

Documento: analisi in urgenza del liquido cefalorachidiano

Preparato da: Massimo Gallina¹, Lorenzo Prencipe², Erica Rampoldi³

¹Azienda Ospedaliera della Valtellina e della Valchiavenna - Presidio Sondalo

²Azienda Ospedaliera Ospedale Civile "Vimercate"

³Ospedale Maggiore IRCCS Milano

PRESENTAZIONE DEL DOCUMENTO

Abbiamo redatto questo testo, che proponiamo all'attenzione dei Colleghi, per cercare di riordinare una prassi di laboratorio spesso basata più su abitudini che su scelte meditate, e per tentare di stabilire ciò che è veramente indispensabile per le "analisi in urgenza del liquido cefalo-rachidiano". Per ottenere questi risultati sono indispensabili il contributo critico ed il consenso dei Soci SibioC e dei Colleghi che con la loro esperienza sull'argomento possono affinare ed ampliare questo lavoro.

Come sempre, parlare di laboratori di urgenza rappresenta di per sé un problema, poiché le "urgenze" rispecchiano situazioni molto differenti per quanto concerne competenze specifiche e numerosità del personale dedicato, ubicazione all'interno dell'ospedale e del laboratorio stesso, strumentazione e spazi messi a disposizione, tipologia di esami e patologia prevalente. Un laboratorio con uno staff fisso, che si trova in un ospedale dotato di reparti di pediatria e di rianimazione neonatale non ha gli stessi problemi di un settore d'urgenza di un presidio ospedaliero generale, ad esempio, specializzato in traumatologia ed ortopedia. Tuttavia alcuni elementi essenziali, comuni a tutti devono pur essere identificati ed è quello che ci si propone con il documento.

Uno scopo importante è quello di fornire ai Colleghi che si trovano da poco inseriti nelle turnazioni in urgenza un testo su cui ragionare; nella bibliografia si trovano i riferimenti di vari articoli che possono fornire indicazioni più approfondite sui vari aspetti d'interesse. Si deve però ripetere, una volta ancora, che la vera **istruzione** è quella che si trasmette da persona a persona, non per nulla si dovrebbe prevedere un periodo di addestramento in Urgenza... (magari bastasse un documento a formare i professionisti del laboratorio).

Abbiamo adottato la **stesura del tipo certificazione** perché ormai ogni istruzione, nei Laboratori impegnati per la certificazione ISO (o analoga), deve essere redatta su tale modello, e ci è sembrato conveniente proporre un documento così confezionato, con l'intento di rendere un servizio adeguato ai Colleghi.

La descrizione specifica, aderente ad ogni singola realtà, dei metodi analitici e della strumentazione relativa è ovviamente lasciata ai singoli Laboratori. In tal senso la struttura dei documenti per la certificazione garantisce una completezza della documentazione, per cui il "*cosa serve, dove si trova etc.*" è già descritto in qualche Istruzione Operativa: è vero che i rimandi sono scomodi, ma d'altro canto consentono una necessaria frammentazione del materiale cartaceo in uso in laboratorio.

Un altro argomento da approfondire è quello della **sicurezza**. Temiamo però che la cronica carenza di spazi nei Laboratori, specie in quelli d'Urgenza, costituisca uno degli ostacoli principali alla soluzione di alcuni problemi, come ad es. l'installazione di una cappa aspirante. (indispensabile !!!!) o meglio ancora Bioazard

Siamo perfettamente consapevoli che ci sono posizioni divergenti su alcuni punti del documento. Ad esempio, autorevoli Colleghi sostengono che sia sufficiente eseguire l'esame batterioscopico e che le misure di glucosio e proteine non servano a nulla. Di fatto glicorrachia e protidorrachia (determinazioni forse secondarie come utilità clinica)

sono e saranno sempre richiesti dai Clinici, che invece vi annettono un significato diagnostico importante. Ration per cui ne scriviamo nel testo, rimanendo comunque disponibili ad una discussione sull'argomento.

L'approccio pragmatico è una delle premesse di questo lavoro ed speriamo che sia apprezzato da chi legge: realisticamente ci aspettiamo che si debba migliorare, completare, correggere ogni documento, come è fisiologico, anzi auspicabile.

Proprio per tale convinzione abbiamo sottoposto il contenuto di questo articolo a diversi Colleghi e Colleghe, che hanno apportato modifiche ed aggiunte ed hanno comunque espresso il proprio parere: vogliamo perciò ringraziare per la collaborazione, in particolare, le Dottoresse ed i Dottori Elda Suigo, Loredana Tocalli, Paolo Brambilla, Alberto Dolci, Roberto Rosso,

Ci auguriamo quindi che si possa suscitare una discussione. Quanti più contributi, tanto meglio.

Un ringraziamento a chi accetterà tale invito.

Massimo Gallina
Lorenzo Prencipe
Erica Rampoldi

Commenti a:

Dr.ssa Erica Rampoldi
ospedale Maggiore IRCCS, via Francesco Sforza 35, 20122 Milano
Fax 02-50320595
E-mail: erampoldi@dseurope.com

	DOCUMENTO	DATA DI EMISSIONE	
	ANALISI IN URGENZA DEL LIQUIDO CEFALORACHIDIANO (LCR)	INDICE DI REVISIONE	

CONTENUTI

SCOPO

CAMPO DI APPLICAZIONE

ATTIVITÀ

Descrizione di aspetto e colore del materiale

Conteggio differenziale delle cellule

Glicorrachia

Protidorrachia

ESAME MICROBIOLOGICO

Esame batterioscopico

Allestimento immediato di coltura microbiologica adeguata

Conservazione adeguata del campione di LCR e del corrispondente siero, per analisi ulteriori.

RESPONSABILITÀ

RIFERIMENTI

BIBLIOGRAFIA

DEFINIZIONI

SCOPO

Descrivere le modalità operative essenziali di esecuzione, **in regime di urgenza**, dell'analisi del liquido cefalorachidiano (LCR) per fornire indicazioni diagnostiche volte a escludere/confermare le seguenti patologie:

- 1.emorragia subaracnoidea
- 2.meningite purulenta (pneumococcica, meningococcica, da haemophilus influenzae).
- 3.meningite non purulenta (tubercolare, criptococcica)
- 4.meningoencefalite virale.

CAMPO DI APPLICAZIONE

La presente istruzione si applica ai campioni di Liquido cefalorachidiano (LCR, Liquor, CSF, fluido cerebrospinale) raccolti per rachicentesi in una o più provette trasparenti sterili.

Non si applica a Liquido da drenaggio cerebrale.

Nota:

1 - all'invio dei campioni di LCR deve essere associato un campione di siero per una contemporanea analisi dello stato metabolico/infettivo del paziente.

2 - D.L..626/94:come per tutti i campioni biologici anche per i campioni di LCR devono essere applicate le istruzioni per la protezione individuale...

ATTIVITÀ

- 1.descrizione di aspetto e colore del materiale
- 2.conteggio differenziale delle cellule
- 3.glicorrachia confrontata con glicemia contemporanea
- 4.protidorrachia
- 5.esame batterioscopico microscopico con colorazione di Gram (condizione minima)
- 6.allestimento immediato di coltura microbiologica adeguata
- 7.conservazione adeguata del campione di LCR e del corrispondente siero, per analisi ulteriori

Prendere visione di:

- Richiesta, per accertarsi dell'adeguatezza del campione;
- Numero di provette inviate, numerazione (ordine di raccolta) delle provette: 1°, 2°, 3° e relativi volumi;
- motivo della richiesta - se il sospetto diagnostico è sospetta meningite chiedere anche l'esecuzione di emocoltura.

Descrizione di aspetto e colore del materiale

Si deve immediatamente predisporre una o più aliquote (a seconda di quanto richiesto) sterili e NON centrifugate per le analisi microbiologiche successive.

La descrizione più affidabile si ottiene con l'esame macroscopico, mediante la valutazione per confronto diretto con una provetta contenente acqua, osservando entrambe le provette su foglio bianco e con adatta illuminazione.

La descrizione deve essere riportata per ognuna delle provette inviate, su materiale non centrifugato e dopo risospensione di eventuali sedimenti con gentile scuotimento.

Si devono prioritariamente salvaguardare, in condizioni di sterilità e NON centrifugate, le aliquote necessarie alle analisi microbiologiche, sia urgenti che differibili.

Aspetto:

deve essere refertato come:

- limpido,
- torbido o leggermente torbido (segnalare eventuali disomogeneità per filamenti di fibrina o precipitati).

Colore:

deve essere refertato come:

- incolore,
- xantocromico o leggermente xantocromico
- ematico, leggermente o fortemente ematico

Se il LCR non si presenta limpido, dopo aver prioritariamente salvaguardato per ulteriori analisi le aliquote di materiale non centrifugato, centrifugare i campioni e descrivere per ognuna delle provette inviate l'aspetto ed il colore del surnatante

Conteggio differenziale delle cellule

La provetta più indicata per le analisi quantitative è l'ultima di quelle raccolte. Il conteggio deve essere eseguito su materiale non centrifugato, dopo risospensione di eventuali sedimenti con gentile scuotimento. Se non ci sono differenze di torbidità non è necessario ripeterlo su tutte le provette inviate.

Il referto deve riportare sempre:

- Numero totale dei leucociti, espresso come "n.° Leucociti/ microlitro"
- La tipologia delle cellule presenti, e, laddove possibile, la percentuale relativa delle diverse popolazioni.

Nota: Se il numero delle cellule è statisticamente poco consistente (indicativamente: inf. a 50 Leucociti/microlitro) si deve unicamente riportare la descrizione di quanto osservato (esempio: n.° Leucociti/ microlitro = 5; 4 linfociti, 1 granulocito)

Solo se presenti:

- Numero di Eritrociti/microlitro;
- Numero e descrizione di altre cellule

Metodi di conteggio:

La lettura in contrasto di fase migliora sensibilmente l'accuratezza dell'osservazione. La disponibilità di tecnologie d'avanguardia nell'ambito dell'analisi cellulare consente anche l'utilizzo di analizzatori per il conteggio e la differenziazione delle popolazioni cellulari nel LCR.

- Microscopia con conteggio in camera di conta (*Come da specifica Istruzione Operativa n°... "Conteggio in Microscopia di elementi corpuscolati"*). Per campioni normali devono essere osservati almeno 1-5 microlitri di LCR.

- Conteggio con analizzatore ematologico automatico, solo di ultima generazione (1); utilizzabile solo su campioni a elevata cellularità, per confermare e aumentare l'accuratezza del conteggio microscopico.

Metodi di differenziazione leucocitaria:

- Microscopia a fresco con colorazione al blu di metilene (liquido di Türk) (*Come da specifica Istruzione Operativa n°... "Colorazioni ematologiche"*), per diagnosi differenziale rapida tra mononucleati e granulociti.

- Centrifugazione, allestimento di strisci del sedimento e colorazione secondo May-Grunwald Giemsa (*Come da specifica Istruzione Operativa n°... "Colorazioni ematologiche"*) o con Blu di metilene (*Come da specifica Istruzione Operativa n°... "Colorazioni microbiologiche"*).

Nota: Si raccomanda l'uso di una citocentrifuga, in quanto tale tecnica migliora sensibilmente la qualità dei preparati.

- Colorazione con vetrini pronti pre-colorati
- Con analizzatore ematologico automatico, solo di ultima generazione (1): solo per campioni con sufficiente cellularità, mediante esame del referto grafico, se non equivoco.

Glicorrachia (concentrazione di glucosio)

Utilizzare il metodo per la determinazione della glicemia; patologici valori inferiori al

45-60% della glicemia; per la possibilità di presenza di condizioni che alterino i normali valori glicemici (es.: diabete), deve essere disponibile, per il confronto, un valore corrente di glicemia, tenendo presente che la glicorrachia è correlata ai valori glicemici delle 2 ore precedenti.

Protidorrachia (concentrazione di proteine)

Utilizzare il metodo per la determinazione della proteinuria quantitativa (per es. pirogallolo); patologici valori superiori a 400-600 mg/L (nei neonati normale anche valori elevati).

ESAME MICROBIOLOGICO

Esame batterioscopico

Centrifugare il campione per l'allestimento di strisci dal sedimento.

Nota: Si raccomanda l'uso di una citocentrifuga, in quanto tale tecnica migliora sensibilmente la qualità dei preparati.

Eseguire colorazione di Gram, requisito minimo per una analisi batterioscopica (Come da specifica Istruzione Operativa n°... "Colorazioni microbiologiche");

Refertare :

- assenza di flora batterica
- alcuni / numerosi batteri Gram negativi
- diplococchi Gram negativi
- diplococchi Gram positivi/capsulati;
- numerosi/numerossimi granulociti.

Tecniche batterioscopiche ausiliarie:

- colorazione Blu di Metilene: presenza di batteri, diplococchi intracellulari, granulociti
- a fresco con inchiostro di china: lieviti capsulati riferibili a *Criptococco* / diplococchi capsulati

Allestimento immediato di coltura microbiologica adeguata

L'allestimento delle colture deve avvenire sotto cappa di sicurezza biologica a flusso laminare verticale per agenti patogeni di classe 2, per garantire la sicurezza dell'operatore e la manipolazione del campione in condizioni di sterilità. L'operatore deve essere efficacemente addestrato e formato per tale attività.

- Deporre una goccia di LCR (circa 50 microlitri) su una piastra di agar sangue e una goccia di LCR su una piastra di agar cioccolato, distribuire con l'ansa il campione sulla superficie con la tecnica dell'esaurimento per l'ottenimento di colonie isolate; incubare le piastre in atmosfera arricchita di CO₂.

- Inoculare 100 microlitri circa di LCR in brodo di coltura (bottiglie da emocoltura).

Conservazione adeguata del campione di LCR e del corrispondente siero, per analisi ulteriori

Assicurare la conservazione di tutta la quantità residua di campione, indicando precisamente se si tratti di sopranatante di centrifugato, di aliquota sottoposta a rischio di contaminazione batterica (provetta stappata e ritappata), o di campione "nativo", non aperto, conservato come pervenuto dal reparto.

La conservazione, salvo diverse precise istruzioni, deve essere attuata mettendo il campione a +4°C (+2°C - +8°C).

NB.E' utile predisporre un copia dei risultati ottenuti in urgenza per un'opportuna trasmissione dei dati agli altri laboratori/settori che dovranno eventualmente completare l'analisi (virologia, batteriologia, citologia).

RESPONSABILITA'

Personale Tecnico di laboratorio biomedico, Personale Dirigente di Laboratorio analisi

RIFERIMENTI

- Mod ...
- *Istruzione Operativa n°... "Colorazioni ematologiche"*
- *Istruzione Operativa n°... "Colorazioni microbiologiche"*
- *Istruzione Operativa n°... "Conteggio in Microscopia di elementi corpuscolati"*
- Modulo Prestazioni richieste
- *Richieste d'esami*

BIBLIOGRAFIA

1. Hoffmann JJML, Janssen WCM . Automated Counting of Cells in Cerebrospinal fluid Using the CellDyn-4000 Haematology Analyser . Clin Chem Lab Med 2002; 40(11); 1168-1173.
2. Atti del Convegno: Diagnostica liquorale tra presente e futuro. Varese, 27 Novembre 1998
3. Nespolo A, Aguzzi F. Le proteine del liquor e l'elettroforesi delle proteine liquorali. Biochimica Clinica 1989:159.164.
4. Fishman RA. Composition of the Cerebrospinal fluid. In: Fishman RA, ed. Cerebrospinal Fluid in Diseases of the Nervous System. Philadelphia: W.B. Saunders Pubbl; 1992:183-252.
5. Richman D, Whitley RJ. Viral Central Nervous System Infections . In: Clinical Virology ASM Press Pubbl. 2002: 27-44
6. Deresiewicz RL, Scott JT, Liangge H, Zamani. Clinical and Neuroradiographic manifestations of eastern equine encephalitis. New Engl J Med, 1997; 336:1867-1874.
7. Roos KL. What I have learned about infectious diseases with my sleeves rolled up. Semin Neurol . Thieme Medical Publ. 2002; 22(1):9-15.