



Fundación JL Castaño  
SEQC

**SEQC**<sup>ML</sup>  
Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2017-2018

## CASOS CLÍNICOS DE BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA

Ed. Cont. Lab. Clin 35: 58 - 61

---

### **PACIENTE DE 13 AÑOS CON DOLOR ABDOMINAL, FIEBRE Y COLURIA.**

*Teresa Villalba Hernández.*

*Hematología-Catlab.*

#### **EXPOSICIÓN DEL CASO**

Se presenta el caso de una niña de 13 años de edad, de origen subsahariano pero residente en nuestro medio de forma habitual, que acude a su médico de cabecera por un cuadro de 3 días de evolución de dolor abdominal moderado, fiebre y coloración oscura de la orina. No refieren, ni la paciente ni sus padres, haber efectuado viajes recientes.

#### **Exploración física:**

Temperatura axilar 35,4 °C, normotensa, frecuencia cardiaca 120 latidos /minuto. Buen estado general, palidez mucosa, sin lesiones cutáneas. Sistema nervioso: consciente y orientada, tono y fuerza muscular presentes y simétricos. Sin focalidades neurológicas ni signos meníngeos. ORL: orofaringe normal. Auscultación respiratoria: ventilación bilateral simétrica, sin ruidos añadidos ni dificultad respiratoria. Auscultación cardiaca: tonos cardiacos rítmicos, sin soplos. Pulsos centrales y periféricos presentes y simétricos. Abdomen blando y depresible, sin masas ni visceromegalias, doloroso a la palpación profunda en zona periumbilical. Peristaltismo presente.

#### **Exploraciones complementarias:**

##### **- Analítica de sangre:**

Hemograma: Hb: 76 g/L, Hto: 24,5 %, VCM 95 fL, leucocitos 4,57 x 10<sup>9</sup>/L (45,6 % Neutrófilos, 39%Linfocitos, 12,9 % Monocitos, 1,5 % Eosinófilos, 0,2 % Basófilos), plaquetas 195 x 10<sup>9</sup>/L. Bioquímica: Glucosa: 86 mg/dL, función renal y hepática normales, ionograma normal. Proteínas totales: 74,2 g/L, Albúmina: 40 g/L, AST: 15 UI/L, ALT: 9,6 U/L, GGT: 19,8 U/L.

---

Coagulación básica sin alteraciones. Serologías: Antígeno de superficie de VHB negativo, IgG anti VHC negativa, IgG anti CMV: 268,8 UA/mL.

Debido a la anemia detectada se añadió la determinación de reticulocitos, y la cifra obtenida fue un 118,7 % y un total de  $306,2 \times 10^9/L$  (ambos parámetros elevados). En el estudio bioquímico de anemia regenerativa destacaba una LDH de 792 UI/L y haptoglobina indetectable. Metabolismo del hierro, ácido fólico y vitamina B12 normales, sin déficits valorables.

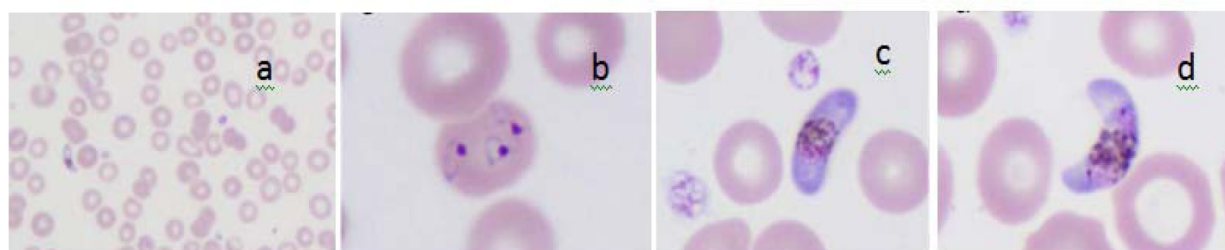
Revisando analíticas previas de la paciente los hemogramas eran normales, sin anemia ni datos de hemólisis.

En el estudio diagnóstico de anemia con datos de hemólisis, teniendo en cuenta el origen de la paciente, una de las posibilidades era una hemoglobinopatía. Según los criterios del laboratorio, al ser una primera analítica con anemia y tener una cifra de reticulocitos elevada, se añadió la revisión del frotis.

Se procesó la muestra de EDTA por HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia) descartando presencia de hemoglobinas anómalas (se descartó drepanocitosis y otras hemoglobinopatías estructurales que pudiesen ocasionar anemia hemolítica).

En la revisión del frotis, en la serie leucocitaria se observan algunos linfocitos estimulados, sin otros rasgos patológicos. Serie plaquetaria sin alteraciones.

En la serie roja se detecta anisocitosis y policromasia. Presencia de parásitos intracelulares, en ocasiones varios de ellos dentro del mismo hematíe y también se observan gametocitos extraeritrocitarios, en forma de banana con núcleo central, sugestivos de infección por *Plasmodium falciparum*. Parasitemia inferior a 1/100 hematíes (Figura 1).



**Figura 1:** Imágenes de parásitos en el frotis de sangre periférica, tinción de MayGrunwald-Giemsa.

Panel a: vista general, policromasia, se observa un gametocito de *Plasmodium falciparum*.

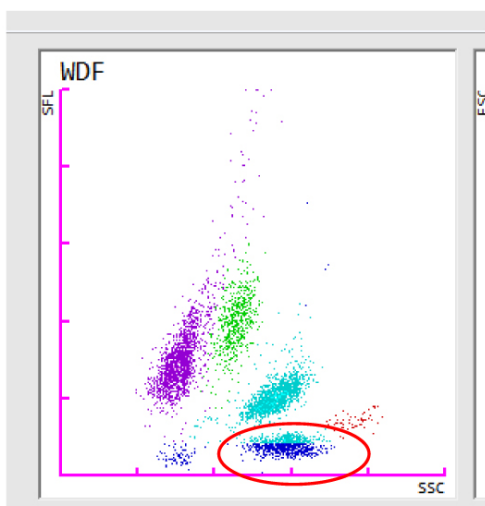
Panel b: múltiples trofozoítos en un hematíe.

Paneles c y d: vista en detalle de gametocitos de *Plasmodium falciparum*.

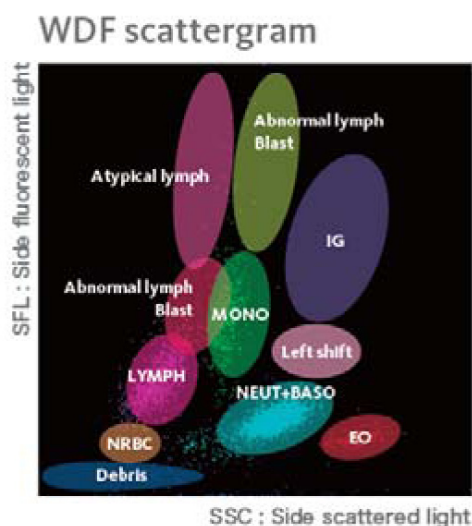
Reinterrogando a la familia admiten haber realizado un viaje a Gambia de 4 meses de duración y del que había regresado 1 semana antes.

Revisando los escatergramas del analizador se observó una nube de puntos en el escatergrama WDF, justo por debajo de los neutrófilos, que podría corresponderse con los pará-

sitos observados en el frotis. Vemos la gráfica obtenida por el analizador en esta paciente (Figura 2) y la comparamos con la gráfica de referencia del analizador donde podemos ver la posición que ocupan las distintas subpoblaciones leucocitarias (Figura 3). La diferenciación celular se realiza por la señal obtenida al incidir un haz laser sobre las células y partículas presentes en la muestra. Estas señales se disponen en diagramas de dispersión o escatergramas. Los diagramas se disponen de acuerdo a los ejes SSC (mide la complejidad celular), FSC (tamaño celular) y SFL (fluorescencia emitida por las células tras tinción con los reactivos del analizador)



**Figura 2:** Escatergrama WDF (SFL/SSC) obtenido en el analizador Sysmex XN. Se observa una población mal identificada por el analizador (utiliza los colores que identifican a los neutrófilos y al debris o restos celulares).



**Figura 3:** Sysmex XN, histograma WDF. Localización de las diversas subpoblaciones leucocitarias.

## BIBLIOGRAFIA

**White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM.** Malaria. *Lancet*. 2014 Feb 22;383(9918):723-35

**Dacie and Lewis** Practical Haematology, 10th Edition S. Lewis, Barbara Bain, Imelda Bates  
**Imprint:** Churchill Livingstone. **Published Date:** 24th March 2006

**Askling HH, Bruneel F, Burchard G, Castelli F, Chiodini PL, Grobusch MP, Lopez-Vélez R, Paul M, Petersen E, Popescu C, Ramharter M, Schlagenhauf P.** Management of imported malaria in Europe, European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases Study Group on Clinical Parasitology. *Malar J*. 2012 Sep 17; 11:328.

**Jain M, Gupta S, Grover RK.** Cautions before interpreting scattergram abnormalities on XE-2100 in malaria detection.. *Int J Lab Hematol*. 2015 Aug;37(4):e62-3

**Campuzano-Zuluaga G, Hänscheid T, Grobusch MP.** Automated haematology analysis to diagnose malaria.. *Malar J*. 2010 Nov 30;9:346.

**Dubreuil P, Pihet M, Cau S, Croquefer S, Deguigne PA, Godon A, Genevieve F, De Gentile L, Zandecki M.** -Use of Sysmex XE-2100 and XE-5000 hematology analyzers for the diagnosis of malaria in a nonendemic country (France). *Int J Lab Hematol*. 2014 Apr;36(2):124-34.

---

## COMISIÓN DE BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA

Anna Merino (*Presidenta*), M<sup>a</sup> José Alcaide, Eduardo Arellano, Laura Bigorra, Cristian Morales, Javier Nieto, M<sup>a</sup> Elena Redin, Maite Serrando, María Sanz de Pedro, Xavier Tejedor, Eloisa Urrechaga, Teresa Villalba.

## ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi, R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, A. Merino, A. Moreno, A. Peña, N. Rico, M. Rodríguez (*Presidente*), MC. Villà.

ISBN 978-84-697-4015-6 – Junio 2018 (recibido para publicación Junio 2017).

## RESOLUCIÓN DEL CASO

Diagnóstico: Infección por *Plasmodium falciparum*.

### Malaria:

La malaria es la enfermedad parasitaria de mayor trascendencia de las que afectan a los seres humanos. Es transmitida en 108 países donde habitan 3 mil millones de personas y en 2010 provocó 216 millones de enfermos y 655000 muertes. Mas del 85 % de los casos de malaria y del 90 % de los fallecidos ocurren en el África subsahariana, principalmente en niños menores de 5 años. (1)

Es una enfermedad protozoaria transmitida por los mosquitos *Anopheles*. Hay 5 especies del género *Plasmodium* que afectan a seres humanos. La mayoría de los casos son causados por *Plasmodium falciparum* o *Plasmodium vivax*, pero también podemos encontrar casos de *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, y en zonas del sudeste asiático *Plasmodium knowlesi*.

Los mosquitos *Anopheles* transmiten la malaria al inocular esporozoítos de *Plasmodium* por su picadura. Estos esporozoítos alcanzan el torrente sanguíneo, llegan al hígado e invaden los hepatocitos donde, durante unos 5 días, se multiplican llegando a cifras de x 10000 o x 30000 merozoítos en cada hepatocito. Cuando esta célula muere se liberan los merozoítos y en este caso invaden los eritrocitos, donde adoptan las formas de trofozoítos a gametocitos. Este ciclo asexual en sangre tiene una duración variable para cada especie de *Plasmodium*, desde 24 horas para *P knowlesi*, 48 horas para *P falciparum*, *vivax* y *ovale* y de 72 horas para *P malariae*.

La revisión del frotis de un paciente infectado por *Plasmodium*, durante la fase de parasitemia podemos observar parásitos intraeritrocitarios, usualmente trofozoítos en forma de anillos, generalmente únicos. En la infestación por *Plasmodium falciparum* podemos ver una parasitación múltiple.

Los parásitos se convierten en formas sexuales más duraderas (Gametocitos) que pueden transmitir la malaria a los mosquitos. En *P falciparum*, pero no en las otras malaras humanas, este cambio a gametocitogénesis se retrasa y el pico de la gametocitemia es de 7 a 10 días después de la parasitemia.

Toda multiplicación dentro del huésped humano es por mitosis. La meiosis (y por lo tanto recombinación genética) ocurre sólo en el mosquito.

En la Tabla 1 resumimos los puntos de diferenciación morfológica más importantes para las distintas especies de parásitos (2)

	<i>P falciparum</i>	<i>P vivax</i>	<i>P ovale</i>	<i>P malariae</i>
Hematíes infectados	Tamaño normal Manchas de Maurer	Agrandados Puntos de Schuffner	Agrandados, ovales. Puntos de Schuffner	Normales o microcíticos
Formas anulares Trofozoítos iniciales y evolución a tardíos	Finos, frecuentemente 2 o más. Punto de cromatina pequeño. A veces dos puntos de cromatina	Grandes, gruesos. Habitualmente únicos. Punto de cromatina grueso. Ameboide, vacuola central	Anillos compactos y gruesos. Más pequeño que <i>P. vivax</i> . Ligeramente ameboide	Anillos compactos y muy pequeños. Banda a través de la célula. Citoplasma azul oscuro
Esquizontes	18-24 merozoítos ocupando 2/3 de la célula	12-24 merozoítos de forma irregular	6-12 merozoítos ocupando 3/4 de la célula	8-12 merozoítos en forma de margarita
Gametocitos	Alargado en forma de salchicha o banana. Núcleo único. Persiste varios días	Esférico, compacto, ocupa casi toda la célula	Oval, 3/4 de la célula, más pequeño que <i>P vivax</i>	Redondo, pequeño

**Tabla 1:** Características morfológicas de los distintos estadios de los parásitos de malaria.

## Clínica:

En las zonas endémicas la malaria es a menudo la causa de fiebre más común. Los primeros síntomas de la malaria son inespecíficos y pueden incluir malestar general, cefalea, astenia, dolores musculares y molestias abdominales, seguidos de fiebre irregular, náuseas, vómitos, hipotensión... La mayoría de pacientes tiene pocos hallazgos anormales: fiebre, anemia y al cabo de unos días un bazo palpable.

La fiebre es característicamente recurrente, y dependiendo del tipo de parásito los accesos febriles se presentarán cada 2, 3 o 4 días. Es frecuente la presencia de trombocitopenia incluso en fases iniciales.

Puede producir cuadros más graves como anemia severa con componente hemolítico, alteraciones hepáticas, cuadros de malaria cerebral, lesión renal aguda con acidosis... y el cuadro puede ser crónico y persistente o también presentar recurrencias si el tratamiento ha sido insuficiente.

## Diagnóstico:

Un diagnóstico preciso y rápido es necesario para iniciar un tratamiento eficaz para minimizar estos riesgos. *El gold standard* continúa siendo la observación al microscopio del parásito en los hematíes, bien sea en un frotis convencional o examinando una gota gruesa. (3)

Existen técnicas por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que son sensibles y específicas, pero que no pueden practicarse en contexto de urgencias, 24 horas al día, 365 días al año.

Se han desarrollado test rápidos basados en reacción antígeno/anticuerpo que detectan antígenos como el PfHRP2 y también LDH y aldolasas específicas. Las pruebas de

diagnóstico rápidas basadas en PfHRP2 son tan buenas como la microscopía de rutina en el diagnóstico de malaria por *falciparum*. Las pruebas de nueva generación basadas en la lactato deshidrogenasa del *plasmodium* son eficaces para el diagnóstico de infecciones por *falciparum* y *vivax*, aunque la sensibilidad es baja con densidades de *P vivax* inferiores a 200 / microlitro. Las pruebas basadas en la Aldolasa son menos sensibles, especialmente para las especies no *falciparum*. Debido a su sencillez y rapidez, las pruebas diagnósticas rápidas son particularmente útiles en estudios epidemiológicos. Sin embargo, son caras y no cuantifican la parasitemia.

En nuestro caso hallamos un claro cluster celular en el histograma de diferenciación leucocitaria que ya había sido descrito (4, 5, 6) entre otras alteraciones de histogramas asociadas a parasitación por *Plasmodium*. Realizamos un análisis de parámetros obtenidos por nuestro analizador y encontramos que uno de ellos (NE-FSC, también denominado WDF-Z, que mide la intensidad de la señal en el eje Z del canal WDF para la población de neutrófilos), tenía valores claramente inferiores a las de una serie de más de 4000 muestras normales y patológicas. La importancia de seguir investigando en este terreno vendría dada porque podríamos configurar nuestros analizadores o sistemas informáticos para que nos enviasen una alerta de sospecha por parásitos si alguna de estas condiciones estuviese presente, y de esta manera podríamos hacer un screening simultáneamente a la práctica de la determinación que con mayor frecuencia se solicita a nuestros laboratorios, el hemograma.

La importancia del laboratorio en el diagnóstico y seguimiento de la malaria también radica en la valoración de otros parámetros con valor pronóstico en la enfermedad. Entre los indicadores de mal pronóstico en la malaria grave se incluyen:

- Hiperparasitemia, >250000/microlitro o >2 % de hematíes parasitados en pacientes no inmunes y > 5% en pacientes con inmunidad parcial.

- Esquizontes de *P. falciparum* en sangre periférica
  - Parásitos maduros con pigmentación (> 20 % de los parásitos)
  - Leucocitos circulantes con pigmento de hemozoína (>5 %)
  - Hemoglobina < 50 g/L o hematocrito < 15 %
  - Cifra de neutrófilos > 12 x 10<sup>9</sup>/L
  - Alteraciones de coagulación, cifra de plaquetas < 50 x 10<sup>9</sup>/L
  - Tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada alargados
  - Fibrinógeno < 2 g/L
  - Disminución de niveles de antitrombina III
  - Hipoglicemia < 2.2 mmol/l (< 40 mg/dl)
  - Alteraciones acido-base: HCO<sub>3</sub> venoso < 15 mmol/l y/o pH arterial < 7,3
  - Lactato > 5 mmol/L
-

- Función renal: creatinina sérica > 3 mg/dL (>265 mmol/L)
- Función hepática: elevación de más de 3 veces los valores normales de AST, ALT
- En LCR: elevación de ácido láctico (>6 mmol/L) y disminución de glucosa en LCR.

### **Evolución:**

La paciente recibió Proguanil Atovaquone con buena evolución. Las muestras obtenidas después de 5 y 12 días no mostraron parásitos en la revisión del frotis, no hubo *clusters* en los gráficos y se normalizó el valor de NE-FSC.

---