esta magnitud en procesos neurológicos en los que se produce muerte celular²⁸.

Transaminasa Oxalacética (TGO): El aumento de la TGO tiene valor pronóstico, ya que cuando éste es discreto (<24U/L) los pacientes evolucionan favorablemente y, cuando, por el contrario, el aumento es considerable (>24 U/L), se presenta una alta incidencia de complicaciones. Su valor de referencia debe ser menor a 21 U/L⁶.

Tabla 3. Análisis de Líquido Cefalorraquídeo según el tipo de meningitis.

<i>Análisis de LCR</i>	<i>Tipo de meningitis</i>				
	<i>Bacteriana</i>	<i>Tuberculosa</i>	<i>Viral</i>	<i>Micótica</i>	<i>Aséptica</i>
Presión	Aumentada	Aumentada	Normal o Aumentada	Normal o levemente Aumentada	Aumentada
Aspecto	Turbio	Turbio	Claro	Claro	Claro o turbio
Glucosa	< 40 mg/dL	Baja	Normal o levemente baja	Baja o normal	Baja
Proteínas	Elevadas	Sumamente elevadas	Normal o levemente elevadas	Normal o levemente incrementadas	Elevadas
Lactato	Elevado (> 6 mmol/L)	Elevado	0–6 mmol/L	Normal	Normal
Hematíes	Aumentados	Aumentados	Normal	Normal	Aumentados
Leucocitos	10-2000/ mm ³	Elevados, pero < 500/ mm ³	>100/ mm ³	10–50/ mm ³	Levemente elevados
Tipo de Leucocitos	Neutrófilos	Linfocitos	Linfocitos	Linfocitos	Neutrófilos
Tinción de Gram	Positivo	Bacilos ácido alcohol resistentes	Negativo	Negativo Tinta india para esporas y hongos	Negativo
Cultivo Microbiológico	Positivo	Positivo (el rendimiento es alto en las primeras etapas)	Negativo	Positivo	Negativo
Biomarcadores	Proteína C reactiva elevada	Anticuerpos en LCR (detección de anti-M37Ra, anti-antígeno 5, y anti-M37Rv). Elevación en LCR de Procalcitonina, y ADA.	Elevación leve de Proteína C reactiva y ADA		Vistos después de una neurocirugía o uso de antibiótico
Reacción en Cadena de la Polimerasa		Ayuda en la identificación de organismos incluso después de comenzar los antibióticos.	Ayuda en la identificación de organismos		

Fuente: Hrishi y Sethuraman, 2019¹⁶

MARCHA ANALÍTICA DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

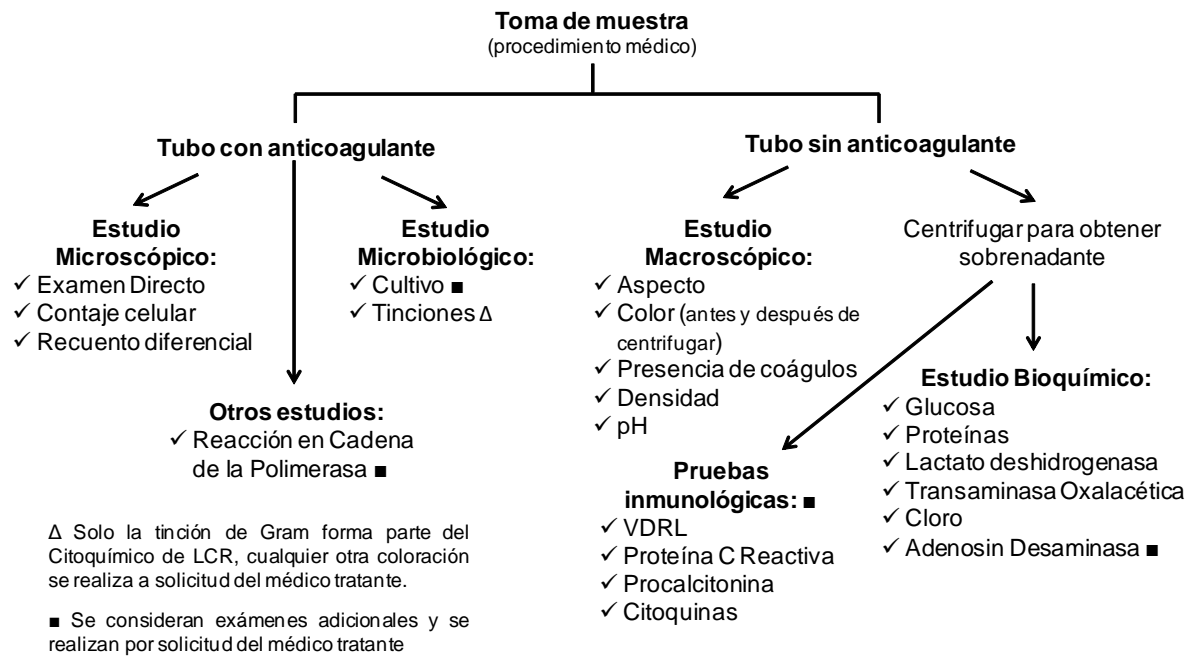


Figura 2. Marcha analítica del Líquido Cefalorraquídeo.

Se incluyen los análisis correspondientes al Citoquímico y pruebas adicionales que se realizan por solicitud del médico tratante.

Fuente: elaboración propia

Adenosin Desaminasa (ADA): la ADA es una enzima esencial para el metabolismo de ciertos tipos de células del organismo, en especial, de las células que se ocupan del desarrollo del sistema inmune, por ejemplo los linfocitos T. Los valores normales de ADA en LCR son inferiores a 12 UI/L. Las concentraciones elevadas de ADA en el LCR se relacionan con el diagnóstico de meningitis tuberculosa²⁹⁻³¹. También aumenta en meningitis bacterianas y en algunas meningitis virales en niños.

Estudio Microbiológico

Existen distintas pruebas de laboratorio para la identificación de agentes microbiológicos, unas de detección rápida útiles para un diagnóstico inicial y otras más tardías para un diagnóstico definitivo. Sin lugar a dudas, las microbiológicas tienen gran importancia en el análisis del LCR³².

Tinción de Gram: es una técnica de identificación rápida que bien realizada es positiva en

75-90 % de los casos. Según la morfología y el resultado de la tinción, se puede identificar al agente etiológico. Se pueden encontrar cocos Gramnegativos (meningococo), cocos Grampositivos (neumococo y estafilococo), bacilos Gramnegativos (*Haemophilus influenzae*), bacilos Grampositivos (*Listeria*), etc³³.

Otras tinciones: tinta china para la infección por criptococo, tinción de Ziehl-Neelsen para micobacterias.

Cultivo: la muestra de LCR se debe cultivar durante al menos 72 h a 35 °C para obtener un resultado adecuado. La positividad del cultivo proporciona el diagnóstico etiológico definitivo.

Determinación de antígenos bacterianos: técnicas rápidas de coagulación o aglutinación de látex. Estas técnicas permiten la detección de antígenos bacterianos solubles en el LCR. No son diagnósticas y tienen un alto costo por lo que es dudosa la relación costo-beneficio⁹.

Otros Estudios.

Estudios moleculares: útiles para infecciones víricas (enterovirus, virus grupo herpes, arbovirus, etc.)³⁴, tuberculosis³⁵, etc. La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) cuantitativa en LCR sirve en las infecciones por virus herpes simple como marcador pronóstico¹⁷.

Pruebas inmunológicas: se ha documentado la utilidad de la Proteína C Reactiva y de la Procalcitonina en meningitis bacteriana y tuberculosa¹⁶, sin embargo, Shen *et al.*³⁵ compararon la potencia diagnóstica de la Procalcitonina en suero y en LCR, concluyendo que la determinación en suero es mucho más útil que en LCR. También se realiza el VDRL en LCR para el diagnóstico de sífilis, pero puede ser negativo hasta en 50% de los casos⁴.

Citoquinas: los niveles elevados de citoquinas en el LCR son marcadores indiscutibles de inflamación meníngea; sin embargo, no hay consenso sobre los valores umbral de concentración de citoquinas para el diferencial diagnóstico de meningitis bacteriana versus viral. El Factor de Necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleuquina-1 (IL-1), IL-6 e IL-8 se encuentran entre las primeras citoquinas liberadas después de la infección²⁴.

Los resultados del análisis de LCR según el tipo de meningitis se muestran en la tabla 3 y en la Figura 2 se esquematiza la marcha analítica del Líquido Cefalorraquídeo.

CONCLUSIONES

El estudio del LCR permite obtener información valiosa que contribuye no sólo al diagnóstico sino también a la formulación del pronóstico en pacientes con enfermedades neurológicas. Su utilidad es máxima en procesos infecciosos, pero no por ello deja de ser fundamental en otras afecciones del SNC, procesos oncológicos y como medida terapéutica. Muchos de los problemas que surgen en el análisis del LCR son el resultado del entrenamiento inadecuado del personal que realiza las pruebas, por eso es importante revisar la marcha analítica para el estudio del LCR.

El recuento de leucocitos en LCR es el mejor biomarcador en el diagnóstico de meningitis infecciosa y las proteínas en LCR presentan una alta exactitud en esta y otras enfermedades, existiendo pruebas adicionales que orientan hacia una correcta clasificación del tipo de meningitis. El estudio microbiológico tiene gran importancia ya que permite identificar el agente causal de la meningitis infecciosa y la aplicación del tratamiento correcto según sea el caso.

Es indispensable que exista correlación entre los resultados obtenidos en las diferentes pruebas realizadas y para ello se recomienda que el estudio del LCR sea procesado por un solo analista, para que en conjunto con la sintomatología del paciente permita realizar el diagnóstico correcto de la enfermedad precozmente, recordando que las meningitis infecciosas pueden llegar a ser mortales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Gómez R, Pellegrini P, Retamales E, Valenzuela C. Recomendaciones para el análisis de líquidos biológicos. Instituto de Salud Pública, Ministerio de Salud, Gobierno de Chile; 2016, p. 8-13.
- 2) Dorta A, García E, Bu-Coifú R, Padilla B. Bases moleculares de la Neuroinmunología (I). Barrera Sangre - Líquido cefalorraquídeo y síntesis intratecal de inmunoglobulinas. *Rev Cubana Pediatr* 2005; 77(3-4).
- 3) Watson M, Scott M. Clinical utility of biochemical analysis of cerebrospinal fluid. *Clin Chem* 1995; 41(3):343-60.
- 4) Rodríguez-Segade V. Líquido cefalorraquídeo. *Ed Cont Lab Clin* 2006; (9):49-56.
- 5) Storch P, De la Torre M, Martín M, García S, Domínguez G, Novoa R. ¿Se realiza correctamente la punción lumbar en pediatría? Revisión de las recomendaciones actuales y análisis de la realidad. *An Pediatr (Barc)*. 2012; 77(2):115-23.
- 6) González Y, Sánchez P, Mediaceja O. Variables citoquímicas del líquido cefalorraquídeo en infecciones del sistema nervioso central. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2013; 60(4): 252-258.
- 7) Santotoribio J, Batalha P, García A, Pérez S. Marcadores de enfermedades infecciosas en líquidos biológicos. En: *Manual de Formación Continuada 2014-2015*. Editorial Asociación Española de Biopatología Médica; 2014, p. 138-151.
- 8) Álvarez G, Reyes A, Jam B, Chamero S, Hernández L, Bouza Y, et al. Estudio de 145 episodios de meningitis bacterianas en adultos cubanos. *Rev Panam Infectol* 2007; 9(2):10-17.
- 9) Montero R. Desde el laboratorio a la clínica: Interpretación del líquido cefalorraquídeo. *An Pediatr Contin*. 2014; 12(1):30-3.
- 10) Kluge H, Wiczorek V, Linke E, Zimmermann K, Isenmann S, Witte O. *Atlas of CSF cytology*. 2007. 1.a ed. Stuttgart: Thieme.
- 11) Seehusen D, Reeves M, Fomin D. Cerebrospinal fluid analysis. *Am Fam Physician*. 2003;68(6): 1103-8.
- 12) Merino A, Marín JL. Citología y bioquímica de los líquidos biológicos. *Ed Cont Lab Clín*. 2017; 28: 112- 135.
- 13) López-Silva S. *Análisis del Líquido Cefalorraquídeo y otros Líquidos Orgánicos: Manual para su estudio e interpretación*. Madrid: Bubok Publishing S.L., 1.ª ed.; 2014. p. 15-46.
- 14) Nagda K. Procoagulant activity of cerebrospinal fluid in health and disease. *Indian J Med Res* 1981; 74:107-10.
- 15) Strasinger S, Di Lorenzo M. *Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales*. 5.ª ed., Editorial: Médica Panamericana; 2010, p. 179-202.
- 16) Hrishi A, Sethuraman M. Cerebrospinal Fluid (CSF) Analysis and Interpretation in Neurocritical Care for Acute Neurological Conditions. *Indian J Crit Care Med* 2019; 23(Suppl 2):S115-S119.
- 17) Casado J. Meningismo. Infección meníngea. En: *Urgencias y tratamiento del niño grave*. 1.ª ed. Madrid: Edit. Ergon, S.A.; 2000. p. 351-8.
- 18) Moreno D, Conejo E, Cuadros E. Meningitis. En: *Guía de tratamiento de las enfermedades infecciosas en urgencias pediátricas*. 3.ª ed. Madrid: Editorial Drug Farma S.L.; 2007. p. 477-86.
- 19) Rizvi SA, Moein-Afshari F. Redefining true leukocytosis in the traumatic lumbar puncture. 50th Annual Congress of the Canadian Neurological Sciences Federation. 2015; 42(1): S30. DOI: <https://doi.org/10.1017/cjn.2015.142>.
- 20) Tena-Suck ML. Líquido cefalorraquídeo. *Patología Rev Latinoam*. 2018; 56(4): 281-87.
- 21) Hepnar D, Adam P, Žáková H, Krušina M, Kalvach P, Kasík J, et al. Recommendations for cerebrospinal fluid analysis. *Folia Microbiol*. 2019; 64:443-452.
- 22) Sacristán B, López Gómez J, Sande F, Jiménez-Mena F, García P. Proteína beta traza y cistatina C en la detección de meningitis bacteriana. *Rev Lab Clin* 2008; 1:3-7.
- 23) Martínez C, Llompарт I. Recomendaciones para el estudio de las proteínas del líquido cefalorraquídeo. *Química Clínica* 2002; 21(2): 83-90.
- 24) Venkatesh B, Scott P, Ziegenfuss M. Cerebrospinal Fluid in Critical Illness. *Crit Care Resusc* 2000; 2(1):42-54.
- 25) Kul G, Sencan I, Kul H, Korkmaz N, Altunay E. The Role of Cerebrospinal Fluid Biomarkers in the Diagnosis of Post-Neurosurgical Meningitis. *Turk Neurosurg* 2020 30(4): 513-519.
- 26) Nayak B, Bhat R. Cerebrospinal fluid lactate dehydrogenase and glutamine in meningitis. *Indian J Physiol Pharmacol* 2005; 49(1):108-10.
- 27) Nussinovitch M, Finkelstein Y, Elishkevitz K, Volovitz B, Harel D, Klinger G, et al. Cerebrospinal fluid lactate dehydrogenase isoenzymes in children with bacterial and aseptic meningitis. *Transl Res* 2009; 154(4):214-8.
- 28) Quaglia A, Karlsson M, Larsson M, Taylor W, Ngoc N, Dao T, et al. Total lactate dehydrogenase in cerebrospinal fluid for identification of bacterial meningitis. *J Med Microbiol* 2013; 62(Pt 11):1772-1773.
- 29) Bhatnagar S, Beig F, Malik A. Adenosine deaminase and C-reactive protein in cerebrospinal fluid for differential diagnosis of tubercular meningitis in children. *Indian J Clin Biochem* 2008; 23(3):299-301.

- 30) Tuon F, Higashino H, Lopes M, Litvoc M, Atomiya A, Antonangelo L, *et al.* Adenosine deaminase and tuberculous meningitis-a systematic review with meta-analysis. *Scand J Infect Dis* 2010; 42(3):198-207.
- 31) Belagavi Amulya C; Shalini M. Cerebrospinal fluid C reactive protein and adenosine deaminase in meningitis in adults. *J Assoc Physicians India* 2011; 59:557-60.
- 32) Rivera M, González F. El laboratorio en las enfermedades infecciosas. Obtención de muestras. En: Guía de tratamiento de las enfermedades infecciosas en urgencias pediátricas. 3.^a ed. Madrid: Editorial Drug Farma; 2007, p. 53-68.
- 33) Fernández F, Soriano F. Diagnóstico microbiológico rápido. En: Urgencias y tratamiento del niño grave. 1.^a ed. Madrid: Editorial Ergon, S.A.; 2000, p. 383-9.
- 34) González F, Navarro M. Encefalitis. En: Guía de tratamiento de las enfermedades infecciosas en urgencias pediátricas. 3.^a ed. Madrid: Editorial Drug Farma; 2007, p. 497-503.
- 35) Shen H, Gao W, Cheng J, Zhao S, Sun Y, Han Z, *et al.* Direct comparison of the diagnostic accuracy between blood and cerebrospinal fluid procalcitonin levels in patients with meningitis. *Clin Biochem* 2015; 48(16-17):1079-82.