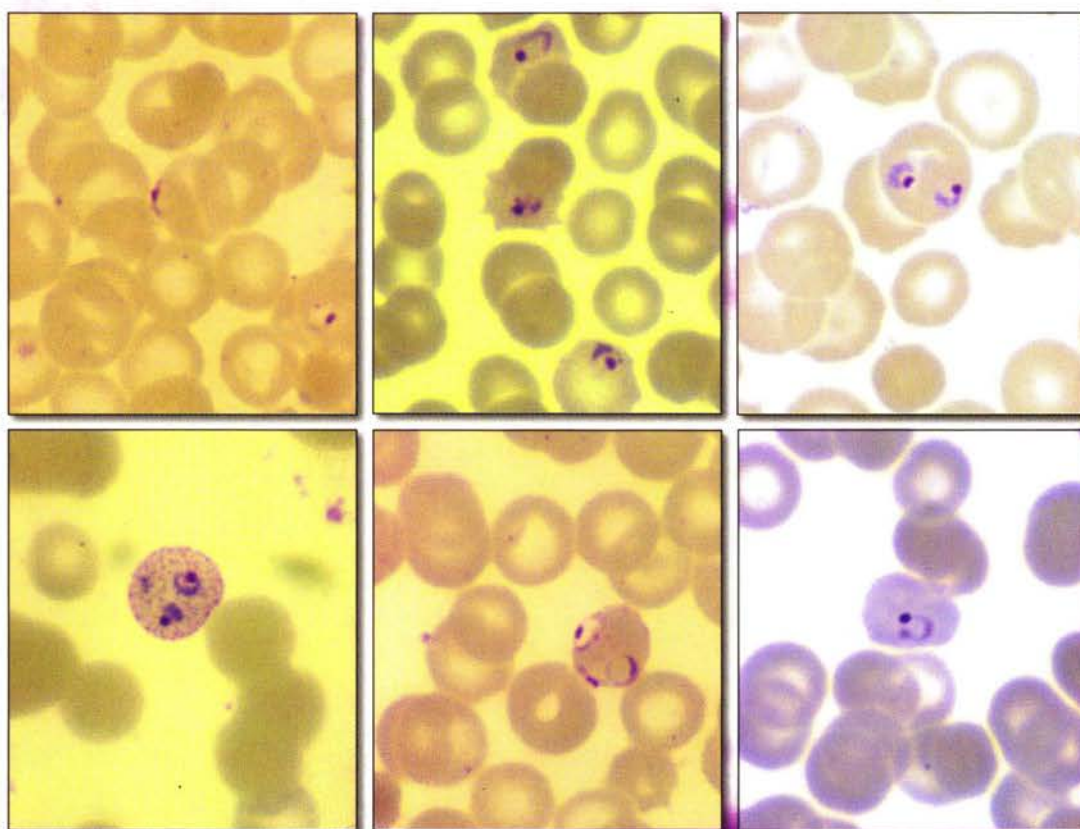


Medios auxiliares para el diagnóstico **MICROSCÓPICO DEL PALUDISMO**



bc. 1103

WC 750
2011 B5-2

Catalogación por la Biblioteca de la OMS:

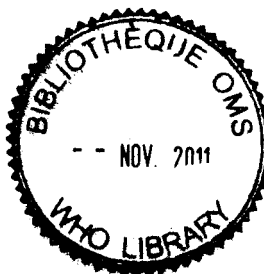
Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo.

1.Paludismo- diagnóstico. 2.Plasmodium - citología. 3.Plasmodium - atlas geográfico. 4.Técnicas y procedimientos de laboratorio. 5.Microscopia. 6.Materiales de enseñanza. 7.Manuales. I.Organización Mundial de la Salud.

ISBN 978 92 4 354786 2

(Clasificación NLM: WC 750)

Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico



Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo viene a ser la continuación de *Medios auxiliares para el diagnóstico de las infecciones palúdicas* (OMS, 2000). Ha sido preparada por John Storey a partir de la retroinformación aportada por una gran variedad de profesionales y expertos que utilizaron la segunda edición de esta última obra, a su vez diseñada y producida por los profesores Lawrence Ash y Thomas Orihel. La revisión fue coordinada por la Oficina Regional de la OMS para el Pacífico Occidental a pedido del Programa Mundial del Paludismo.

Acknowledgements

La Organización Mundial de la Salud agradece al Organismo Australiano para el Desarrollo Internacional (AusAID) y a la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID) el apoyo económico que prestaron para la preparación de la presente obra.

Reconoce asimismo las valiosas sugerencias y aportaciones técnicas incorporadas a la presente obra que han hecho los siguientes expertos: Dra. Kalpana Baruah, Dr. Andrew Beljaev, Dr. David Bell, Dr. Andrea Bosman, Dra. Jane Carter, Sra. Leigh Dini, Sra. Cecil Hugo, Dr. Derryck Karlowski, Dr. Ken Lilley, Dr. Earl Long, Dr. Peter Obare, Dr. Kevin Palmer, Sra. Arlene Leah Santiago y Dr. Raman Velayudhan.

© Organización Mundial de la Salud, 2010

Reservados todos los derechos.

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

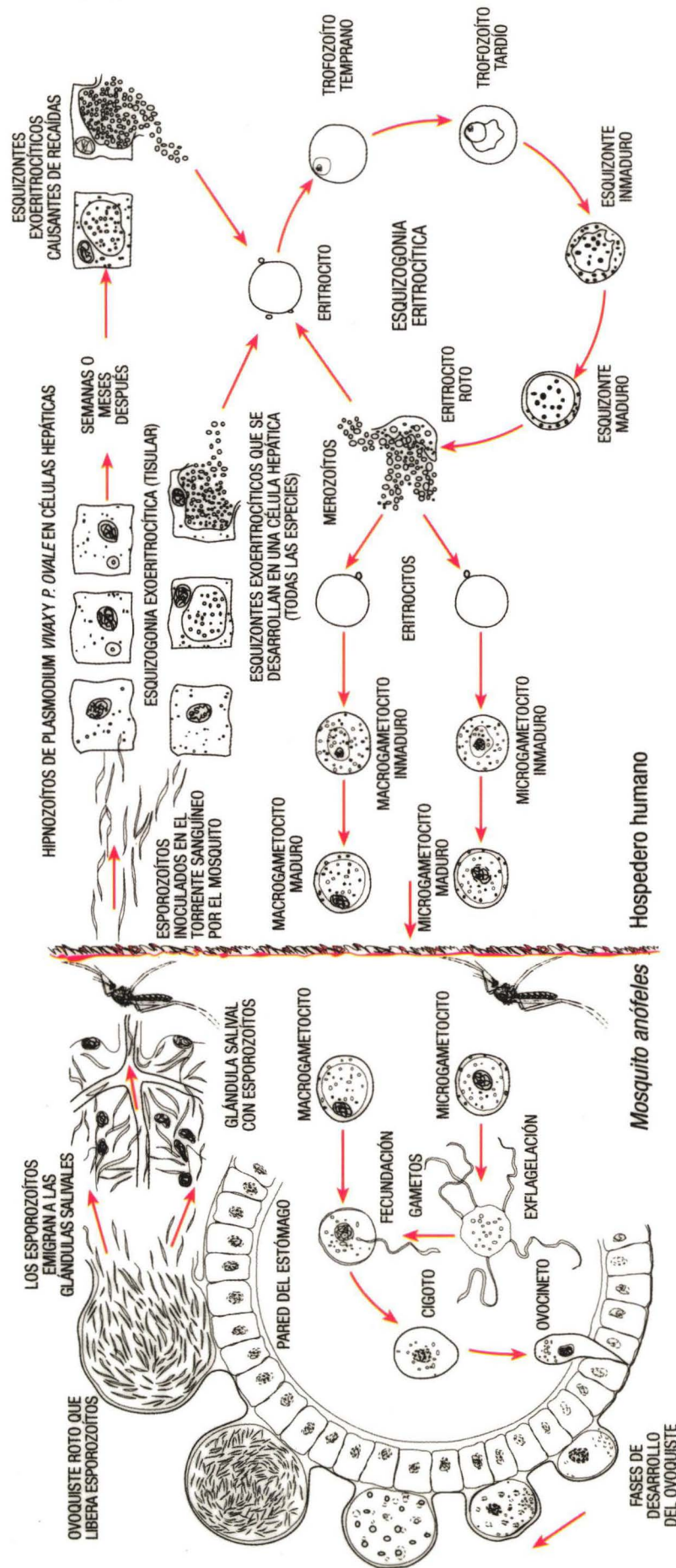
La Organización Mundial de la Salud ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la Organización Mundial de la Salud podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización. Las opiniones expresadas en la presente publicación son responsabilidad exclusiva de los autores cuyo nombre se menciona

Índice

Índice de las láminas	Lámina 1a
Ciclo biológico de los parásitos del paludismo	Lámina 1b
Introducción; El paludismo y su ciclo biológico	Lámina 2a
Elementos celulares, anomalías comunes y otros contaminantes en las extensiones sanguíneas finas	Lámina 2b
Bioseguridad en la manipulación de muestras de sangre; Preparación de una extensión gruesa y una extensión fina	Lámina 3a
<i>Plasmodium falciparum</i> en la extensión fina	Lámina 3b
El cuidado de los portaobjetos y errores comunes en la preparación de las extensiones	Lámina 4a
<i>Plasmodium falciparum</i> en la extensión gruesa	Lámina 4b
Utilización y cuidados del microscopio	Lámina 5a
<i>Plasmodium vivax</i> en la extensión fina	Lámina 5b
Soluciones soluciones tampón para la tinción de los parásitos del paludismo; El efecto del pH sobre la tinción	Lámina 6a
<i>Plasmodium vivax</i> en la extensión gruesa	Lámina 6b
La tinción mediante la técnica de Giemsa de los parásitos del paludismo en las extensiones sanguíneas	Lámina 7a
<i>Plasmodium malariae</i> en la extensión fina	Lámina 7b
<i>Plasmodium falciparum</i> ; <i>Plasmodium vivax</i>	Lámina 8a
<i>Plasmodium malariae</i> en la extensión gruesa	Lámina 8b
El examen rutinario de las extensiones sanguíneas para buscar parásitos del paludismo; Cómo contar los parásitos del paludismo en las extensiones gruesas	Lámina 9a
<i>Plasmodium ovale</i> en la extensión fina	Lámina 9b
Tinción rápida de las extensiones sanguíneas para el diagnóstico de los parásitos del paludismo	Lámina 10a
<i>Plasmodium ovale</i> en la extensión gruesa	Lámina 10b
<i>Plasmodium malariae</i> ; <i>Plasmodium ovale</i>	Lámina 11a
Infecciones mixtas; Los anticoagulantes y potenciales dificultades en el diagnóstico de infecciones mixtas	Lámina 11b
Cuadro sinóptico de las fases y especies de los parásitos en la extensión gruesa	Lámina 12a
Otros elementos en los frotis de sangre periférica; Babesiosis	Lámina 12b

Ciclo biológico del paludismo

Figura reproducida, con pequeñas modificaciones, del libro esencial malarology, de Bruce-Chwatt (Londres, Arnold, 1933), con autorización de H.M. Gilles y D.A. Warrell, compiladores.



Introducción

La guía *Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo* es una guía para personal de laboratorio y agentes sanitarios sobre el terreno que tienen a su cargo el diagnóstico del paludismo mediante el examen microscópico de extensiones sanguíneas (también llamadas frotis sanguíneos) teñidas con la técnica de Giemsa. También es útil para profesores y alumnos.

Las láminas muestran microfotografías en color de extensiones sanguíneas finas y gruesas teñidas, acompañadas de explicaciones acerca de las cuatro especies del parásito causante del paludismo humano y sus características morfológicas. Se describe cada especie y se dan instrucciones sobre la preparación de los frotis sanguíneos, el uso de soluciones tampón, la técnica de tinción de Giemsa, el examen de las láminas, y el modo de calcular la densidad parasitaria.

Se describen también otros elementos celulares que pueden verse en la sangre, así como varios contaminantes comunes que pueden ser confundidos con los parásitos del paludismo. La descripción abarca otros parásitos que pueden encontrarse en las extensiones de sangre periférica.

Las directrices de bioseguridad para la manipulación de muestras de sangre se explican claramente.

Algunos agentes sanitarios consideran que su destreza clínica basta para diagnosticar el paludismo con una exactitud invariable. Pero es bien sabido que el diagnóstico fidedigno exige la confirmación, por un microscopista capacitado, de que hay parásitos del paludismo en una extensión de sangre teñida.

Los microscopistas experimentados examinan de manera sistemática extensiones sanguíneas gruesas correctamente preparadas y teñidas para identificar las fases y especies de los parásitos causantes del paludismo humano. En caso de duda, el examen breve de una extensión fina generalmente confirmará el diagnóstico. La exactitud resulta esencial porque el tratamiento y la atención que recibe el paciente pueden variar según la especie, la resistencia del parásito a los fármacos disponibles y la gravedad de la infección. Cometer un error en el diagnóstico, especialmente con relación a *Plasmodium falciparum*, puede ocasionar rápidamente una urgencia médica potencialmente mortal.

Para facilitar la consulta, se ha procurado ordenar las láminas en la secuencia que se sigue habitualmente en el laboratorio.

Al final de la obra se presenta una lista de lecturas suplementarias.

El paludismo y su ciclo biológico

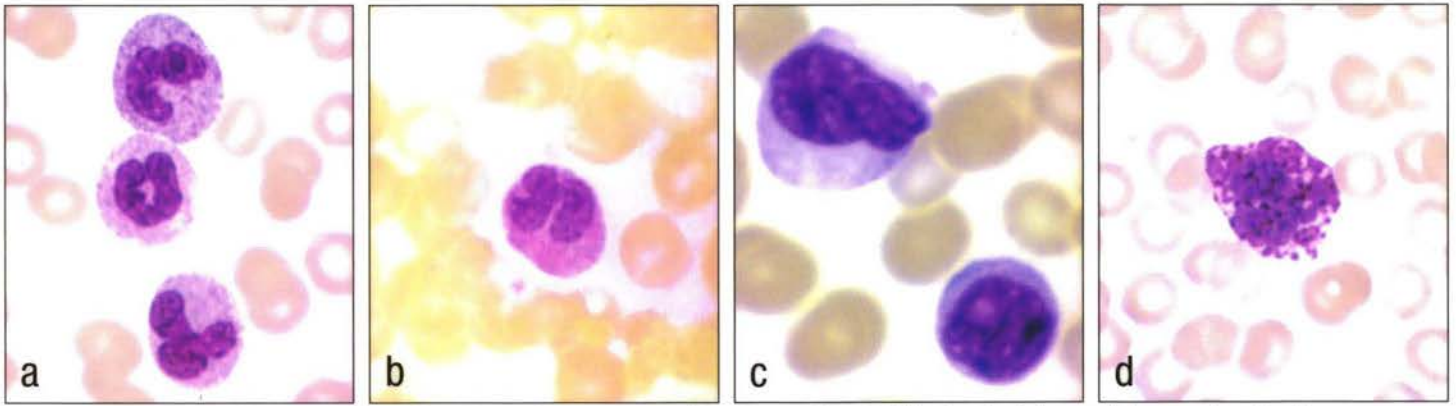
En todo el mundo, el paludismo afecta cada año a unos 250 millones de personas y causa la muerte de más de 860 000, que son niños en su mayoría. La enfermedad alcanza su prevalencia máxima en los países en vías de desarrollo de África y Asia. Está causada por un parásito protozoario del género *Plasmodium* y cuatro especies de este son importantes para el ser humano: *Plasmodium falciparum* (el más peligroso), *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*. Los parásitos invaden los eritrocitos y los destruyen, y pueden afectar a órganos vitales, en particular en particular al cerebro. La mayoría de las muertes son consecuencia del paludismo cerebral por *P. falciparum*.

El paludismo es transmitido a los seres humanos por las hembras del mosquito anófeles. De las 70 especies que transmiten esta enfermedad en todo el mundo, unas 40 son vectores importantes. Los mosquitos se infectan cuando pican a una persona cuya sangre contiene **gametocitos**, que son las formas sexuales del parásito. Los **macrogametocitos**, femeninos, y los **microgametocitos**, masculinos, se convierten en **gametos** maduros en el intestino del mosquito. La fecundación de un **macrogameto** (femenino) por un **microgameto** (masculino) da origen a un **ovocineto** móvil que emigra a la pared intestinal, donde se convierte en un **ovoquiste**. El **ovoquiste** se multiplica asexualmente y da origen a hasta 10 000 **esporozoítos** fusiformes que, al romperse el **ovoquiste**, emigran a las glándulas salivales del mosquito. El desarrollo y la multiplicación del plasmodio en el vector dependen de la temperatura ambiente: A temperaturas entre 25 y 30 °C, pueden transcurrir entre 7 y 14 días desde la primera ingesta de sangre infectada hasta la primera picadura infectiva, pero este lapso de tiempo puede alargarse a temperaturas ambientales más bajas. Cuando los esporozoítos pasan al torrente circulatorio, son transportados al hígado del huésped humano, donde invaden células **parenquimatosas** y allí se transforman en **esquizontes exoeritrocíticos**.

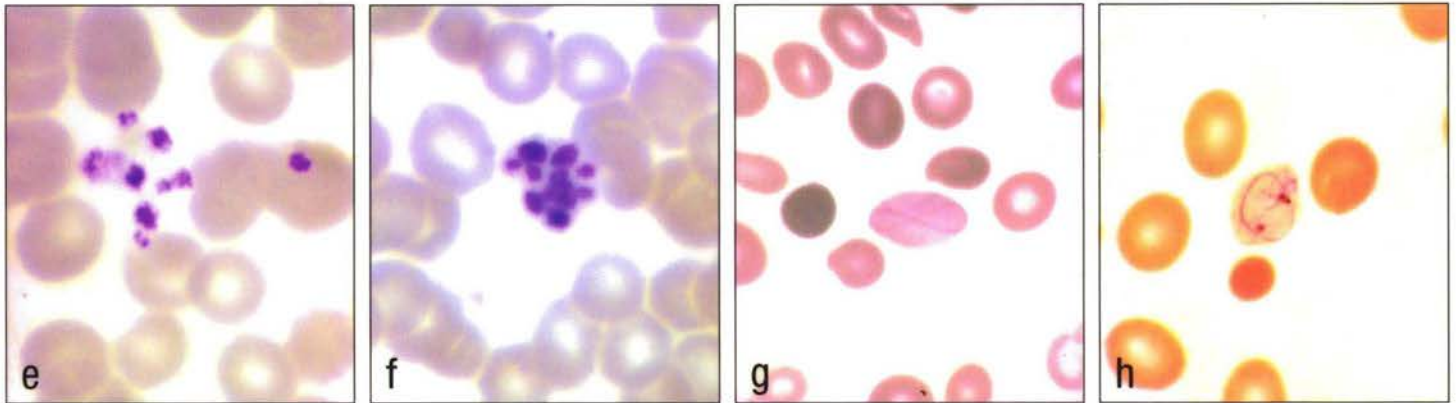
Sigue después una fase de multiplicación que dura entre 5,5 y 15 días, al cabo de la cual, según la especie, el **esquizonte** maduro se rompe y libera miles de **merozoítos** en el torrente circulatorio. En el paludismo por *P. vivax* y *P. ovale*, algunos esporozoítos no se convierten de inmediato en esquizontes sino que permanecen latentes durante meses como **hipnozoítos**. Este periodo de latencia antes de su posterior desarrollo explica las recaídas que se observan en la infección por estas dos especies. *P. falciparum* y *P. malariae* no forman hipnozoítos, aunque las recrudescencias a partir de los eritrocitos no son inusuales en el paludismo sin tratar.

Los **merozoítos** invaden los eritrocitos, donde se nutren de hemoglobina y se transforman en **trofozoítos**. A su vez, los **trofozoítos** pasan a ser **esquizontes** en esta **fase eritrocítica**, durante la que se produce el **pigmento palúdico** como producto colateral del metabolismo. La reproducción es mediante división asexual (**esquizogonia eritrocítica**). Los esquizontes maduros contienen entre 6 y 24 **merozoítos**, dependiendo de la especie. Al romperse, los eritrocitos liberan **merozoítos** al torrente circulatorio, donde estos infectan a nuevos eritrocitos y el ciclo vuelve a empezar. La fiebre aparece en el momento en que se rompen los eritrocitos. La repetición de este ciclo va aumentando la parasitemia. Después de varias tandas de esquizogonia eritrocítica, algunos merozoítos se diferencian en microgametocitos o macrogametocitos, que, al ser ingeridos por una hembra anofelina al picar, dan origen a otro ciclo de transmisión (lámina 1b).

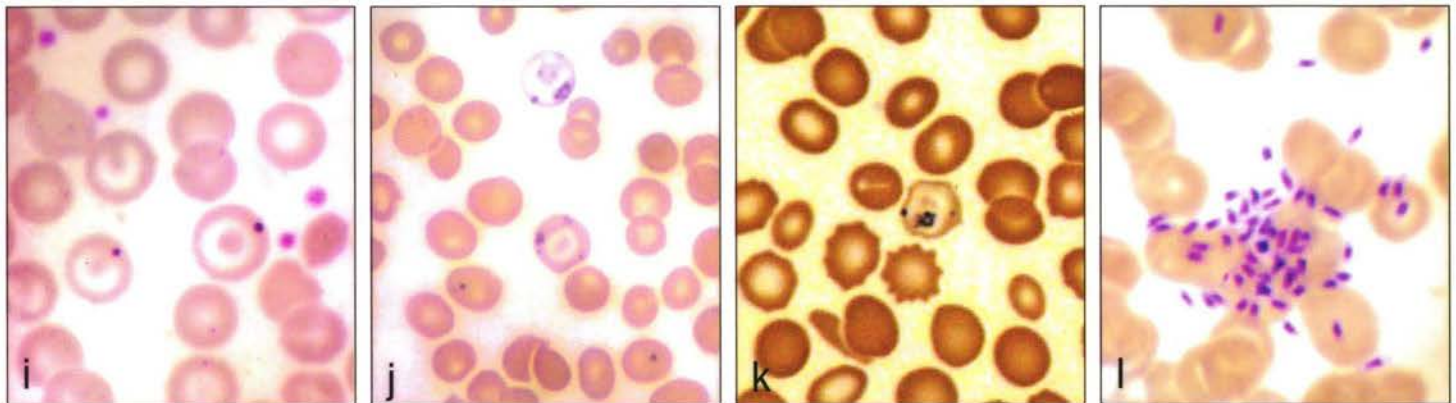
Elementos celulares, anomalías comunes y otros contaminantes de las extensiones sanguíneas finas



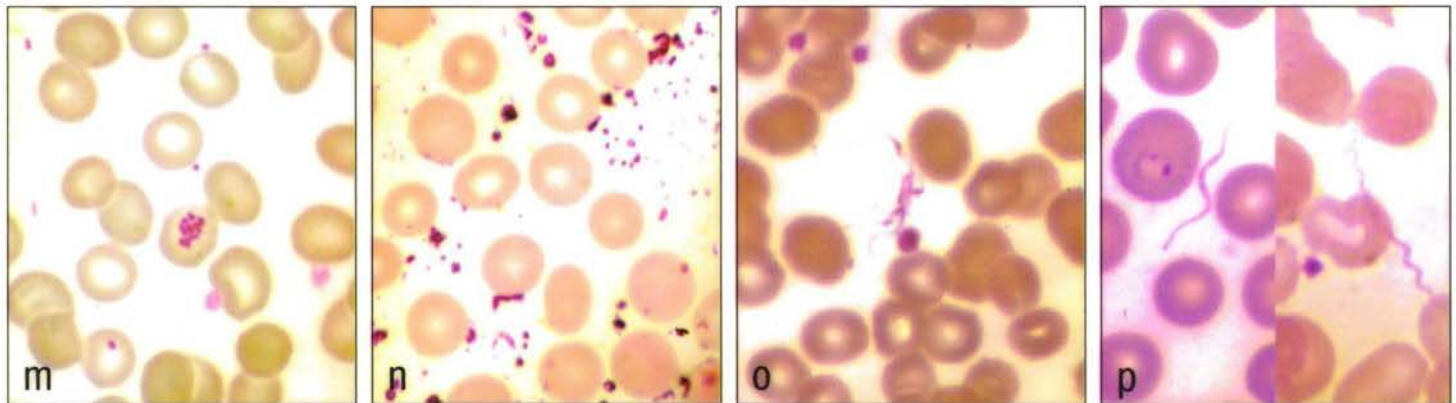
Leucocitos en las extensiones sanguíneas finas. Es común encontrar neutrófilos (a), eosinófilos (b), linfocitos (la célula pequeña) y monocitos (c), así como basófilos (d).



Plaquetas libres entre los eritrocitos. Cuando una plaqueta se superpone a los eritrocitos (e) o se observan cúmulos de plaquetas (f), la imagen se asemeja superficialmente a los esquizontes, con los cuales pueden confundirse. Los anillos de Cabot (g y h), inclusión celular que a menudo asume la forma de un anillo ovalado, se presentan en caso de anemia grave y se cree que son vestigios de las fibras del huso mitótico.



Cuerpos de Howell-Jolly. Estas formaciones (i y j) son fragmentos nucleares (ADN) que se tiñen de morado y a veces se confunden con las manchas de cromatina relacionadas con los parásitos del paludismo. Por otro lado, los cuerpos de Pappenheimer son depósitos basófilos pequeños e irregulares que pueden aparecer junto con los cuerpos de Howell-Jolly (j) o solos en el eritrocito (k, tinción de Wright, fotomicrografía gentileza de la señora Christiane Wahl). Los microscopistas inexpertos a menudo confunden otros objetos no fácilmente identificables (l) con parásitos del paludismo.

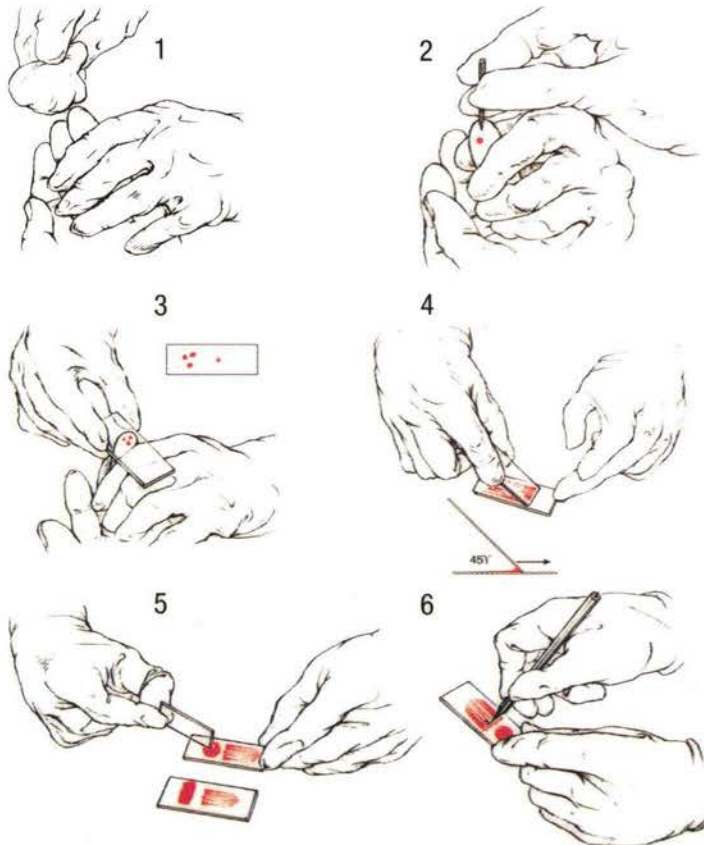


Contaminación de las extensiones sanguíneas. Los frotis se pueden contaminar con bacterias que aparecen como un cúmulo sobrepuesto a un eritrocito (m). Las extensiones sanguíneas mal lavadas después de la tinción pueden retener depósitos del colorante (n). La sangre palúdica con anticoagulante que se conserva a temperatura ambiente suele tener microgametocitos y macrogametos exflagelados (o). En la imagen dividida (p), un microgameto de núcleo central se encuentra adyacente a un eritrocito infectado. En la parte derecha puede verse una espiroqueta típica de la especie *Borrelia*; aunque esta se parece a un microgameto palúdico, es más alargada y gruesa y carece de núcleo.

Bioseguridad en la manipulación de muestras de sangre

Los laboratorios deben regirse por las directrices nacionales de seguridad, basadas a su vez en las normas internacionales establecidas. Las muestras de sangre se considerarán potencialmente infecciosas y el personal de laboratorio deberá estar capacitado para establecer y aplicar procedimientos operativos estándar y las directrices sobre bioseguridad, como se explica en los siguientes apartados.

1. Instaurar procedimientos operativos estándar claramente explicados por escrito que abarquen todos los pasos de las tareas que se efectúan.
2. Capacitar al personal de laboratorio para que asimile estos procedimientos.
3. Usar siempre vestimenta protectora en el laboratorio.
4. Usar guantes de goma protectores cuando se extraigan y manipulen muestras de sangre.
5. Evitar tocarse los ojos, la nariz o la piel con las manos enguantadas.
6. Quitarse los guantes al finalizar el trabajo. No salir del puesto de trabajo con los guantes puestos.
7. Descartar los guantes que se consideren contaminados o gastados, lavarse las manos y usar un nuevo par de guantes.
8. Lavarse las manos con agua y jabón inmediatamente después de cualquier contaminación y al terminar el trabajo.
9. Lavar concienzudamente con agua y jabón las heridas por punción, los cortes y las partes de la piel contaminadas por derrames o salpicaduras de sangre.
10. Informar inmediatamente al supervisor del laboratorio si ocurre cualquier pinchazo o exposición real o potencial a muestras infecciosas.
11. Depositar las lancetas usadas y las agujas y otros materiales contaminados en un recipiente para desechar objetos punzocortantes.
12. Al final de cada jornada, limpiar las superficies de trabajo con un producto desinfectante de uso general, como puede ser una solución de hipoclorito de sodio a una concentración que equivalga a 0,1% de cloro disponible (1 g/l).
13. No comer ni beber fuera de las zonas designadas para esta finalidad; nunca debe permitirse fumar.
14. Restringir el acceso al laboratorio únicamente al personal autorizado.



Preparación de una extensión gruesa y una extensión fina sobre la misma laminilla para el examen microscópico ordinario

El examen rutinario se limita a la extensión gruesa; la extensión fina se usa como etiqueta y para fines de confirmación cuando resulta difícil identificar la especie del parásito.

Material necesario: portaobjetos limpios y envueltos; lancetas estériles; etanol al 70%; agua; algodón absorbente; guantes protectores; guantes protectores de latex; paño de algodón que no suelte pelusa; caja o cubierta para proteger las lámina de las moscas y el polvo; formularios; lápiz de punta suave; bolígrafo.

1. Sosteniendo la mano izquierda del paciente con la palma hacia arriba, seleccione el tercer dedo contando a partir del pulgar. En los menores de un año puede utilizar el dedo gordo del pie; pero en los niños mayores y los adultos nunca pinche el pulgar.

Con un algodón humedecido en etanol al 70% frote la yema del dedo para limpiar la grasa y la suciedad.

Frote vigorosamente para estimular la circulación sanguínea y seque el dedo con un paño de algodón que esté limpio.

2. Con una lanceta estéril, pinche la yema del dedo imprimiendo un movimiento giratorio rápido.

Exprima una gota de sangre y límpiela con el paño. Compruebe que no queden sobre el dedo hebras de algodón que posteriormente vayan a mezclarse con la sangre.

3. Coja los portaobjetos únicamente por los bordes y actúe con rapidez para recoger la sangre: aplique una presión suave sobre el dedo y recoja una sola gota de sangre, más o menos de este tamaño ●, sobre la parte media del portaobjetos.

Exprima tres gotas más grandes de sangre, aproximadamente de este tamaño ●, y deposítelas más o menos a 1 cm de distancia de la primera gota, que se usará para hacer el frotis fino.

Limpie la sangre del dedo y oprima el sitio del pinchazo para detener la salida de sangre.

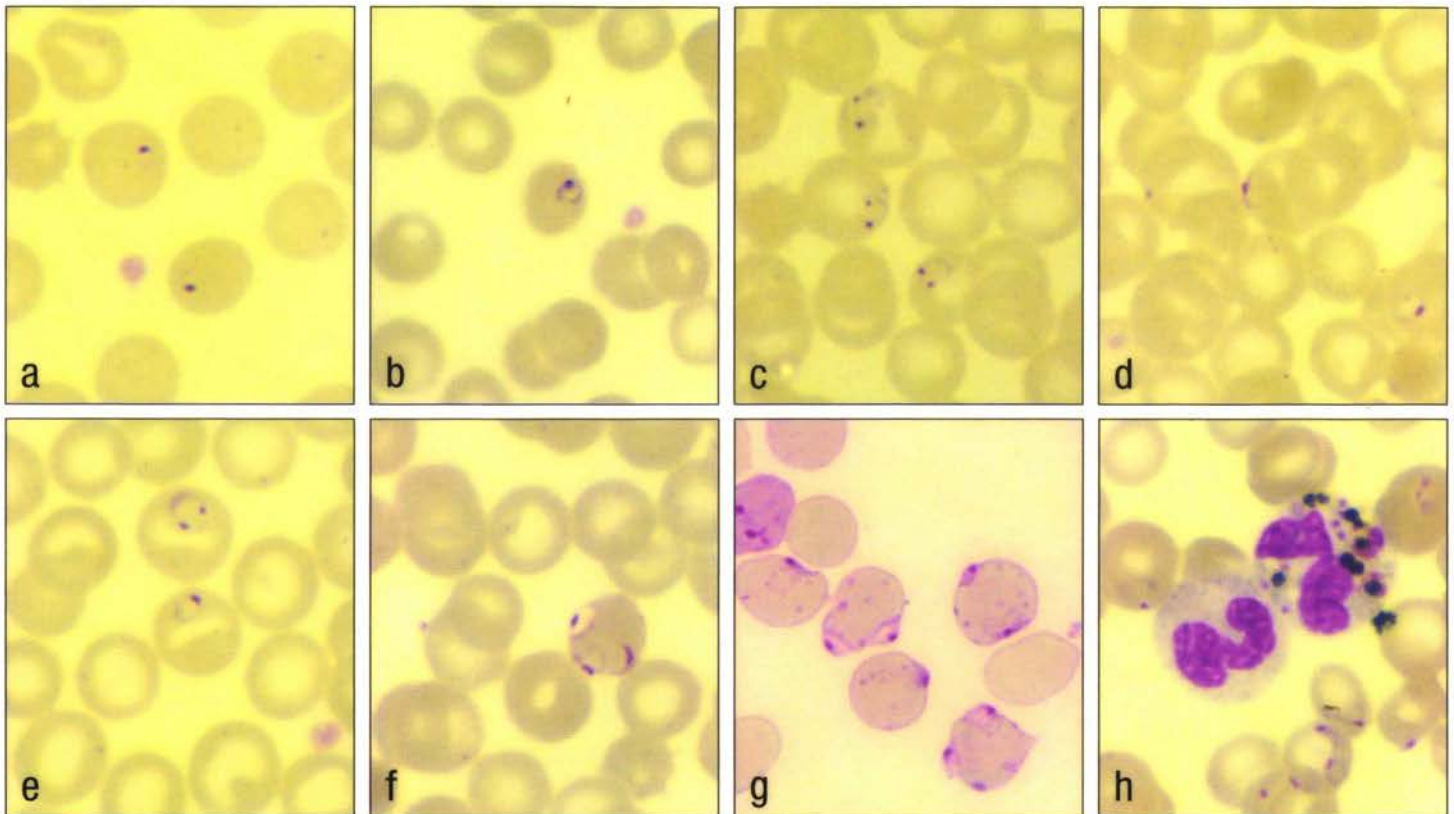
4. **Extensión fina.** Utilizando un portaobjetos limpio como extensor y habiendo colocado el portaobjetos con las gotas de sangre sobre una superficie plana y estable, toque la gota pequeña con el extensor y espere a que la sangre corra por el borde de este. Mediante un movimiento firme y suave empuje el extensor sobre el portaobjetos manteniéndolo en un ángulo de 45°; procure que el extensor mantenga un contacto uniforme con la superficie del portaobjetos.

5. **Extensión gruesa.** Sostenga el extensor por los bordes o de una esquina. Con una esquina del extensor una rápidamente las gotas y extiéndalas para formar una película gruesa uniforme. Absténgase de agitar en exceso. Para formar una película circular o rectangular bastan entre tres y seis movimientos continuos. Los frotis gruesos circulares deben tener más o menos 1 cm de diámetro.

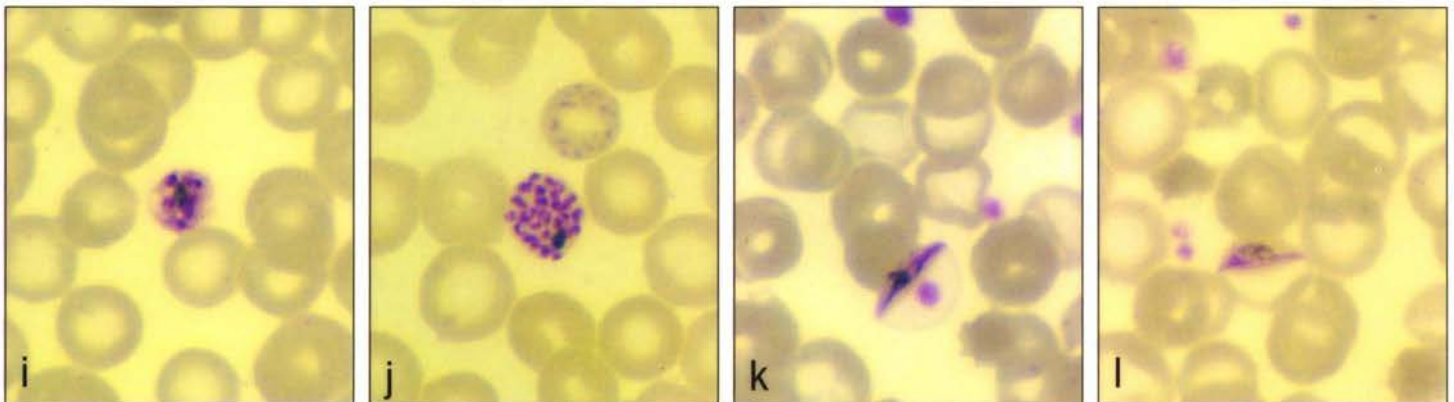
6. Cuando el frotis delgado se seque, escriba sobre él los datos del paciente utilizando el lápiz de punta suave; no use el bolígrafo para este fin. Deje el portaobjetos en posición horizontal para que se seque el frotis grueso; protéjalo de las moscas, el polvo, el calor excesivo y la luz del sol.

El portaobjetos que se ha utilizado como extensor debe usarse para preparar sobre él las extensiones del paciente que sigue; hay que extraer del paquete otro portaobjetos limpio para usarlo como extensor. Las extensiones secas deben remitirse rápidamente al laboratorio junto con los datos del paciente o el formulario correspondiente.

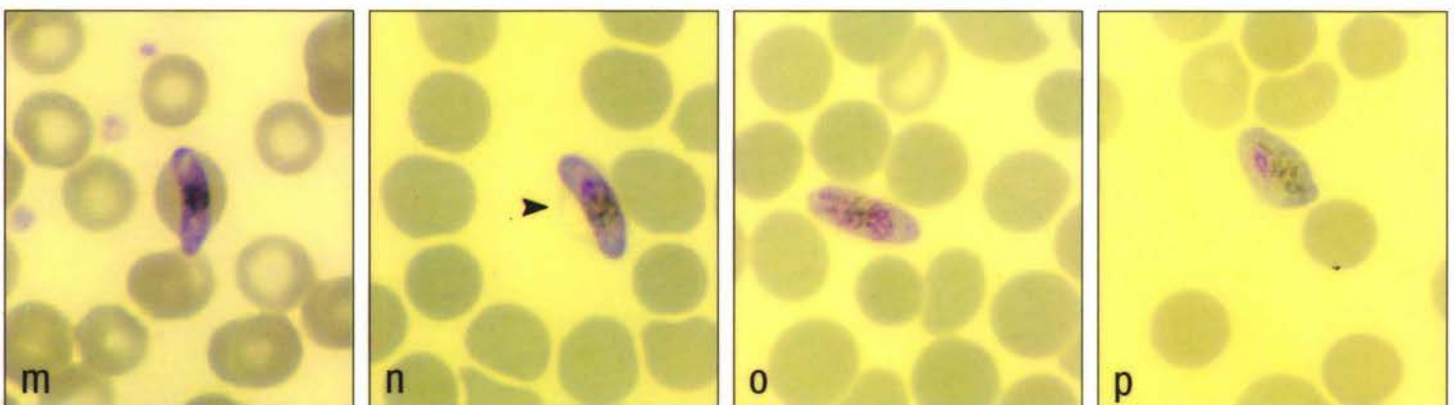
A lo largo de este procedimiento hay que observar rigurosamente las medidas de seguridad.

***Plasmodium falciparum* en la extensión fina**

Trofozoítos. El «anillo» fino de citoplasma azul típico de los trofozoítos de *P. falciparum* es más pequeño que en las otras tres especies y presenta una sola mancha, con frecuencia dos, de cromatina de color rojo rubí (a a e). Los merozoítos invaden eritrocitos de todas las edades, y la invasión múltiple es frecuente (f a h). Las formas aplicadas producen la impresión de que los parásitos se encuentran fuera del eritrocito (f y g). El eritrocito infectado no se agranda y las hendiduras de Maurer solo se aprecian en las extensiones bien teñidas (g). No hay trofozoítos en desarrollo ni maduros de *P. falciparum*, excepto en las infecciones muy intensas. La fagocitosis es evidente a juzgar por las masas de pigmento palúdico que hay en los granulocitos (h).



Esquizontes. Son infrecuentes en la sangre periférica. Habitualmente los esquizontes maduros son compactos y contienen entre 16 y 24 merozoítos (pueden ir desde 8 hasta 40). El pigmento suele fusionarse en una masa sencilla o doble situada en cualquier parte del eritrocito (i y j).



Gametocitos. En la etapa inicial del desarrollo de esta fase se reconocen como cuerpos fusiformes; a menudo, la membrana eritrocítica es difícil de ver (k y n, flecha). Se convierten rápidamente en los característicos cuerpos en forma de banana o salchicha con extremos redondeados (m a o). Los macrogametocitos tienen citoplasma azul y la cromatina es una masa morada intensa; el pigmento es más oscuro y está más concentrado que en los microgametocitos (m y n). El citoplasma del microgametocito tiene un color morado con tinte rosado, la cromatina está más difusa y dentro del protozoo hay gránulos dispersos de pigmento (o). Algunos microgametocitos adoptan formas caprichosas (p), lo que dificulta el diagnóstico.

El cuidado de los portaobjetos

Limpieza y almacenamiento de los portaobjetos

Los portaobjetos sucios ocasionan la preparación de frotis de mala calidad, condicionando la precisión de la microscopía, y poniendo en riesgo a los pacientes. Para implantar normas fiables, procure que todos los portaobjetos se seleccionen con cuidado y luego se limpien, se envuelvan y se guarden correctamente.

Utilice portaobjetos de calidad superior con bordes esmerilados; hay quienes prefieren portaobjetos con un extremo esmerilado que sirve de etiqueta. En las zonas tropicales, los portaobjetos de mala calidad pronto se opacan, se empañan y acaban siendo inútiles. Los portaobjetos que se anuncian como prelavados también deben lavarse y secarse antes de usarlos.

Portaobjetos para el laboratorio hospitalario

- Ponga los portaobjetos nuevos, separándolos, en una solución tibia con detergente y déjelos remojar toda la noche.
- Utilizando un paño limpio de algodón, frote ambos lados del portaobjetos con los dedos índice y pulgar.
- Enjuague cuidadosamente cada portaobjetos en agua corriente para eliminar el detergente.
- Sacuda el exceso de agua de cada portaobjetos y póngalos en un frasco con tapa de rosca lleno de alcohol.

- Llegado el momento, extraiga el portaobjetos de allí y séquelo con un paño limpio de algodón que no suelte pelusa. Coja los portaobjetos únicamente por los bordes.

Portaobjetos para estudios o para almacenamiento en bancos de láminas

- Recicle los portaobjetos usados dejándolos en remojo durante la noche en una solución tibia de detergente; limpie cada lado individualmente, según se explicó líneas arriba, para eliminar todo vestigio del aceite de inmersión y de la extensión de sangre anterior.
- Una vez limpios, enjuague muy bien los portaobjetos para eliminar el detergente.
- Seque cada portaobjetos con un paño que no suelte pelusa; separe los portaobjetos desportillados o rayados para usarlos en otras tareas de laboratorio.
- Envuelva los portaobjetos secos con hojas de papel de 11 x 15 cm; doble los bordes del papel hacia abajo y fijelos con cinta adhesiva transparente.
- Envase los portaobjetos a razón de 10 paquetes por caja (usando la caja original en que venían) y guárdelos en un armario a temperatura ambiente hasta que se necesiten.

Errores comunes en la preparación de las extensiones sanguíneas

Al preparar los frotis, tanto los finos como los gruesos, se cometen varios errores que pueden afectar al rotulado, a la tinción y al examen.

El frotis fino es demasiado grande y se coloca en la dirección incorrecta; el frotis grueso se coloca en el lugar equivocado

Las preparaciones mal colocadas sobre el portaobjetos pueden resultar raspadas por el borde de las cubetas de tinción y las gradillas o soportes de secado; es difícil alinear el objetivo del microscopio para el examen.

Demasiada sangre

Después de la tinción, el campo del frotis grueso estará intensamente teñido y habrá en él demasiados leucocitos, lo que impedirá observar los parásitos; las muchas capas de eritrocitos fijados harán que resulte imposible examinar el frotis fino.



Poca sangre

No se podrá hacer el examen corriente, y el frotis será excesivamente delgado para poder usarlo como etiqueta.



Extensiones sanguíneas hechas sobre un portaobjetos grasiento

Partes del frotis grueso se desprenderán durante la tinción; las preparaciones presentarán huecos y serán irregulares, por lo que el examen corriente no solo resultará difícil sino poco fiable.



El borde del portaobjetos extensor está desportillado

El frotis fino tendrá muchas prolongaciones y al extender el frotis grueso este puede ser desigual.

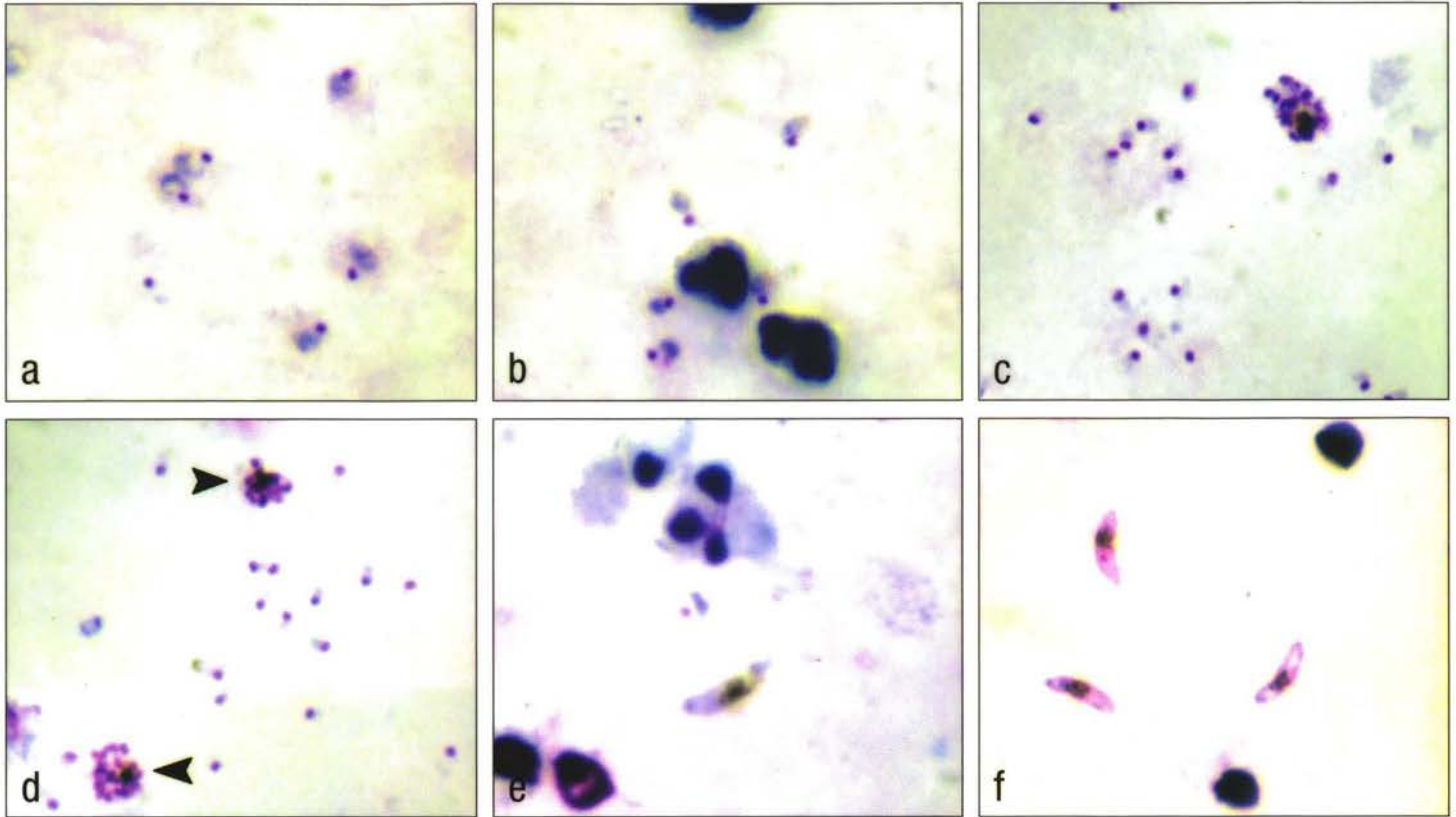


El condiciones de calor y humedad, la demora en la tinción puede causar la autofijación del frotis grueso, lo que da por resultado una extensión opaca y mal teñida.

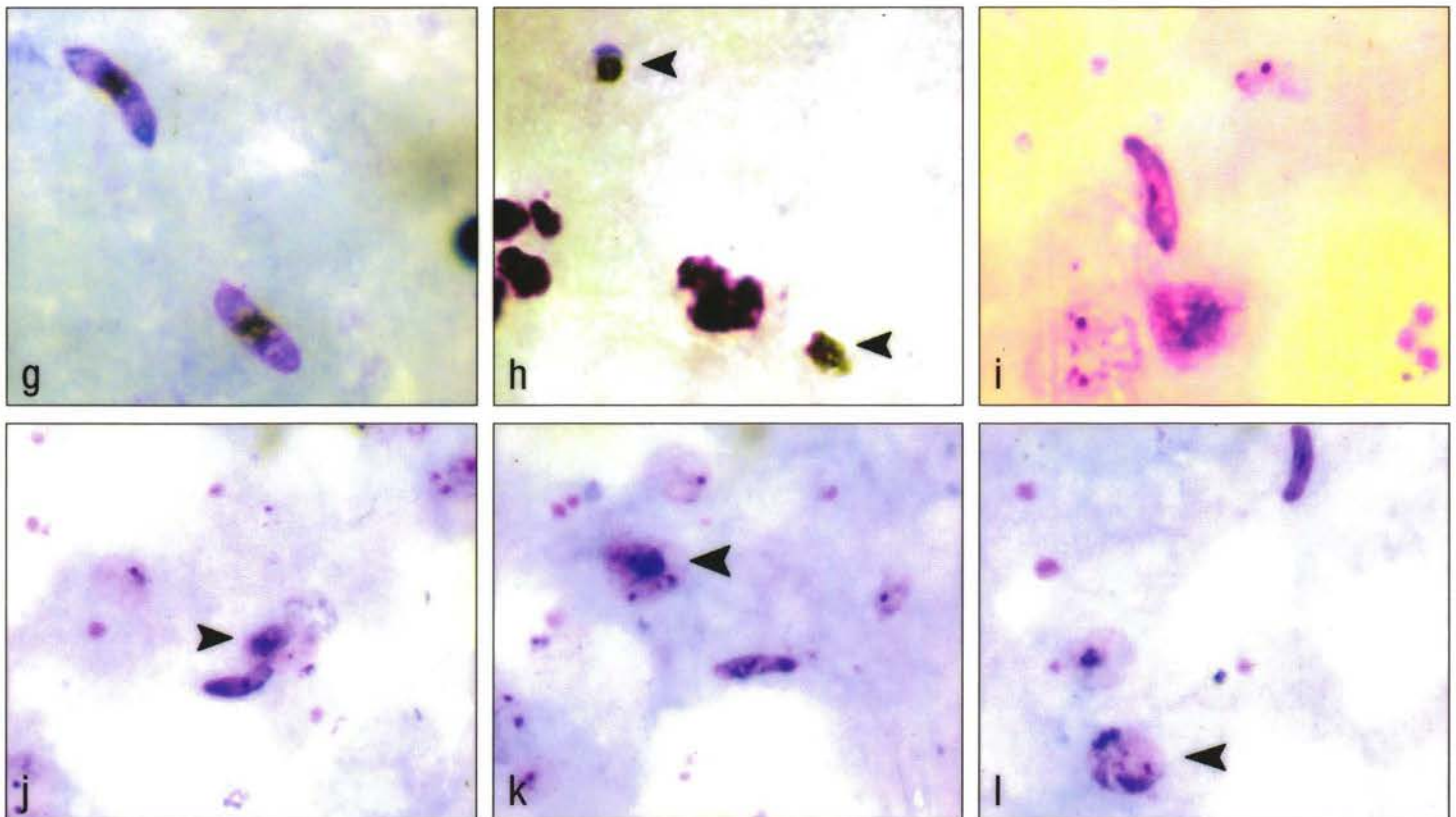
Otros errores comunes

En la preparación de las extensiones sanguíneas se pueden cometer otros errores comunes, a saber:

- las moscas, cucarachas u hormigas se comen la sangre seca, lo que daña las extensiones;
- las extensiones se preparan en portaobjetos muy rayados o que presentan una superficie con aspecto «congelado» o iridiscente;
- se permite el secado desigual de los frotis gruesos;
- se produce la autofijación del frotis grueso por el paso del tiempo o la exposición al calor, lo que ocasiona una tinción difícil o insatisfactoria;
- los portaobjetos se pegan entre sí porque se envuelven juntos antes de que los frotis gruesos se hayan secado debidamente.

***Plasmodium falciparum* en la extensión gruesa**

Las formas anulares son pequeñas, delicadas, abundantes y tienen citoplasma escaso (**c** y **d**); las formas en coma abundan, al igual que los anillos distorsionados por la deshemoglobinización que se produce durante la tinción. Los puntos dobles de cromatina son comunes y los trofozoitos más maduros presentan más citoplasma, pero por lo común no hay otras fases (**a** y **b**). En las infecciones intensas raras veces se observan esquizontes (**d**, flechas). La presencia de un gran número de formas anulares sin otras fases permite establecer el diagnóstico de la infección por esta especie; lo mismo puede decirse de la presencia de formas anulares junto a gametocitos característicos en forma de banana (**c** y **e**).



En algunos campos solo se observan gametocitos (**f** y **h**). La manipulación brusca de la sangre al preparar la extensión o, lo más frecuente, el secado lento de las extensiones gruesas provoca cambios en la forma de los gametocitos que dificultan el diagnóstico definitivo de la fase del parásito (**i**). Las infecciones mixtas pueden ser más comunes durante la temporada de transmisión. Las fotomicrografías **j** y **k** muestran cada una un gametocito de *P. falciparum*, muchas formas anulares de *P. falciparum* y un trofozoito de *P. vivax* (flecha); en **l** se aprecia un gametocito de *P. falciparum* y un trofozoito de *P. vivax* (flecha).

Utilización y cuidados del microscopio

El microscopio

Para el examen microscópico rutinario del paludismo se usa un microscopio binocular compuesto. Con un par de lentes oculares de $\times 10$ y un objetivo de inmersión en aceite de $\times 100$, ofrece una amplificación de $\times 1000$. No se recomienda efectuar el examen microscópico con luz solar y el espejo porque la iluminación resulta insuficiente. Por motivos de eficiencia, debe usarse iluminación artificial que proceda de una lámpara y un condensador colocados debajo de la platina. Cuando los microscopios se utilizan en zonas de acceso difícil con suministro insuficiente de energía eléctrica, de preferencia debe emplearse un sistema de iluminación a base de diodos emisores de luz (LED) alimentado por pilas o por energía solar. Este tipo de lámpara es barato y debe incluirse en el presupuesto desde el momento de la planificación. Un filtro azul de luz diurna convierte la luz eléctrica amarilla en luz blanca natural y ayuda a minimizar las diferencias de color entre los parásitos del paludismo teñidos, lo que facilita el diagnóstico.

Ajuste de la iluminación

Para preparar el microscopio, encienda la fuente de luz, levante por completo el condensador y abra el diafragma hasta dos tercios de su apertura máxima. Retire una de las lentes oculares y, mirando por el tubo, alinee el condensador y la fuente de luz de manera que la luz más intensa se observe en el centro del condensador. Vuelva a colocar la lente ocular. Eleve el objetivo alejándolo de la platina y deposite una gota de aceite de inmersión sobre el frotis de sangre que va a examinar. Mirando de lado el microscopio, use el tornillo macrométrico para bajar lentamente el objetivo hasta que toque el aceite. Ajuste la intensidad de la luz para que sea confortable, y enfoque la preparación con el tornillo micrométrico. Examine la extensión siguiendo el procedimiento corriente.

Una vez terminada la sesión de trabajo, limpie suavemente el aceite del objetivo con papel especial para lentes. Limpie suavemente con un pañuelo desechable el aceite de las láminas examinadas.

Cuidados del microscopio

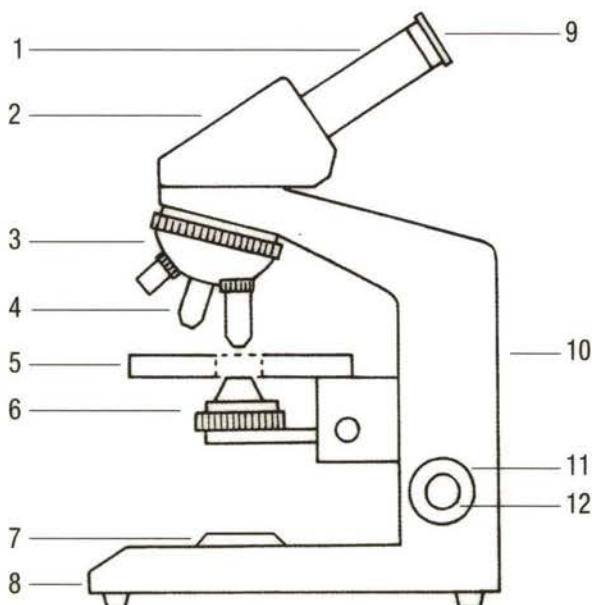
Las lentes y los prismas del microscopio deben protegerse del polvo y los hongos. Cuando el microscopio no se use, hay que protegerlo del polvo con una funda de tela o de plástico. En los climas húmedos, el microscopio debe guardarse en una caja o armario especial para evitar que sobre las lentes crezcan hongos. El armario se conserva cálido y seco manteniendo en su interior una bombilla de entre 15 y 25W permanentemente encendida. Si no hay electricidad, cada microscopio deberá guardarse en una caja de plástico con una tapa bien ajustada; la humedad en su interior puede mantenerse baja con ayuda de gel de sílice activo puesto en un frasco abierto. Este producto debe ser autoindicador: azul cuando está activo y rosado cuando debe recargarse. La recarga se consigue calentándolo en un horno o estufa, en general dos veces al mes. Los microscopios, lentes, cámaras y proyectores que se protegen de esta manera pueden permanecer protegidos del crecimiento de hongos.

Procure:

- mencionar, siempre que sea posible, el modelo del microscopio, así como el nombre y el número de las partes cuando encargue piezas de repuesto, y
- limpiar todos los días el aceite de inmersión del objetivo.

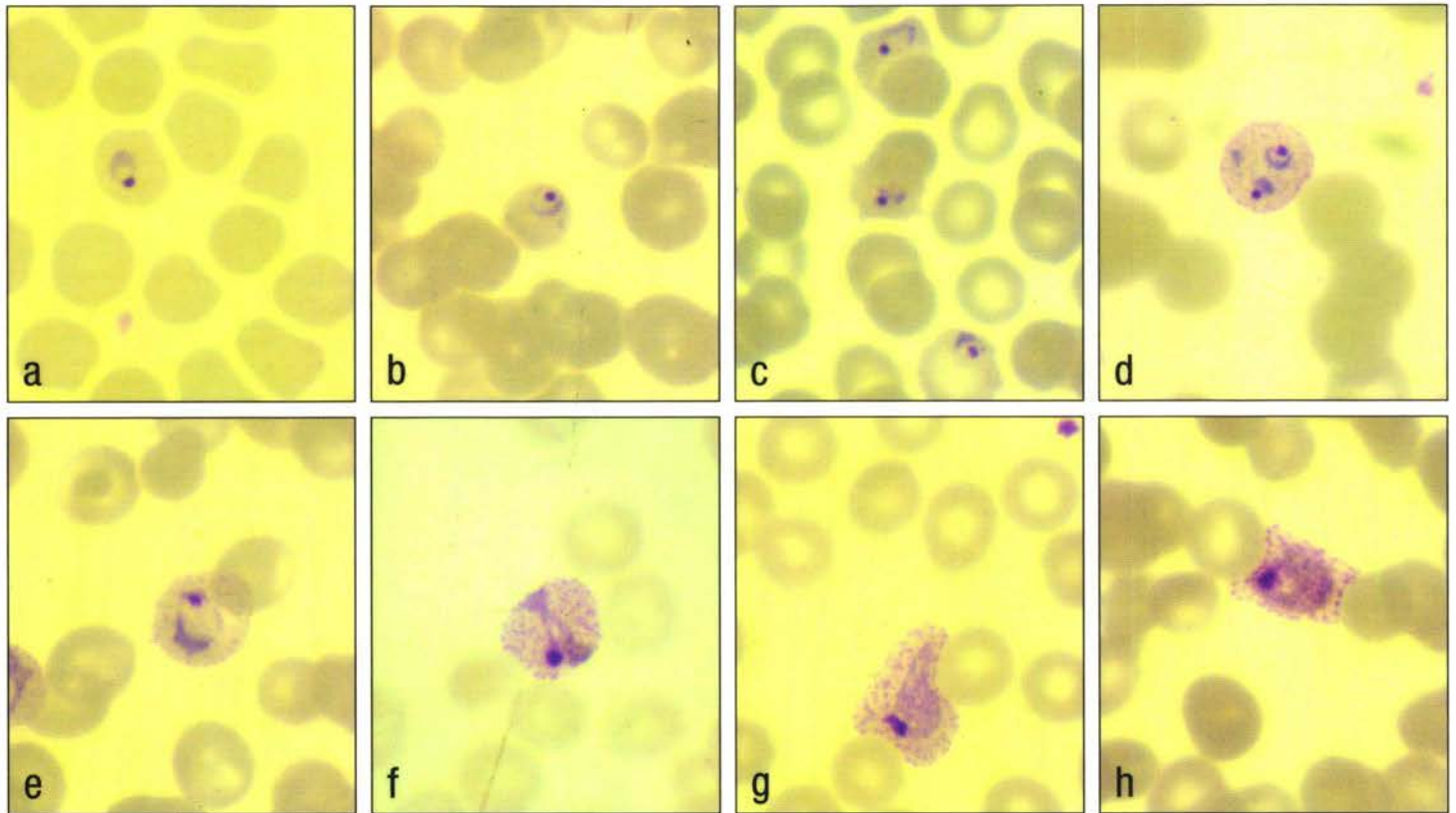
Absténgase de:

- desarmar el microscopio, a menos que se haya capacitado para hacerlo;
- usar alcohol para limpiar el microscopio;
- dejar abiertas las aberturas donde encajan las lentes; utilice la cubierta correspondiente o cinta aislante;
- intercambiar lentes y otras partes con otros microscopios, y
- transportar un microscopio sin comprobar que el tornillo sujetador esté bien apretado.

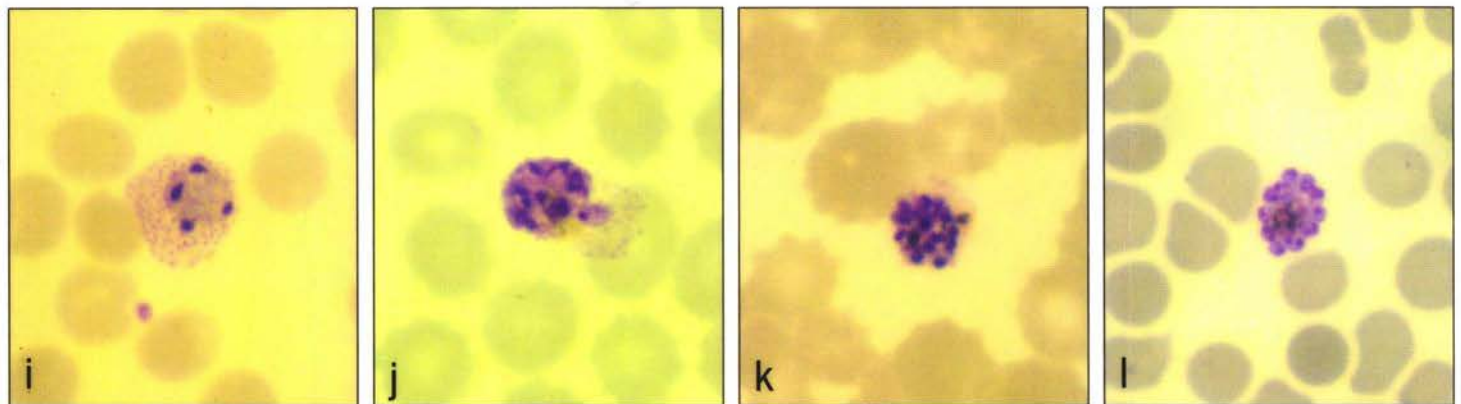


Las partes del microscopio compuesto ordinario

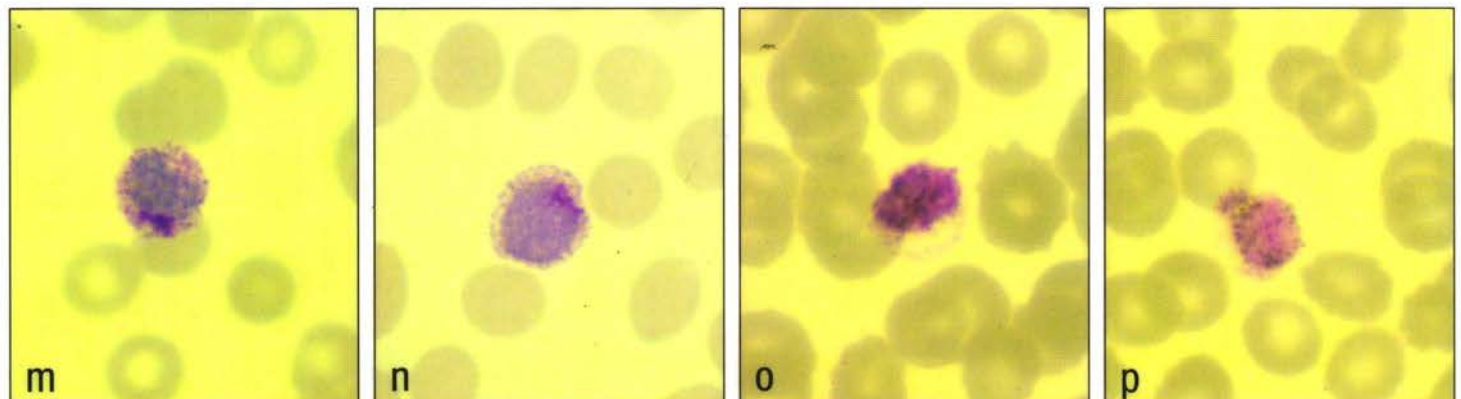
1. Tubo principal
 2. Cuerpo del tubo (prisma)
 3. Revólver
 4. Objetivo
 5. Platina
 6. Condensador con diafragma de iris
 7. Foco
 8. Base o pie
 9. Lente ocular
 10. Brazo
 11. Ajuste macrométrico
 12. Ajuste micrométrico
- } Cabezal inclinado

Plasmodium vivax en la extensión fina

Trofozoitos. Es difícil diferenciar las especies cuando solo hay formas anulares. En **a, b y c**, los eritrocitos infectados no han aumentado de tamaño, no hay moteado de Schüffner ni tampoco formas ameboides. Cada una de estas características ayuda a diagnosticar la infección por *P. vivax*. Para confirmar el diagnóstico hay que examinar más a fondo el frotis e identificar otras fases de *P. vivax*. La presencia de otras fases y formas anulares, como en **a, b y c**, podría indicar una infección mixta por *P. falciparum* y *P. vivax*. La doble infección de los eritrocitos por *P. vivax* es menos frecuente, y frente a una imagen como la **d** el microscopista debería asegurar el diagnóstico de *P. vivax*, y descartar a *P. ovale*, revisando de forma concienzuda el resto de la extensión. La combinación de formas ameboides del trofozoito, un agrandamiento eritrocítico considerable y el característico moteado de Schüffner son muy indicativos de infección por *P. vivax* (**e a h**).



Esquizontes. El esquizonte característico, que al principio es grande y ameboides, se divide rápidamente en una masa irregular y forma entre 12 y 24 merozoítos. cada uno de los merozoítos está compuesto de una pequeña masa de citoplasma, que se tiñe de azul, y un punto bien definido de cromatina roja. El moteado de Schüffner es evidente y el pigmento se agrupa en uno o dos conglomerados irregulares (**i a l**).



Gametocitos. Los gametocitos tienen por lo común un contorno regular y redondeado; a menudo es difícil distinguirlos de los trofozoitos maduros. De manera característica, el eritrocito que alberga un gametocito está agrandado y muestra un prominente moteado de Schüffner (**m y n**). Los macrogametocitos (**m y n**) son grandes y predominantemente azules, con una masa pequeña y compacta de cromatina que se tiñe de rojo oscuro muy intenso. Los microgametocitos (**o y p**) se ven como una gran masa difusa de cromatina de color rojo ladrillo y citoplasma azul claro que parece contener gránulos dispersos de pigmento.

Soluciones tampón para la tinción de los parásitos del paludismo

Una solución tampón a base de fosfato con un pH de 7,2 es esencial para el examen microscópico mediante la tinción de Giemsa. Existen comprimidos de solución tampón, pero son costosos y se echan a perder fácilmente en las zonas tropicales.

Solución tampón para uso cotidiano

1. Disuelva 1,0 g de fosfato disódico anhidro (Na_2HPO_4) y 0,7 g de fosfato monopotásico (KH_2PO_4) en 1 l de agua destilada o desionizada.
2. Determine el pH con el pHómetro, con un indicador cromático o con tiras medidoras del pH de intervalo estrecho.
3. Si el valor está por debajo de 7,2, ajústelo agregando pequeñas cantidades de solución de Na_2HPO_4 al 2%; si está por encima de esta cifra, agregue solución de KH_2PO_4 al 2%.
4. Una vez que el pH se haya equilibrado en 7,2, trasvase la solución a un frasco de vidrio oscuro con tapón hermético. Guárdela a cubierto de la luz del sol.

Esta solución debe durar varias semanas, pero hay que comprobar regularmente que no presente moho u otras impurezas; para ello, se agita el frasco y, si la solución se pone turbia, es el momento de reemplazarla.

Solución primaria concentrada para llevar en las visitas sobre el terreno o para enviar a lugares de difícil acceso

1. Disuelva 3,0 g de Na_2HPO_4 y 2,1 g de KH_2PO_4 en 25 ml de agua destilada o desionizada.
2. Si el pH está por debajo de 7,2, ajústelo agregando pequeñas cantidades de solución de Na_2HPO_4 al 2%; si está por encima de esta cifra, agregue solución de KH_2PO_4 al 2%.
3. Guarde la solución en un frasco de vidrio oscuro; de esta manera se conservará por varias semanas; agítela periódicamente para comprobar que no se haya formado moho.
4. Para preparar una solución de trabajo, diluya 1 ml de la solución primaria con 20 ml de agua destilada o desionizada.

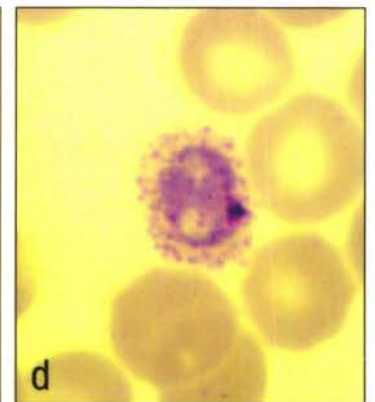
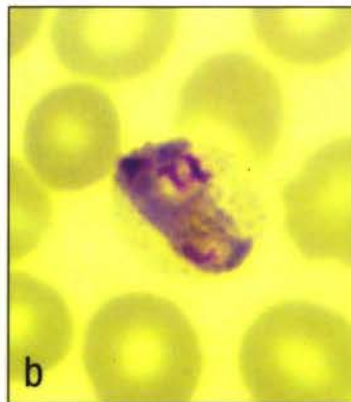
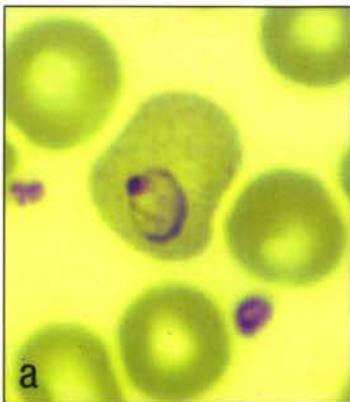
El efecto del pH sobre la tinción

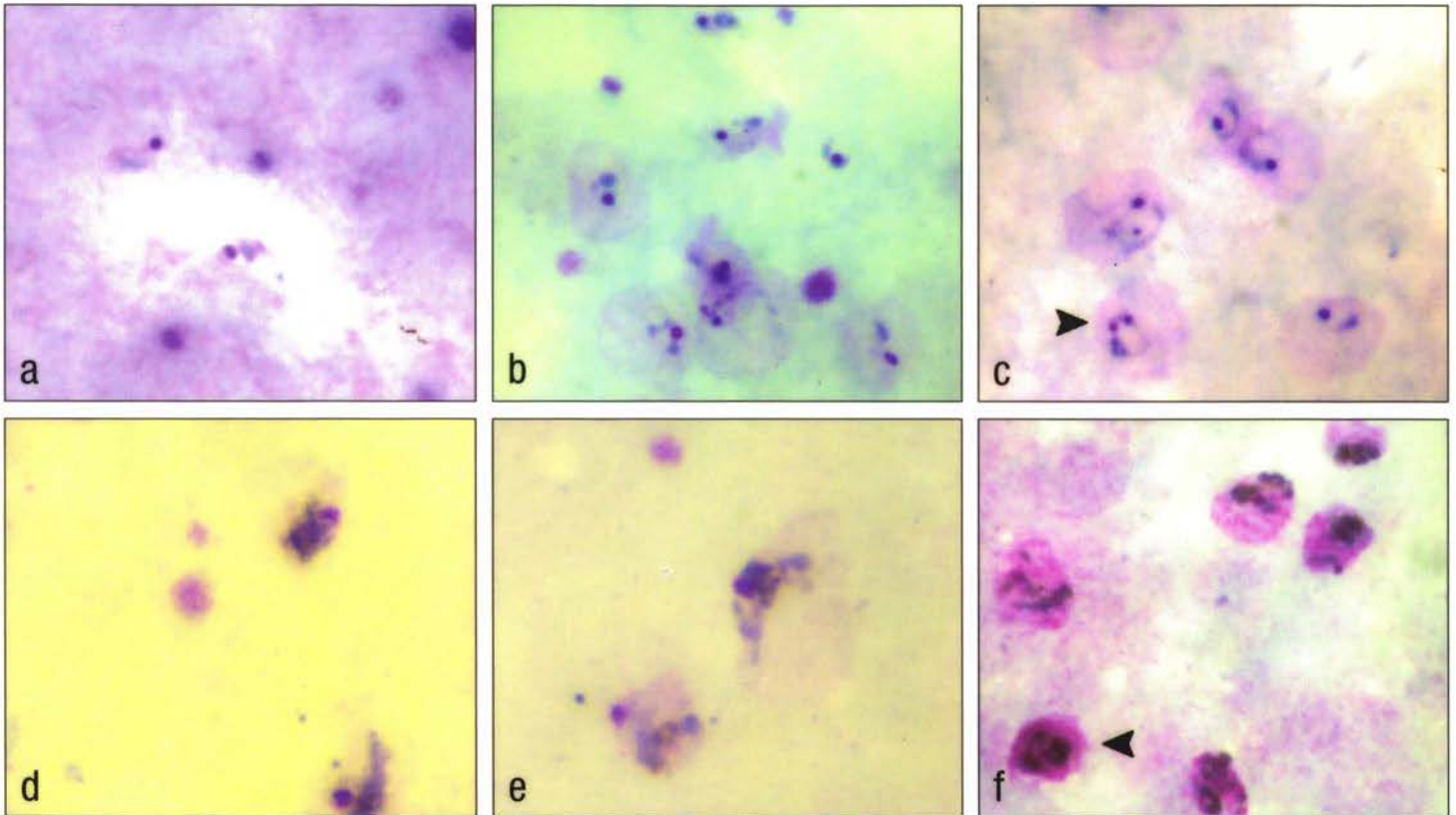
El diagnóstico uniformemente fiable mediante el examen microscópico depende de que el agua usada para diluir el colorante tenga un pH amortiguado a 7,2. Hay que emplear agua desionizada o destilada; el agua de lluvia es muy ácida, mientras que la de río o de pozo puede estar contaminada con bacterias u otras formas microscópicas. Si es preciso utilizar agua que pueda estar contaminada, hay que hervirla, dejarla enfriar y filtrarla. Lo anterior vale también para el agua que se emplea para eliminar el exceso de colorante al finalizar la tinción. Si las extensiones recién teñidas se enjuagan con agua ácida, esta desteñirá la preparación. Una tinción excelente se puede echar a perder si, por ejemplo, se enjuaga en exceso con agua ácida, lo cual hace desaparecer la delicada coloración del moteado de Schüffner. Se recomienda encarecidamente que el agua utilizada para enjuagar las preparaciones teñidas tenga un pH de 7,0 o más alto. En las zonas de suelos calcáreos, el agua corriente tiene un pH aproximado de 7,2 y se puede usar con confianza para enjuagar las extensiones.

El diagnóstico exacto de la fase y la especie del parásito depende de las combinaciones de colores, formas y tamaños, así como de la presencia de pigmento y las características morfológicas de los plasmodios en el frotis grueso o, posteriormente, en el fino si el diagnóstico resulta muy difícil al examinar el primero. Se comen

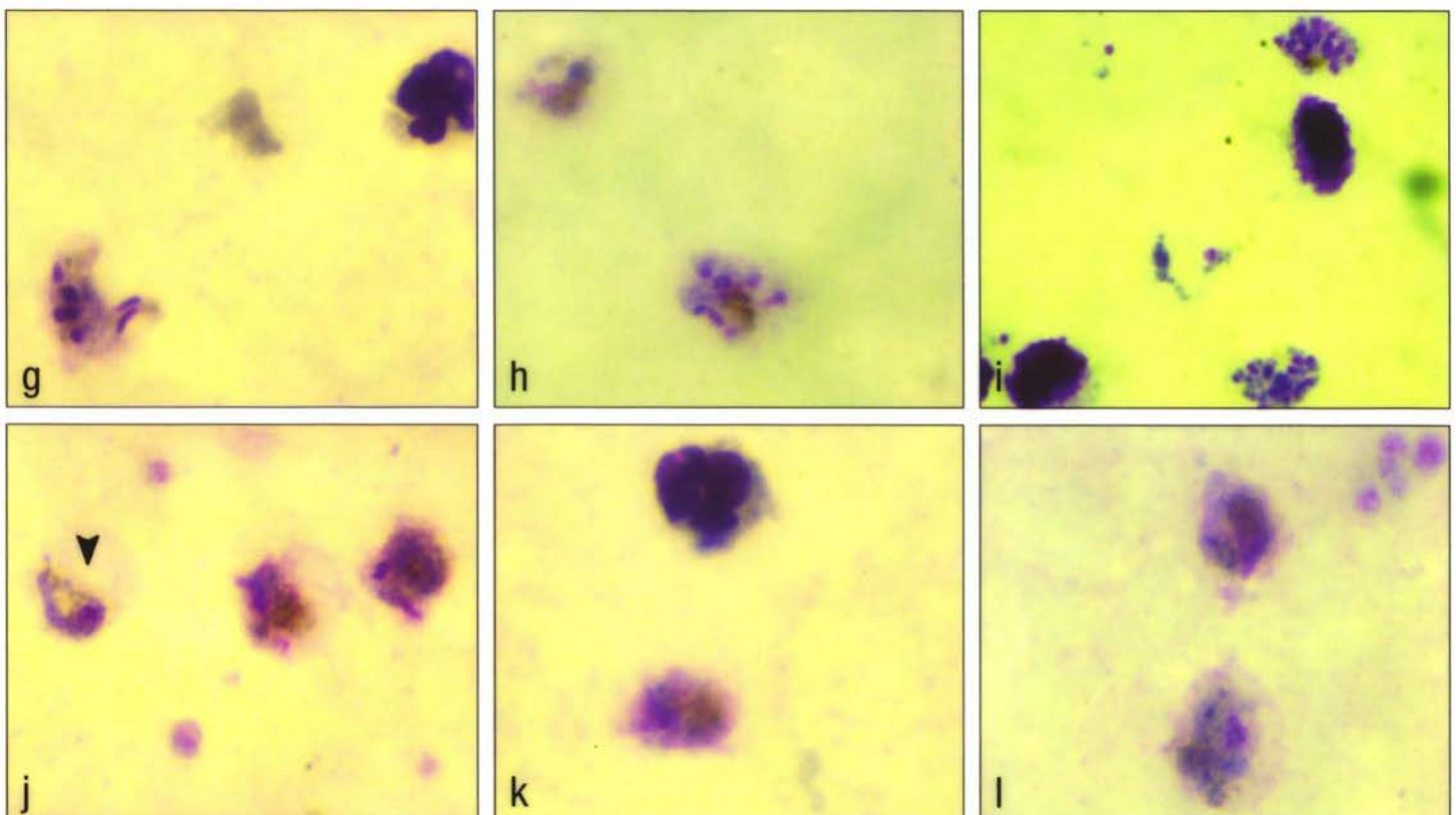
ten errores de diagnóstico cuando la tinción aparece como una fotografía en blanco y negro, debido por lo general a variaciones del pH con respecto al valor estándar de 7,2.

Las cuatro microfotografías de *P. vivax* que se muestran aquí ilustran el efecto del pH sobre la tinción mediante la técnica de Giemsa de los parásitos del paludismo y los elementos figurados de la sangre. Se puede apreciar (a) la coloración azul verdosa intensa de los eritrocitos cuando el pH es de 7,6. Se puede reconocer un trofozoito, pero los gránulos de Schüffner en el citoplasma eritrocítico son tenues. A un pH de 7,4 (b), el eritrocito infectado por un trofozoito tiene un matiz azul verdoso y los gránulos de Schüffner son pálidos y apenas se alcanzan a distinguir. El agua amortiguada a un pH de 7,0, como el utilizado para la tinción de (c), permite que la cromatina y el citoplasma se tiñan bien y el moteado de Schüffner sea claro, lo que facilita la identificación de *P. vivax*, especialmente si se considera junto con el agrandamiento de los eritrocitos infectados. Cuando la extensión se prepara con sangre que contiene anticoagulante, el pH de ésta puede cambiar, de modo que habría que ajustar, por tanteo, el pH del agua amortiguada. Con un valor ideal de pH de 7,2, los eritrocitos tienen aspecto rosado, los trofozoitos se tiñen bien y el moteado de Schüffner es nítido (d).



***Plasmodium vivax* en la extensión gruesa**

De manera característica, las formas anulares de *P. vivax* son más grandes que las de *P. falciparum* (**a a c**, con doble cromatina en **c**, señalada por la flecha) y contienen los «fantasmas» rosados de los eritrocitos agrandados sin hemoglobina (**b y c**). El tamaño y la forma de los trofozoitos de esta especie varían considerablemente; con una buena tinción, el moteado de Schüffner delinea claramente la zona ocupada por cada eritrocito infectado (**e y f**). En los frotis gruesos los parásitos pueden teñirse densamente y las fases de *P. vivax* se ven sorprendentemente grandes (**d y e**). La presencia de fases diversas en el frotis suele indicar que se trata de *P. vivax*, pero el examinador debe estar siempre muy atento ante la posibilidad de que se trate de una infección mixta.



Incluso los esquizontes inmaduros (**g y h**) son mayores que los de las otras especies, y los maduros (**i**) al final contienen entre 12 y 24 merozoitos. Los microgametocitos (**k**) y los macrogametocitos (**l**) presentan las diferencias usuales de coloración, aunque a menudo resulta difícil distinguir los gametocitos inmaduros de los trofozoitos maduros (**j**, flecha). No obstante, esto tiene escasa importancia en el examen microscópico para el examen microscópico rutinario para el diagnóstico del paludismo.

La tinción mediante la técnica de Giemsa de los parásitos del paludismo en las extensiones sanguíneas

El examen microscópico mediante la coloración de Giemsa es el método más usado para demostrar la presencia de parásitos del paludismo en los frotis gruesos y finos.

Resultados de la tinción

Con algunas variaciones entre las especies del parásito, la cromatina de éste se tiñe de un color rojo rubí intenso; el citoplasma, de un azul entre pálido y morado; y los gránulos de Schüffner en los eritrocitos infectados con *P. vivax* o *P. ovale* se ven como puntos rosados o como un «fantasma rosado» que rodea a los parásitos en las extensiones gruesas. Los núcleos de los leucocitos varían desde casi negros hasta un morado vivo, lo cual depende del tipo de estas células. En el campo microscópico, la extensión fina debe consistir en una sola capa de eritrocitos con un color entre rosado claro y gris; por su parte, la extensión gruesa ideal muestra un color entre blanco claro y gris pálido y contiene unos veinte leucocitos por campo.

El colorante de Giemsa, que viene como una solución lista para usarse o en forma de polvo, debe adquirirse de un fabricante acreditado. Como la calidad de la producción varía, hay que efectuar pruebas de control de calidad (con láminas positivas conocidas) de cada lote nuevo de la solución antes de aceptarlo para el uso cotidiano.

Preparación de una solución primaria de Giemsa

- Mida 3,8 g de colorante de Giemsa en polvo, 250 ml de metanol y 250 ml de glicerol.
- En un frasco de vidrio, seco y químicamente limpio, ponga 50 cuentas de vidrio y vierta el colorante en polvo; agregue el metanol.
- Cierre herméticamente el frasco y agítelo bien durante 3 a 5 min.
- Agregue el glicerol y agite el frasco; agítelo cada 30 min unas seis veces más.
- En el curso de los 2 o 3 días siguientes, agite el frasco tres o cuatro veces en total para permitir que el colorante se mezcle perfectamente.
- Ésta es la solución primaria de colorante; para usarla en el trabajo cotidiano, decante unos 25 ml en otro frasco. Nunca devuelva los sobrantes al frasco de la solución primaria.
- Rotule el frasco de la solución primaria con la fecha de preparación y el nombre de la persona responsable.

Cada nuevo lote de colorante se debe someter a pruebas de dilución y tiempo de coloración óptimos. Los frascos de la solución primaria se deben cerrar perfectamente y mantenerse a cubierto de la luz solar directa; si el frasco es de vidrio transparente, debe forrarse con papel oscuro.

Tinción del frotis grueso y el frotis fino en la misma lámina

En el examen microscópico habitual se utiliza uno de los dos métodos de tinción de Giemsa. La finalidad de cada método es permitir el examen eficiente de una extensión gruesa correctamente teñida; la extensión fina se usa como etiqueta y para identificar las fases o especies que no se distinguen claramente en la extensión gruesa. Los métodos son los siguientes:

- **el método rápido (10%)**, que se usa comúnmente en consultorios o departamentos de consulta externa y laboratorios que atienden muchos pacientes, y
- **el método lento (3%)**, por el que se tiñe una gran cantidad de ex-

tensiones para fines de evaluación epidemiológica, enseñanza o investigación.

El método rápido (10%)

Es idóneo para los laboratorios con una gran carga de trabajo donde se necesita un resultado rápido. Requiere más colorante que el método lento.

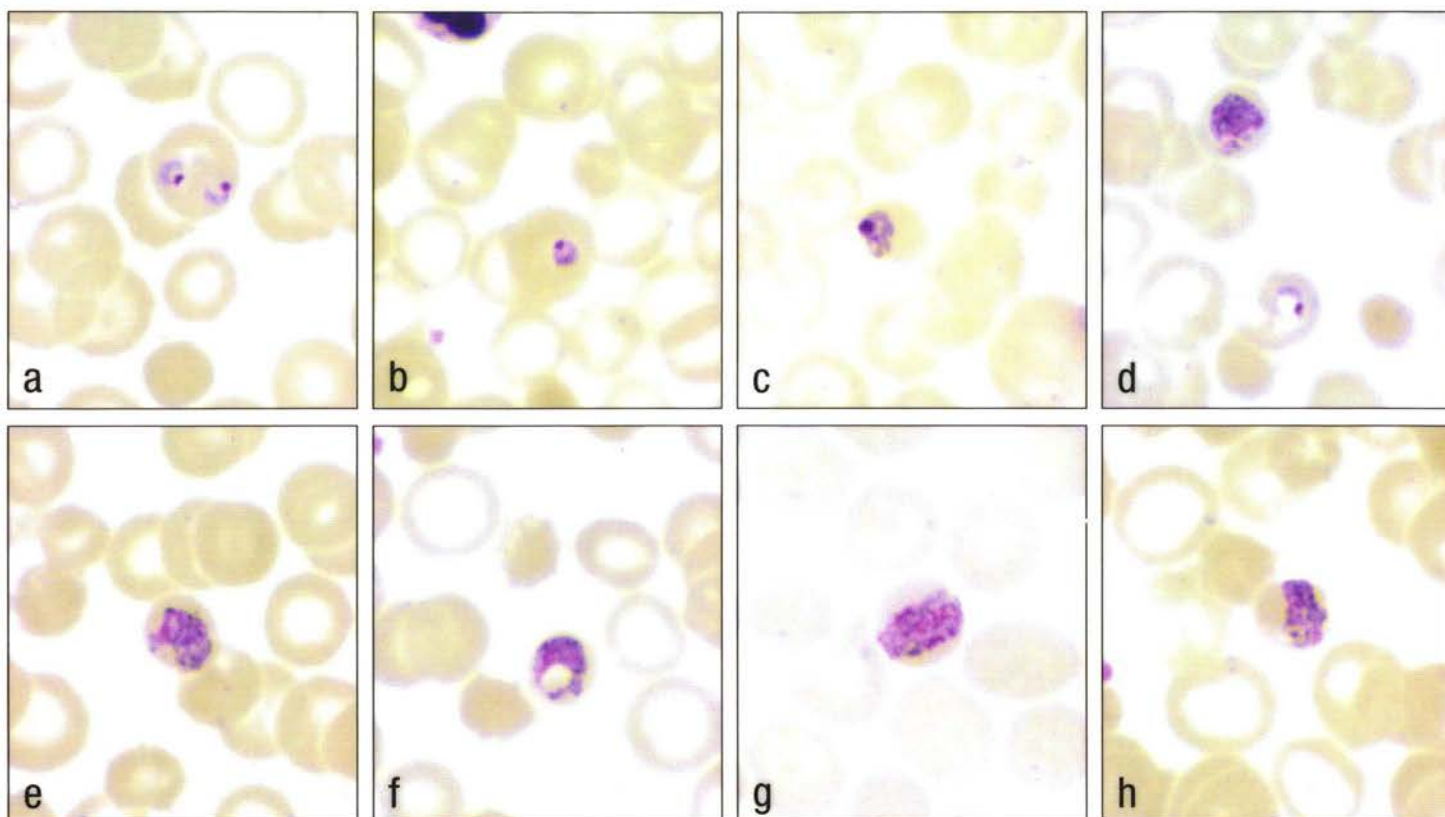
- Fije el frotis fino cubriéndolo con unas cuantas gotas de metanol aplicadas con una pipeta de Pasteur; déjela secar. Evite exponer el frotis grueso al metanol o sus vapores.
- Prepare una solución de Giemsa al 10% en agua amortiguada a un pH de 7,2. Para preparar cantidades pequeñas, mezcle tres gotas de la solución de colorante de Giemsa por mililitro de agua amortiguada con el fin de lograr la concentración correcta.
- Coloque la lámina con el frotis hacia arriba y vierta suavemente el colorante sobre ella. Otra opción consiste en colocar la lámina con el frotis hacia abajo en una placa cóncava de tinción e introducir suavemente el colorante entre la lámina y la placa.
- Deje actuar el colorante por aproximadamente 10 min.
- Enjuague suavemente el colorante agregando gotas de agua limpia. *No escurra el colorante* de la laminilla, pues esto deja depósitos en la extensión que dificultan el examen.
- Deje secar las laminillas, con el frotis hacia abajo, en una gradilla de secado.

El método lento (3%)

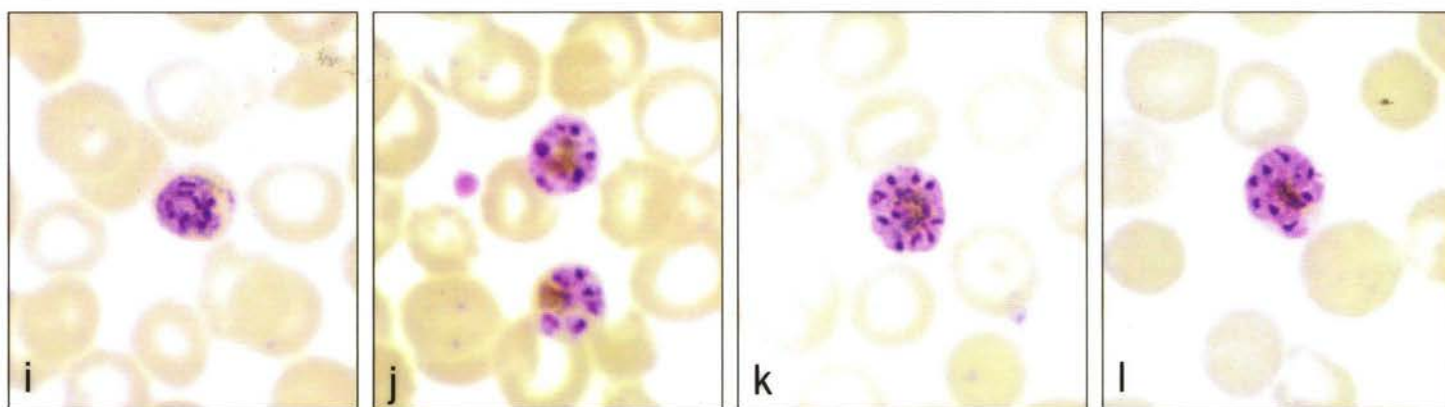
Se utiliza para teñir 20 láminas o más a la vez. Normalmente, las extensiones se ponen toda la noche en un aparato que las seca, de modo que se adhieren mejor al portaobjetos y la tinción es de mejor calidad.

- Fije los frotis finos con metanol según lo descrito para el método rápido; una vez secos, póngalos por pares (es decir, el reverso de un portaobjetos apoyado contra el reverso del otro) en una cubeta de tinción, de modo que el extremo con el frotis delgado quede de un lado y el grueso en el otro lado de la cubeta.
- Prepare una solución de colorante de Giemsa al 3% en agua amortiguada a un pH de 7,2: para ello, vierta 3 ml de la solución de colorante en 97 ml de agua amortiguada en una probeta graduada. Mezcle bien.
- Vierta la solución de colorante en la cubeta sobre el extremo de los frotis finos, procurando que todas las láminas queden cubiertas. Evite que la preparación reciba la luz solar directa.
- Deje que el colorante actúe por unos 45 a 60 min. En este método el frotis grueso se deshemoglobina en una etapa inicial.
- Avanzando con rapidez desde el extremo de los frotis finos, vierta suavemente agua limpia en la cubeta para eliminar el residuo verdoso iridiscente; agregue agua hasta que el colorante sea reemplazado completamente por agua limpia.
- Desagüe la cubeta con delicadeza.
- Extraiga las láminas con cuidado y póngalas a secar en una gradilla, de manera que los frotis queden hacia abajo. Asegúrese de que los bordes de la gradilla no raspen ninguna parte de los frotis.

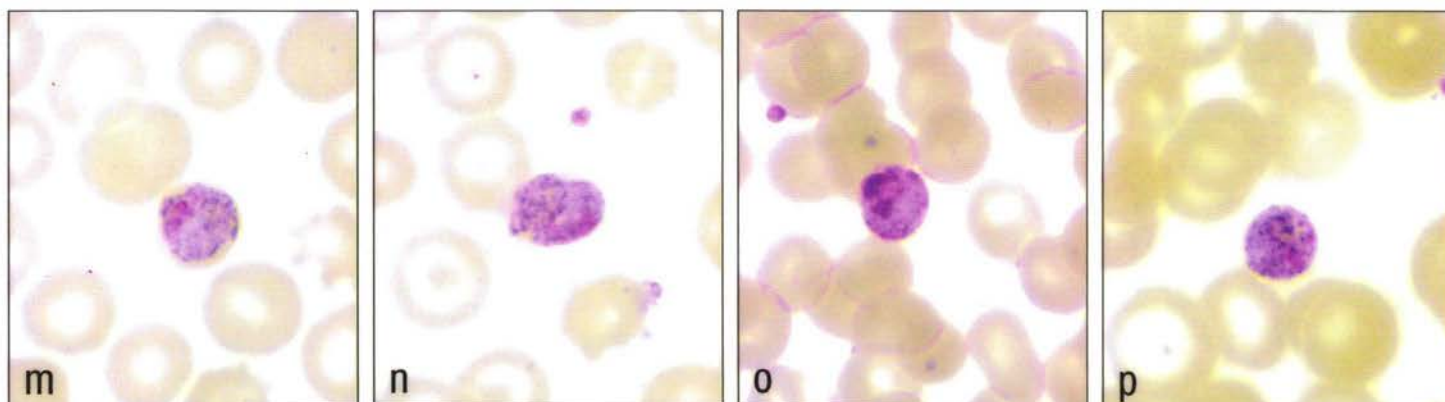
Plasmodium malariae en la extensión fina



Trofozoítos. *P. malariae* se introduce en eritrocitos maduros. Las formas anulares son más definidas que en otras especies, y el citoplasma es más compacto y se tiñe de un azul más oscuro; asimismo, los gránulos de pigmento entre pardo oscuro y negro aparecen en una etapa más inicial del desarrollo del trofozoíto (**d** y **e**). No hay agrandamiento de los eritrocitos. Los trofozoítos de *P. malariae* adquieren unas formas características como por ejemplo en "ojo de pájaro", en que la cromatina se sitúa en el centro de la vacuola, o en "cesta" (**f**) y finalmente las formas distintivas «en banda» (**g** y **h**), que se consideran características de esta especie. La tinción de Giemsa no revela los puntos de Zeimann a menos que el tiempo de tinción se prolongue considerablemente, y aun así sólo se observan en las formas anulares grandes. Los trofozoítos maduros llenan casi en su totalidad el eritrocito infectado.



Esquizontes. Los esquizontes inmaduros muestran pocas divisiones de la cromatina (**i**), pero los maduros poseen entre 8 y 12 merozoítos, dispuestos de manera característica como una «roseta» o «margarita» en torno a una masa de pigmento de color pardo oscuro (**k**). Generalmente, los esquizontes llenan el eritrocito y el pigmento también puede verse como una masa en la periferia del parásito (**j** y **l**).



Gametocitos. Como sucede en el caso de *P. vivax* y *P. ovale*, suele ser difícil diferenciar entre los trofozoítos maduros y los gametocitos. Los macrogametocitos (**m** y **n**) presentan un citoplasma azul claro con una masa de cromatina más compacta que la de los microgametocitos (**p** y **o**). El pigmento negro o pardo oscuro aparece disperso en el citoplasma de todos los gametocitos (**m** a **p**) y por ello puede dar la impresión de que el citoplasma se tiñe de un azul más oscuro que en las otras tres especies.

Plasmodium falciparum

P. falciparum es la más importante de las cuatro especies del parásito causante del paludismo y se distribuye ampliamente por las regiones tropicales y subtropicales de África y Asia. En el África subsahariana causa casi todos los casos registrados de paludismo, incluyendo las infecciones mixtas. Junto con el sarampión, la desnutrición, la diarrea y la neumonía, causa la mayor cantidad de defunciones de niños menores de 5 años. En zonas de alta endemicidad palúdica, se acompaña en general de anemia grave, y es también una causa importante de mortalidad fetal. En las zonas donde la transmisión es baja, están en riesgo las personas de todas las edades y las epidemias de paludismo por *P. falciparum* causan defunciones por millares. Cuando se tiene poca inmunidad frente al paludismo, una infección puede convertirse rápidamente en un cuadro agudo. El paludismo cerebral se caracteriza por cursar con estado de coma y a menudo causa la muerte; algunos pacientes que se recuperan de esta afección presentan secuelas permanentes. Como *P. falciparum* no tiene hipnozoítos, solo hay una generación de esquizogonia en los tejidos. Después de la infección inicial, la recrudescencia puede aparecer hasta 18 a 24 meses después, pero es difícil seguirle el rastro en las zonas donde la transmisión es constante.

En la extensión gruesa se suelen observar muchas formas anulares jóvenes, mientras que en las infecciones de más larga evolución pueden verse también gametocitos. En esta especie, los trofozoítos maduros y los esquizontes permanecen secuestrados en la microvasculatura de los órganos principales, y por ello se observan raras veces en la sangre. Por lo general, la presencia de los esquizontes distintivos en frotis de sangre periférica es signo de un cuadro clínico grave. En el citoplasma de los leucocitos que han fagocitado eritrocitos parasitados se puede ver pigmento palúdico. A veces, en los pacientes asintomáticos sólo se observan gametocitos, pero estas personas siguen siendo infectivas para el mosquito vector.

La presencia de un gran número de formas anulares de manera exclusiva indica una infección por *P. falciparum*. Cuando sólo hay unas pocas formas anulares, puede resultar difícil identificar la especie. En las extensiones finas, la presencia de formas en "paréntesis" en el borde de los eritrocitos, la infección múltiple de los eritrocitos y muchos anillos pequeños con cromatina doble son indicios que refuerzan el diagnóstico de paludismo por *P. falciparum*.

Plasmodium vivax

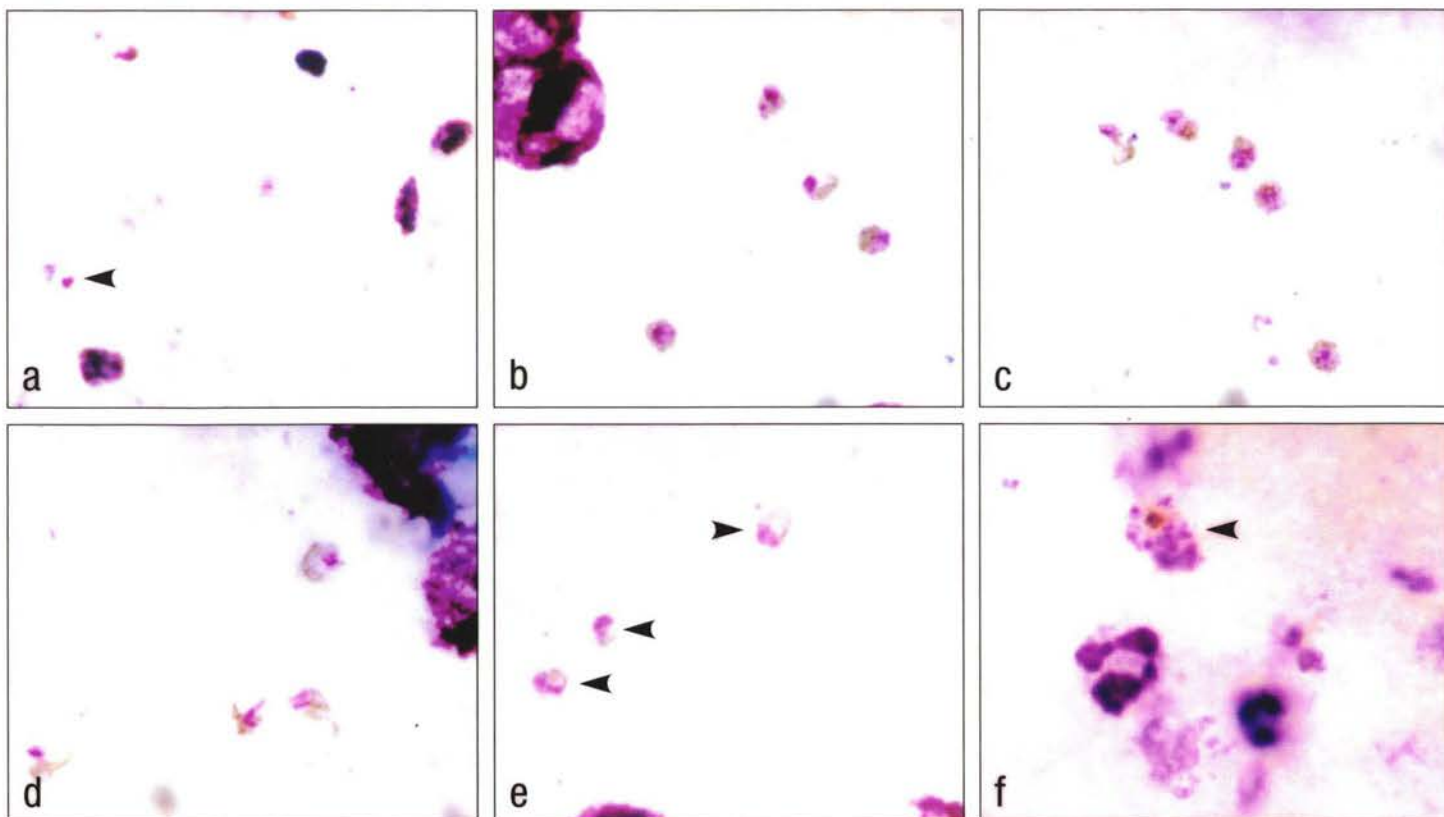
Esta especie se distribuye en las zonas tropicales y subtropicales y en algunas zonas templadas. Contribuye considerablemente a perpetuar la pobreza porque causa millones de días de absentismo en el trabajo y la escuela. Raras veces pone en peligro la vida. En el África occidental y central es rara, pues hay muchas personas con grupo sanguíneo Duffy negativo que son resistentes a *P. vivax*. En esas zonas, cuando el microscopista encuentra indicios de infección por *P. vivax*, antes de establecer el diagnóstico debe descartar que se trate en realidad de *P. ovale*.

Tiene un periodo de incubación de 13 a 17 días; en algunas cepas puede ser hasta de 6 a 12 meses, aunque en las zonas tropicales es difícil demostrar la latencia. Un rasgo importante de esta especie es la presencia y persistencia en el hígado de la etapa exoeritrocítica conocida como «hiponozoíto», lo que

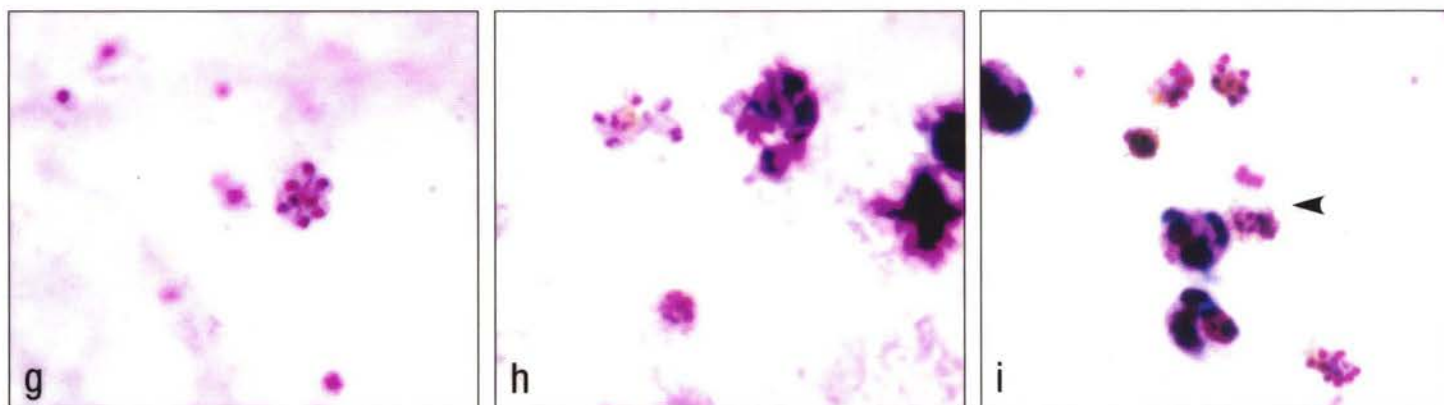
da por resultado recaídas a lo largo de varios meses e incluso años.

El ciclo eritrocítico dura unas 48 horas. En la extensión de sangre periférica no es raro encontrar juntos trofozoítos, esquizontes y gametocitos.

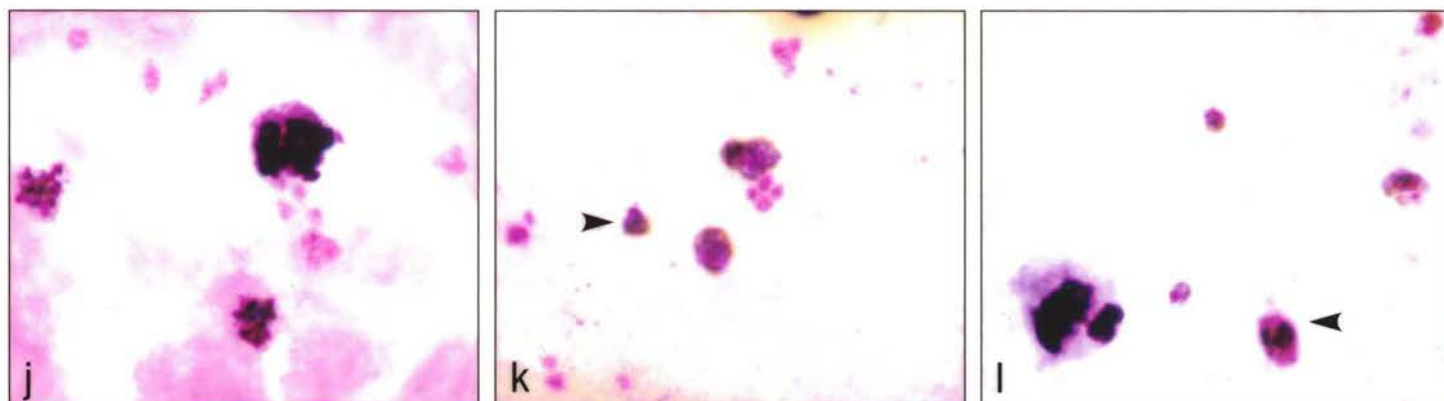
El diagnóstico se dificulta cuando en el frotis se observan apenas unos cuantos anillos, y puede resultar necesario ampliar el examen a otras fases y buscar indicios de moteado de Schüffner en eritrocitos infectados agrandados. El examen rutinario de las extensiones gruesas suele revelar una variedad de fases del parásito. A menudo, el examen cuidadoso del borde de una extensión fina muestra parásitos rodeados por el «fantasma» (teñido de rosa por el colorante azur-eosina) del eritrocito que los alberga, así como otros signos de moteado.

***Plasmodium malariae* thick film**

Trofozoitos. Son pequeños, con un citoplasma compacto, a veces con un anillo incompleto o sin vacuola (**a a c**) y por lo común presentan un gran punto de cromatina. En el mismo campo microscópico se observan trofozoitos pequeños y grandes (**e**). Los gránulos de pigmento pardo oscuro o negro se forman en etapa temprana del desarrollo de esta fase e imprimen un tono más oscuro al citoplasma teñido de azul. Coexisten todas las fases, pero puede haber pocos trofozoitos (**f**, esquizonte, señalado por la flecha, y trofozoitos)



Esquizontes. Las microfotografías de la **g** a la **i** muestran esquizontes maduros, cada uno con ocho merozoitos; en **h** se ve que los merozoitos están empezando a separarse, aunque el estado de los leucocitos indica que la sangre se mantuvo demasiado tiempo expuesta y puede haber afectado las características morfológicas. La coloración azul del trasfondo del campo puede añadir un matiz grisáceo que dificulta aún más el reconocimiento de algunos parásitos.



Gametocitos. Si bien todas las fases del parásito normalmente están presentes en un frotis sanguíneo, incluso si hay poca densidad parasitaria, puede ser difícil reconocerlas. En **k** se ven dos gametocitos más grandes que el trofozoito (flecha), mientras que hay un solo gametocito (**l**, flecha) con anillos pequeños y trofozoitos en crecimiento. Como en el caso de *P. vivax* y *P. ovale*, a veces es difícil distinguir entre trofozoitos maduros y gametocitos.

El examen rutinario de las extensiones sanguíneas para buscar parásitos del paludismo

Examen de las extensiones gruesas

Los frotis gruesos deben examinarse de forma sistemática, y, si la preparación y la tinción han sido correctas, habrá pocos problemas para identificar las fases y especies de los parásitos.

Procedimiento

- Coloque la lámina sobre la platina y alinee la extensión gruesa bajo el objetivo x10 (X en la figura 1).
- Deposite una gota de aceite de inmersión sobre la extensión y enfoque para comprobar que está en la parte correcta de la preparación.
- Cambie al objetivo de inmersión x100 y hágalo descender hasta que toque el aceite. Enfoque y confirme que ha seleccionado la parte apropiada de la extensión, que debe tener entre 15 y 20 leucocitos por campo.
- Siguiendo la secuencia que se ilustra en el diagrama, examine como mínimo 100 campos antes de calificar de negativa la extensión; si tiene dudas sobre la especie del parásito, examine otros 100 campos para determinar si hay una posible infección mixta.

Un contador manual ayudará a llevar la cuenta de los campos examinados. Un microscopista experimentado es capaz de examinar 100 campos de inmersión en unos 10 minutos.

Examen de las extensiones finas

Toma mucho más tiempo examinar una cantidad equivalente de sangre en un frotis fino que en uno grueso. La única ventaja que reporta el examen del frotis fino es que con ello se facilita que el microscopista inexperto identifique los rasgos morfológicos de los parásitos.

Procedimiento

- Como se hace para las extensiones gruesas, deposite una gota de aceite de inmersión sobre la extensión (X en la figura 1)
- Utilizando primero el objetivo de x10 y luego el de inmersión x100, confirme que se ha seleccionado la parte apropiada del frotis y proceda a realizar el examen siguiendo la secuencia que se muestra en la figura 2.

Figura 1. Examen de la extensión gruesa

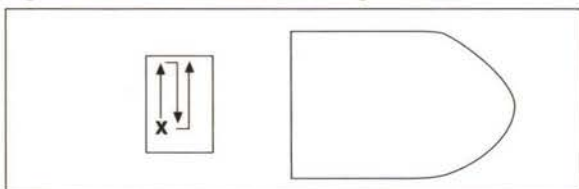
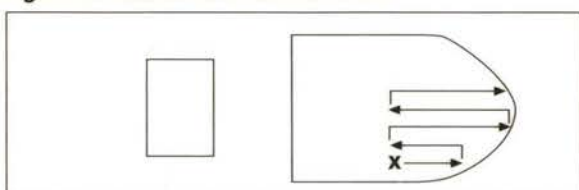


Figura 2. Examen de la extensión fina



Cómo contar los parásitos del paludismo en las extensiones gruesas

La determinación de la densidad de los parásitos del paludismo en una infección puede ser necesaria:

- para determinar y monitorear la gravedad de la infección y la respuesta del paciente al tratamiento;
- para poner a prueba la sensibilidad a los antipalúdicos o los efectos de nuevos tratamientos, o bien
- como método de control de calidad que asegure el buen rendimiento de los microscopistas.

Nota: Estos pasos deben seguirse al terminar el examen y una vez que se haya hecho el diagnóstico.

Equipo suplementario que se necesita:

- dos contadores manuales,
- una calculadora electrónica y
- un cronómetro de laboratorio.

Normalmente se cuentan todas las formas asexuadas. Si hay que contar los gametocitos de *P. falciparum*, el procedimiento se hará y se registrará por separado.

Método 1

- Escoja la mejor parte del frotis (véase la lámina 4b) y vaya contando, campo a campo, el número de parásitos observados con un contador manual y el número de leucocitos con el otro.
- El número de parásitos por microlitro se determina expresando el número de parásitos en relación a un número estándar de leucocitos (8000). Cuando se precisa una gran exactitud, se debe emplear el número absoluto de leucocitos para calcular la densidad parasitaria.
- Cuando se han contado 200 leucocitos, si se encontraron 100 o más parásitos, los resultados deben anotarse en el formulario como número de parásitos por 200 leucocitos. Por el contrario, si el número de parásitos contados es de 99 o menos, hay que seguir contando hasta 500 leucocitos.
- Al terminar la cuenta, el número de parásitos en relación con los leucocitos se puede calcular y expresar como número de parásitos por microlitro de sangre, aplicando esta fórmula:

$$\frac{\text{Parásitos contados}}{\text{No. de leucocitos}} \times 8000 = \text{parásitos por microlitro de sangre}$$

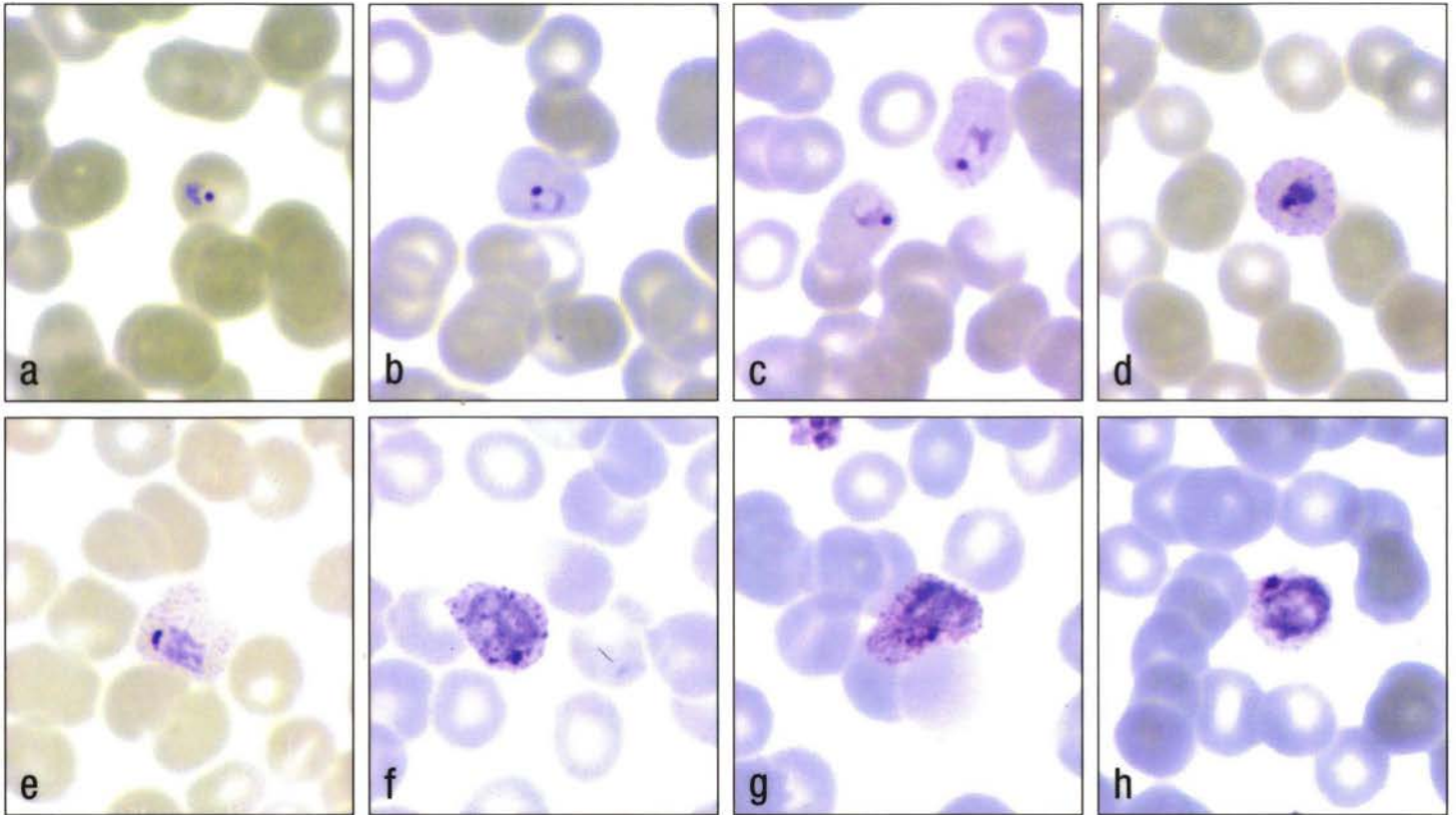
Es práctica corriente contar solo las formas asexuadas.

Método 2

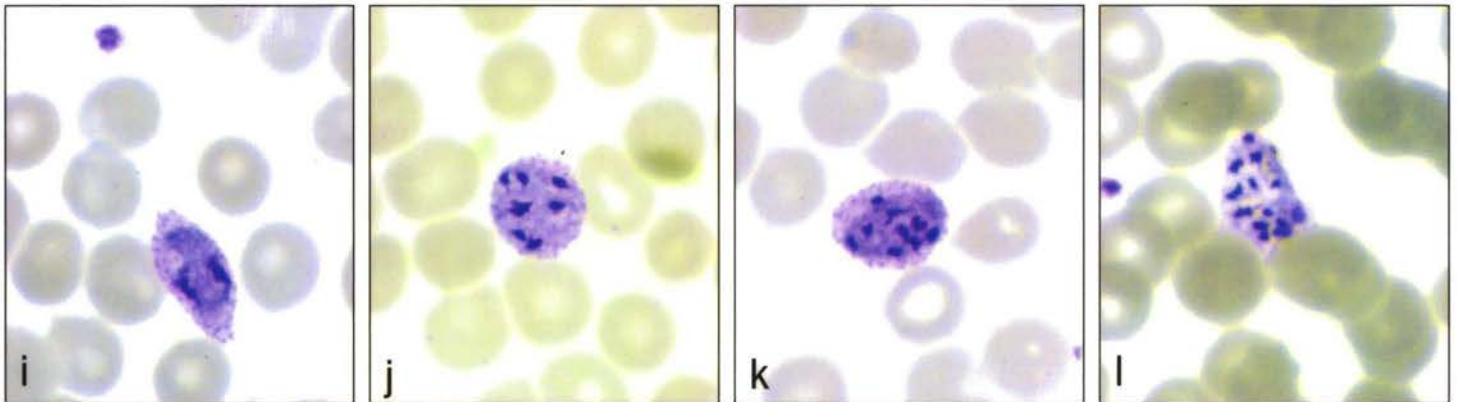
La mayoría de los microscopistas consideran que este método es anticuado por su escasa fiabilidad. Solo debe aplicarse cuando no pueda usarse el método 1.

El método se basa en una clave de una a cuatro cruces, que se usa del siguiente modo:

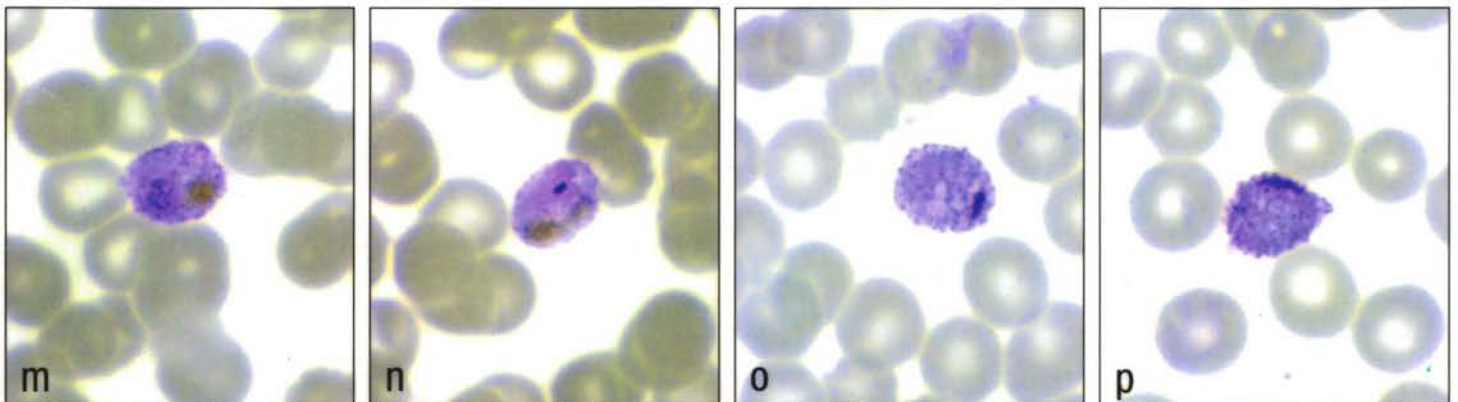
- + = 1 a 10 parásitos por 100 campos de extensión gruesa
- ++ = 11 a 100 parásitos por 100 campos de extensión gruesa
- +++ = 1 a 10 parásitos por un campo de extensión gruesa
- ++++ = 11 o más parásitos por un campo de extensión gruesa.

Plasmodium ovale en la extensión fina

Trofozoitos. Al igual que *P. vivax*, *P. ovale* infecta de preferencia eritrocitos jóvenes, y los trofozoitos tempranos casi no se pueden distinguir de los de las otras especies (a y b); esto cambia muy pronto por el agrandamiento eritrocítico y la presencia de moteado (c a e). La forma oval a la que esta especie debe su nombre puede producirse en etapa muy temprana en los trofozoitos, pero se debe en gran parte a las condiciones del frotis sanguíneo. La descripción de *P. ovale* como "un parásito como *P. malariae* en un eritrocito como los de *P. vivax*" puede resultar útil para su identificación (véase d a g, i y j), a pesar de que el aumento de tamaño de los eritrocitos infectados por *P. ovale* se resalte insuficientemente. Los parásitos tienen cromatina densa con pocas formas ameboides (f). El aspecto fimbriado del eritrocito suele ser el signo decisivo en el diagnóstico (h e i).



Esquizontes. Se reconocen fácilmente por la claridad de la coloración y la separación entre los merozoitos, el moderado agrandamiento eritrocítico, las formas frecuentes de *P. ovale* y el moteado de Schüffner (i a l). Hay entre 6 y 12 merozoitos, pero pueden llegar a 18. El pigmento forma pequeños grumos en el centro de la masa del esquizonte.



Gametocitos. Las diferencias entre macrogametocitos y microgametocitos son semejantes a las que se observan entre *P. vivax* y *P. malariae* (m a p). El gametocito llena el eritrocito agrandado y en los bordes irregulares se aprecia claramente el moteado de Schüffner (o y p). El pigmento aparece como gránulos pardos dispersos en el citoplasma, que posteriormente forman una masa parda oscura con un matiz verdoso. En los frotis finos bien teñidos, el moteado de Schüffner muestra claramente unos gránulos como cuentas de color rosa.

Tinción rápida de las extensiones sanguíneas para el diagnóstico de los parásitos del paludismo

El examen microscópico de frotis teñidos mediante la técnica de Giemsa se considera el método de referencia para el diagnóstico del paludismo; pero las tinciones rápidas pueden desempeñar un papel importante cuando hay que examinar de urgencia un frotis grueso. En la mayoría de las tinciones rápidas el colorante es hidrosoluble, de manera que en el clima tropical es frecuente que ello favorezca el crecimiento de hongos, lo que se evita mediante el filtrado regular. La coloración suele ser muy satisfactoria y la tinción rápida se utiliza corrientemente en muchos laboratorios. El método que se describe a continuación es el de la tinción de Field; en la sección de lecturas recomendadas de la lámina 12b se describen otras técnicas, como la de JSB y la de Wright.

Preparación de las soluciones primarias del colorante de Field

Estas soluciones se usan para la tinción rápida de los parásitos del paludismo en extensiones gruesas; el citoplasma se tiñe de azul, la cromatina de rojo y los gránulos de Schüffner no siempre se tiñen claramente. La calidad de la coloración puede variar en distintas partes de la extensión debido en parte a las diferencias de grosor de la capa sanguínea. Se utilizan las soluciones A y B de Field, que pueden prepararse a partir de productos en polvo.

Solución A de Field primaria

- A 600 ml de agua destilada caliente (60°C) agregue 5,9 g del polvo para preparar la solución A de Field.
- Mezcle hasta que el polvo se disuelva.
- Filtre la solución una vez que se haya enfriado.

Solución B de Field primaria

- A 600 ml de agua destilada caliente (60°C) agregue 4,8 g del polvo para preparar la solución B de Field.
- Mezcle hasta que el polvo se haya disuelto.
- Filtre la solución una vez que se haya enfriado.

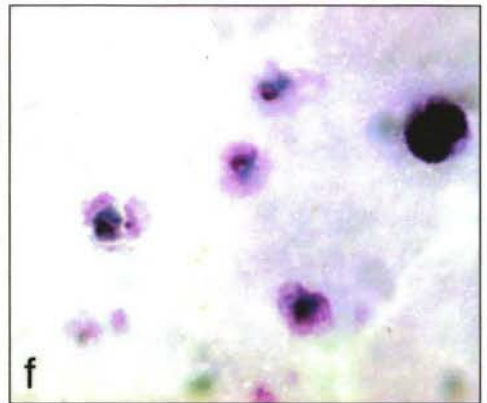
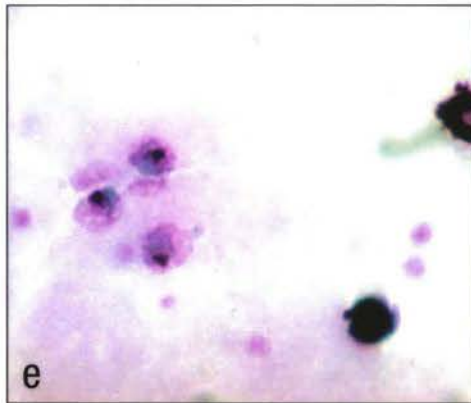
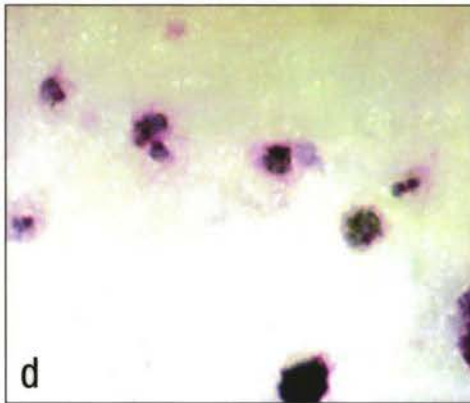
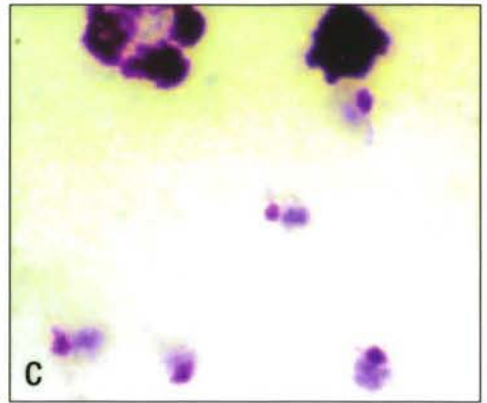
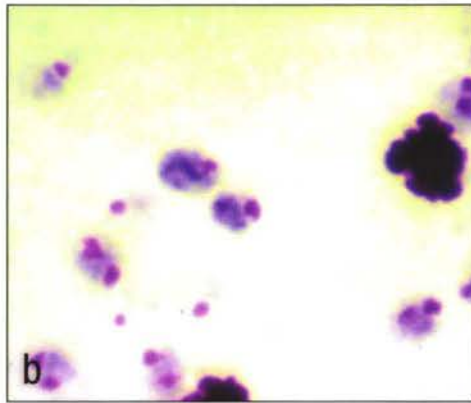
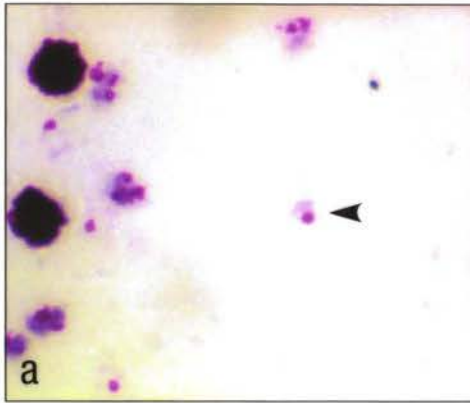
Tinción de extensiones gruesas con la técnica de Field

Las extensiones gruesas no se fijan.

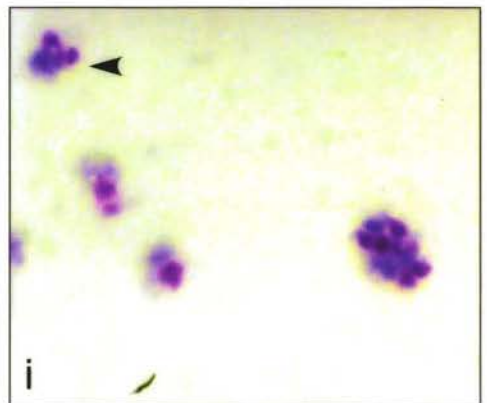
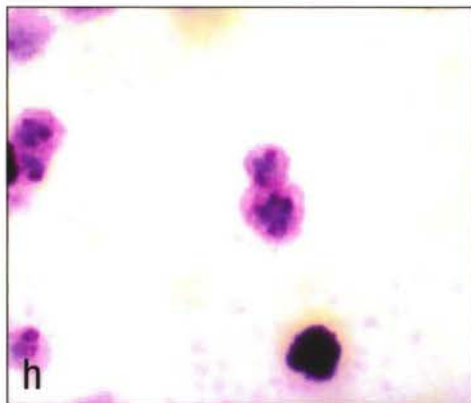
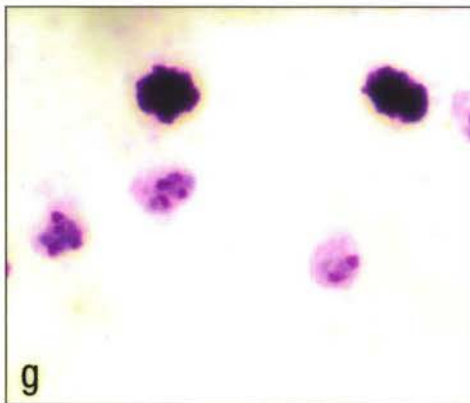
- Sumerja la lámina por 4 s en un frasco de Coplin con solución A de Field.
- Enjuague suavemente la lámina con agua limpia por 5 s.
- Sumerja la lámina por 4 s en un frasco con solución B de Field.
- Enjuague suavemente la lámina con agua limpia por 5 s.
- Deje secar la lámina al aire en una gradilla de escurrimiento.

Tinción de extensiones finas con la técnica de Field (contratinción de Field)

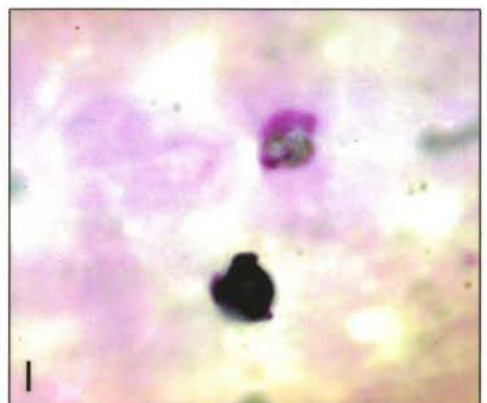
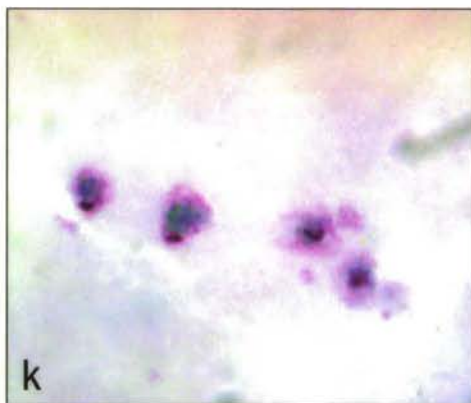
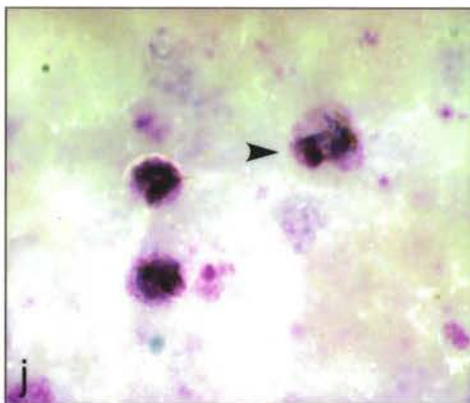
- Fije la preparación en metanol por 1 min.
- Enjuáguela con agua limpia.
- Cubra la extensión con solución B de Field diluida (1 parte por volumen de la solución primaria en 4 partes por volumen de agua amortiguada a un pH de 7,2).
- Agregue de inmediato un volumen igual de solución A de Field, y mezcle todo bien agitando la lámina.
- Deje actuar el colorante durante 1 min.
- Enjuague el colorante con agua limpia.
- Ponga la preparación en una gradilla para que se seque al aire.

Plasmodium ovale en la extensión gruesa

Trofozoitos. Las formas anulares son semejantes a las de *P. vivax*: la mancha de cromatina es prominente y la masa de citoplasma de color azul varía de tamaño según la edad del trofozoito (**a**, trofozoito joven, flecha); los trofozoitos más viejos pueden ser ameboides (**e** y **f**) y el moteado de Schüffner aparece como un halo rosado alrededor del parásito (**d** a **h**).



Esquizontes. Puede haber unos pocos esquizontes de tamaño semejante al de los de *P. malariae*. En el mismo campo pueden verse trofozoitos inmaduros (**i**, flecha) y maduros, que en este caso probablemente se han separado con anterioridad de un esquizonte maduro. Hay entre 6 y 12 merozoítos y el pigmento se sitúa en el centro como una masa pardusca.



Gametocitos. Puede ser difícil diferenciarlos de los trofozoitos maduros y tienen un tamaño semejante al de los gametocitos de *P. vivax* (**k**, dos gametocitos a la izquierda y dos trofozoitos a la derecha). El pigmento suele ser pardo, de aspecto burdo, y se distribuye uniformemente en el cuerpo del parásito (**j**, flecha).

Plasmodium malariae

Esta especie se distribuye de manera irregular en las zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo; la infección que causa tiene una prevalencia más baja incluso que las causadas por *P. falciparum* o *P. vivax*.

Tiene un periodo de incubación prolongado (desde 23 hasta 69 días) y se desarrolla lentamente tanto en el huésped humano como en el vector anofelino. No hay indicios de que exista una etapa de hipnozoíto; pero aunque esta especie solo pasa por un ciclo de esquizogonia exoeritrocítica, es la que vive el mayor tiempo de las cuatro. Se han registrado casos de infecciones que persisten más de 50 años. Como no hay hipnozoítos, muy pocas formas asexuadas persisten en la profundidad de los tejidos y, cuando las condiciones son favorables, causan una recrudescencia. En algunas partes de las zonas tropicales de África oriental y occidental, América Central y el Pacífico (Papua Nueva Guinea), se considera que los episodios crónicos y repetidos de *P. malariae* en niños menores de 15 años causan síndrome nefrótico, una enfermedad renal grave y de mal pronóstico.

El ciclo eritrocítico dura 72 h. Son muy comunes las infecciones mixtas por *P. malariae* y una o varias especies más. En los frotis de sangre periférica pueden verse todas las fases del parásito, aunque la densidad parasitaria suele ser escasa. Los eritrocitos infectados no se agrandan. La demostración de los puntos de Zeimann, peculiares de esta especie, exige una tinción prolongada o especial, pero se considera que su utilidad como rasgo característico para el diagnóstico es limitada.

Plasmodium ovale

La distribución mundial de la infección por *P. ovale* es más limitada que la de la causada por las otras tres especies. Se encuentra sobre todo en las zonas tropicales de África, donde *P. vivax* es menos común. Aún así, se han notificado infecciones por *P. ovale* en China, Filipinas, Papua Nueva Guinea, Tailandia y Vietnam, y se han recibido informes aislados de Malasia y Vanuatu. Habida cuenta de la facilidad con que los microscopistas con poca experiencia pueden confundir *P. vivax* con *P. ovale*, la distribución de este puede ser más amplia de lo que se conoce actualmente. A semejanza de *P. vivax*, *P. ovale* tiene un periodo de incubación de 16 a 18 días, un ciclo asexual de unas 50 horas y fases persistentes de hiponozoíto exoeritrocítico en el hígado, lo que ocasiona recaídas de vez en cuando.

En los frotis de sangre periférica pueden verse simultáneamente todas las fases del parásito. De manera característica, los eritrocitos aparecen agrandados, pero en un grado menor que en el caso de *P. vivax*. El moteado de Schüffner (también

El parásito es pequeño y el citoplasma se tiñe de azul oscuro, que a menudo se ve de un tono más oscuro debido a la presencia en fase temprana de gránulos dispersos de color pardo oscuro o negro. La cromatina es de color rojo rubí intenso. En las extensiones finas suelen verse las formas «en banda», que se consideran distintivas de la especie. En ocasiones, pueden verse formas parecidas de *P. vivax* y *P. ovale* en las extensiones finas. Algunos investigadores ponen de relieve la ausencia notoria de esta forma en las extensiones gruesas y postulan que se trata de un artefacto introducido al preparar la extensión. Con todo, el diagnóstico de la especie en extensiones gruesas no es difícil. Hay que tener cuidado de no confundir una infección por *P. malariae* con otra por *P. ovale*, en cuyo caso no existe el moteado de Schüffner. Tanto en el frotis fino como en el grueso, el esquizonte de *P. malariae* —a menudo llamado «roseta» o «margarita» gracias a su forma distintiva de flor y al reducido número de merozoítos (de 8 a 12)— es un rasgo distintivo de la especie.

En partes aisladas del Asia sudoriental, unos pocos casos de infección por *P. malariae* diagnosticados por el examen microscópico estaban causados en realidad, según se comprobó mediante la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa, por *Plasmodium knowlesi*, parásito natural de los macacos. Se cree que los casos humanos ocurren raras veces cuando se pernocta en un entorno boscoso sin protegerse debidamente.

conocido como puntos o manchas de James) se presenta en fases más tempranas en los trofozoítos jóvenes en comparación con *P. vivax*; los gránulos rosados son más prominentes y tienen forma de cuentas que a veces llegan a ocultar el parásito.

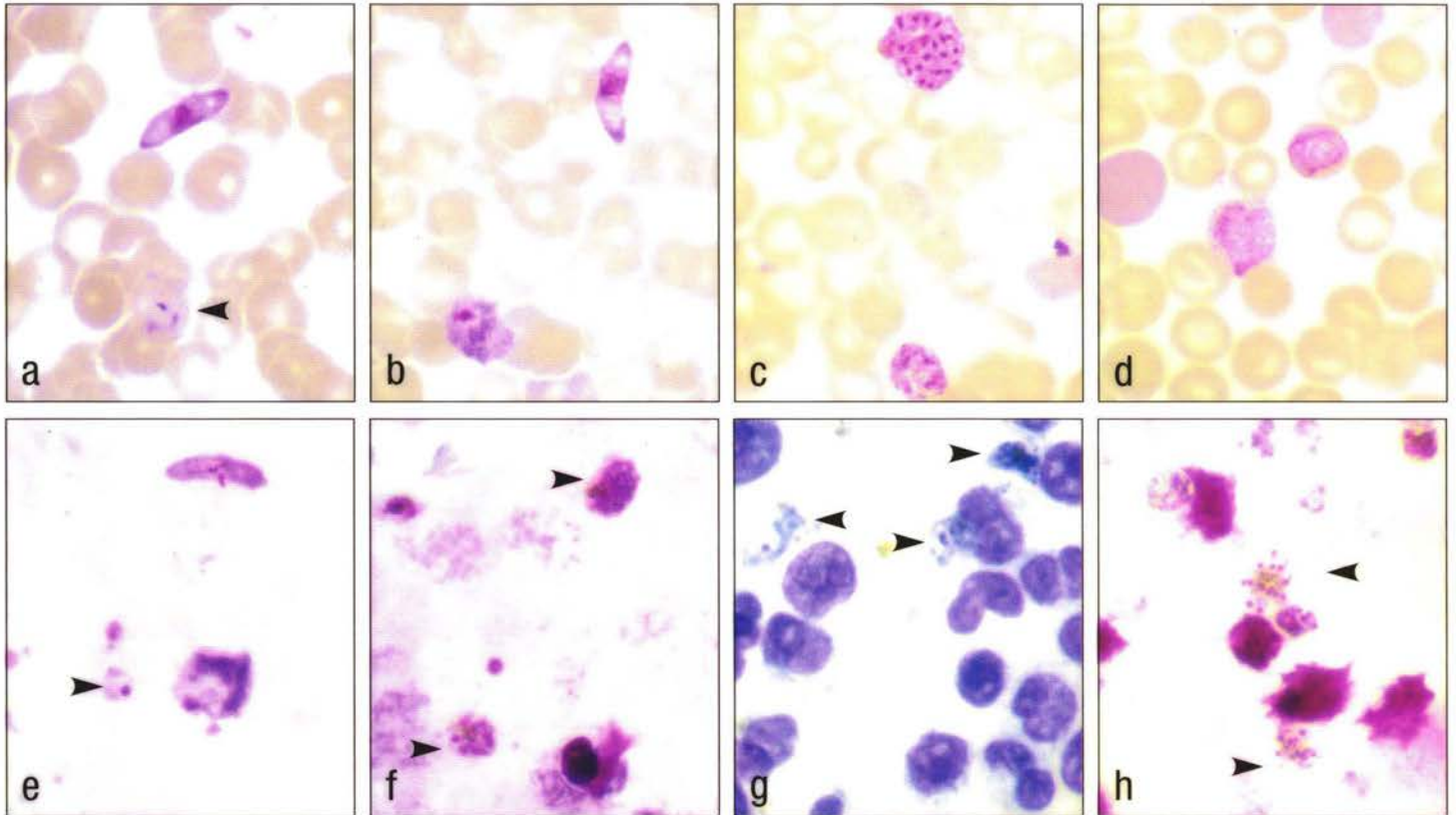
Descrita frecuentemente como «un parásito parecido a *P. malariae* en un eritrocito infectado por *P. vivax*», esta especie es la más difícil de identificar debido a sus semejanzas morfológicas con *P. malariae* y *P. vivax*. En los frotis finos pueden verse eritrocitos infectados ovoides o alargados, y este rasgo puede considerarse decisivo; aun así, se sabe que este fenómeno también ocurre en las infecciones por *P. vivax*, aunque con menos frecuencia. Hay más formas ovoides cuando los frotis se preparan en un ambiente con poca humedad. Una ayuda valiosa para el diagnóstico pueden ser los antecedentes del paciente: se sabe que *P. ovale* persiste en algunas comunidades pequeñas y aisladas, como lo hace *P. malariae*, y hay que ser cauteloso al establecer el diagnóstico definitivo. *P. ovale* se observa a menudo en las infecciones mixtas.

Infecciones mixtas

Hay que prever la aparición de infecciones por varias especies del plasmodio en cualquier momento, incluso en zonas donde el paludismo es infrecuente. Si se aplica este criterio, el microscopista estará mejor preparado para reconocer las diferencias entre las fases y las especies del parásito en el mismo frotis sanguíneo. Probablemente, las infecciones mixtas más comunes sean las causadas por *P. falciparum* y *P. vivax*; pero en zonas muy palúdicas no es inusual que en el frotis sanguíneo de un paciente aparezcan tres especies del parásito. Las infecciones mixtas pueden aparecer al mismo tiempo durante la temporada de transmisión y son más comunes cuando ésta es alta. Una especie puede presentar una densidad

más elevada, de tal manera que oculta la presencia de las otras especies. Este predominio puede cambiar con el tiempo en el mismo paciente. Los microscopistas experimentados pueden diagnosticar infecciones mixtas en extensiones gruesas, pero los que tienen menos experiencia pueden necesitar examinar la extensión en capa delgada correspondiente antes de establecer el diagnóstico definitivo: infección mixta por *P. falciparum* y *P. vivax* (a y b) e infección mixta por *P. vivax* y *P. malariae* (c).

Un trofozoíto en banda de *P. malariae* en un eritrocito de tamaño normal y un trofozoíto maduro, más grande, de *P. vivax* en un eritrocito agrandado que presenta gránulos de Schüffner (d).



Los anticoagulantes y algunas dificultades para diagnosticar infecciones mixtas


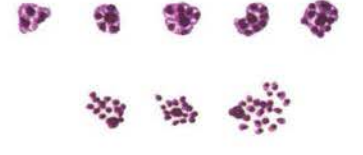

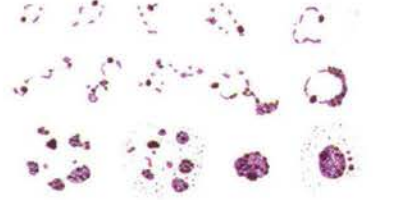

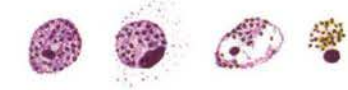

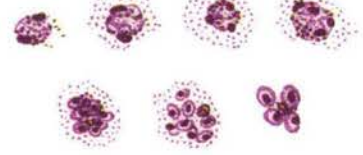
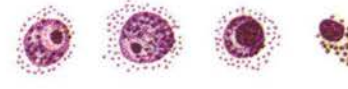



La identificación de las fases y las especies de los parásitos dependen de muchos factores, entre ellos los siguientes:

- el estado de la sangre cuando se preparan las extensiones
- la calidad de los frotis preparados con esa sangre
- la calidad de la tinción
- el estado en que se encuentra el microscopio
- las condiciones en que se usa el microscopio
- la mayor o menor experiencia del microscopista.

Estos factores se influyen recíprocamente y cada uno puede determinar el diagnóstico. Surge otro problema cuando se usan anticoagulantes, pues estos pueden modificar el pH de la sangre, lo que a su vez puede afectar a la calidad de la tinción. Cuando se aplica la tinción de Giemsa, el mejor anticoagulante que se puede usar es el EDTA, a pesar de que altera levemente la tinción. Cuando la muestra de sangre se deja estar por algún tiempo sobre la repisa del laboratorio o en el refrigerador, pueden producirse cambios morfológicos en los parásitos del paludismo y en otros elementos celulares. Dichos cambios pueden ocurrir rápidamente a medida que la

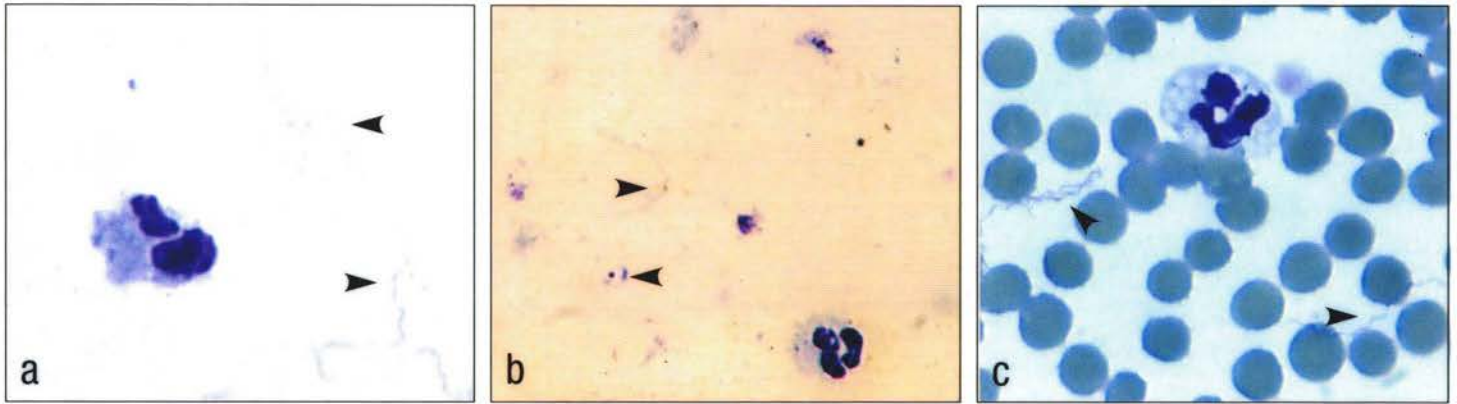
sangre se enfría (véase la **lámina 2b**; las microfotografías **o** y **p**, a la izquierda, muestran microgametocitos exflagelados) y los parásitos empiezan a deformarse por el descenso de la temperatura. Como consecuencia, la identificación de la fase y la especie del parásito en poco tiempo se vuelve difícil y acaba siendo imposible. En esta situación, el examinador tiene que decidir si lo que está observando son **fases diferentes de distintas especies** y no **fases diferentes de la misma especie cuyas características morfológicas han cambiado** y, por lo tanto, dejan de ser distintivas. De ello se desprende que el microscopista debe conocer los antecedentes del caso antes de establecer el diagnóstico definitivo. Así pues, **f** y **h** podrían ser una combinación de *P. vivax* y *P. malariae*, pero el mal estado de los leucocitos en cada frotis indica que las muestras de sangre se dejaron estar algún tiempo antes de preparar las extensiones; los cambios morfológicos que podrían haberse producido determinan que el diagnóstico preliminar sea el de una infección «mixta (?)». Las microfotografías **e** y **g** son más convincentes, aunque la presencia de 20 o más leucocitos en el reducido campo de inmersión (**g**) dificulta la identificación de la especie, además de que la coloración es excesivamente azul.

Cuadro sinóptico de las fases y especies de los parásitos que se ven en la extensión gruesa

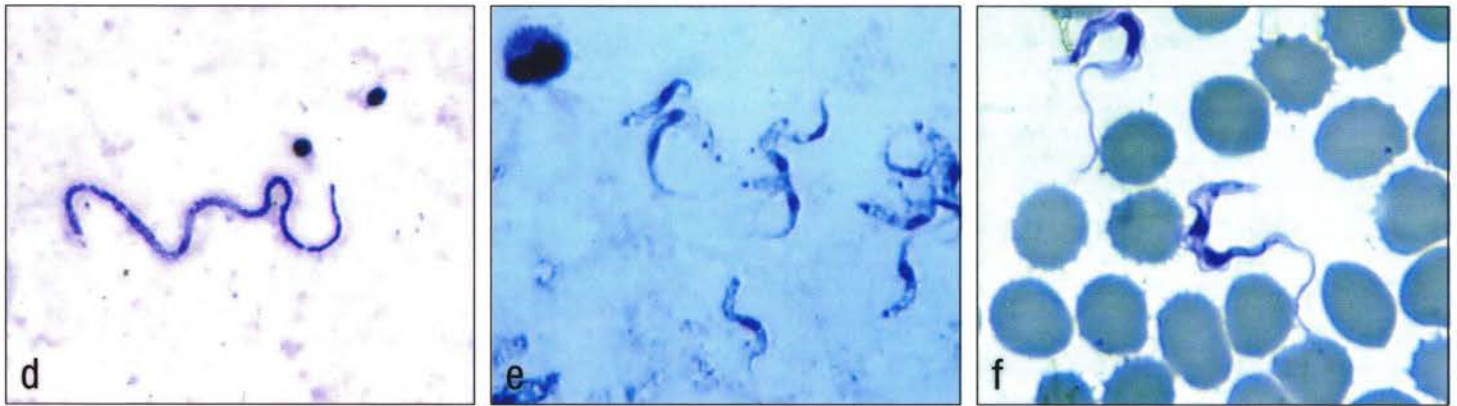
Especie	Trofozoito	Esquizonte	Gametocito
<p><i>Plasmodium falciparum</i></p> <p>Por lo común se ven trofozoitos jóvenes en crecimiento o gametocitos maduros.</p>	 <p>Tamaño: entre pequeño y mediano; número: a menudo abundantes; forma: las formas anulares y en coma son comunes; cromatina: a menudo dos puntos; citoplasma: regular, entre fino y carnoso; formas maduras: a veces aparecen en el paludismo grave, son compactas y con pigmento en forma de unos pocos granos o una masa de aspecto áspero.</p>	 <p>Generalmente se acompañan de muchas formas anulares jóvenes. Tamaño: pequeño, compacto; número: escasos, infrecuentes, por lo común en el paludismo grave; formas maduras: entre 12 y 30 o más merozoitos en un conglomerado compacto; pigmento: masa única oscura.</p>	 <p>Son infrecuentes las formas inmaduras alargadas. Formas maduras: en forma de banana o redondas; cromatina: un solo punto, bien definido; pigmento: disperso, áspero, como granos de arroz; a veces hay cuerpos de extrusión rosados. A menudo se ven formas erosionadas que solo contienen cromatina y pigmento.</p>
<p><i>Plasmodium vivax</i></p> <p>Se ven todas las fases; moteado de Schüffner en los fantasmias de los eritrocitos, sobre todo en el borde del frotis.</p>	 <p>Tamaño: entre pequeños y grandes; número: una cantidad entre escasa y mediana; forma: son comunes formas anulares rotas o irregulares; cromatina: un solo punto, en ocasiones dos; citoplasma: irregular o fragmentado; formas maduras: compactas, densas; pigmento: disperso, de aspecto fino.</p>	 <p>Tamaño: grande; número: una cantidad entre escasa y mediana; formas maduras; entre 12 y 24 merozoitos, por lo común 16, en un conglomerado irregular; pigmento: masa laxa.</p>	 <p>Las formas inmaduras son difíciles de distinguir de los trofozoitos maduros. Formas maduras: redondas, grandes; cromatina: un solo punto, bien definido; pigmento: disperso, fino. Aparecen formas erosionadas con citoplasma escaso o ausente que solo contienen cromatina y pigmento.</p>
<p><i>Plasmodium ovale</i></p> <p>Se ven todas las fases; moteado de Schüffner en los fantasmias de los eritrocitos, sobre todo en el borde del frotis.</p>	 <p>Tamaño: pueden ser más pequeños que los de <i>P. vivax</i>; número: generalmente escasos; forma: entre anulares y redondos, compactos; cromatina: un solo punto, prominente; citoplasma: bastante regular, carnoso; pigmento: disperso, de aspecto áspero.</p>	 <p>Tamaño: muy semejante a los de <i>P. malariae</i>; número: escasos; formas maduras: entre 4 y 12 merozoitos, por lo común 8, en un conglomerado laxo; pigmento: masa concentrada.</p>	 <p>Es difícil distinguir las formas inmaduras de los trofozoitos maduros. Formas maduras: redondas, pueden ser más pequeñas que las de <i>P. vivax</i>; cromatina: un solo punto, bien definido; pigmento: disperso, áspero. Hay formas erosionadas que solo contienen cromatina y pigmento.</p>
<p><i>Plasmodium malariae</i></p> <p>Se ven todas las fases.</p>	 <p>Tamaño: pequeño; número: generalmente escasos; forma: entre anulares y redondos, compactos; cromatina: una sola mancha, grande; citoplasma: regular, denso; pigmento: disperso, abundante, con un matiz amarillento en las formas más viejas.</p>	 <p>Tamaño: pequeños, compactos; número: por lo general escasos; formas maduras: entre 6 y 12 merozoitos, generalmente 8, en un conglomerado laxo; algunos carecen claramente de citoplasma; pigmento: concentrado.</p>	 <p>Es difícil distinguir las formas inmaduras y ciertas formas maduras de los trofozoitos maduros. Formas maduras: redondas, compactas; cromatina: punto único, bien definido; pigmento: disperso, áspero, a veces distribuido en la periferia. Hay formas erosionadas que solo contienen cromatina y pigmento.</p>

Otros elementos en los frotis de sangre periférica

Espiroquetas de *Borrelia spp.*, Tripanosomas y microfilarias

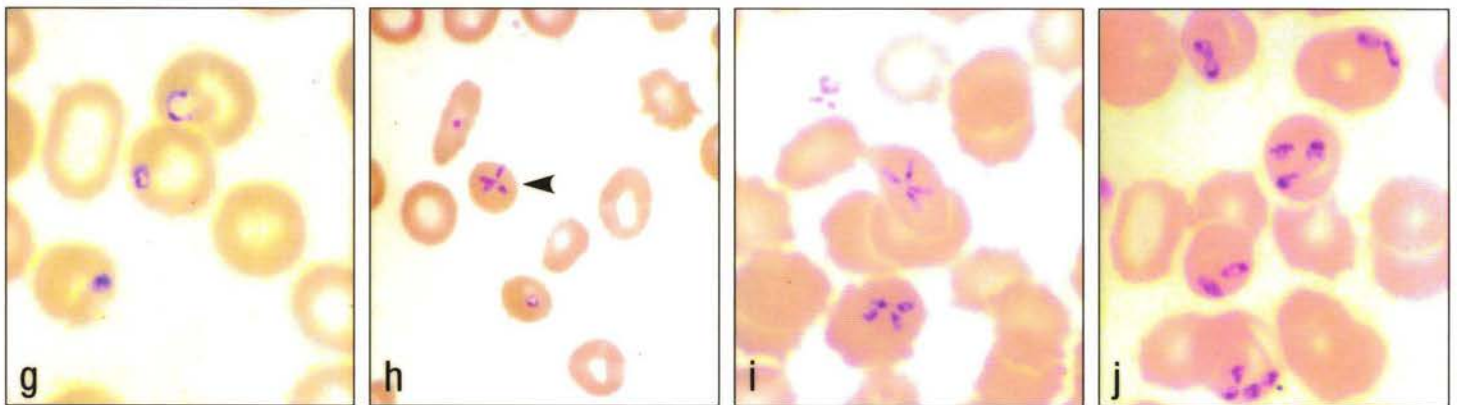


En algunas partes de África, las espiroquetas de la borreliosis transmitidas por garrapatas o piojos pueden verse en los frotis de sangre periférica (a, flecha, extensión gruesa, y c, extensión fina), a veces junto con los parásitos del paludismo (b, flecha inferior, trofozoito de *P. falciparum*, flecha superior, *Borrelia*).



Las microfilarias pueden ser comunes en los frotis gruesos (d, *Wuchereria bancrofti* se distribuye ampliamente en las zonas tropicales) y cabe prever que haya parásitos de la tripanosomiasis africana (e, extensión gruesa, y f, extensión fina). Las microfotografías que se muestran sobre estas líneas corresponden a preparaciones teñidas por la técnica de Field y han sido amablemente cedidas por la doctora Jane Carter.

Babesiosis



De vez en cuando, las enfermedades propias de los animales se transmiten a los seres humanos y entonces se conocen como zoonosis. La babesiosis es un buen ejemplo; se han reconocido casos humanos en Asia, Europa, Estados Unidos y Canadá. También se han encontrado anticuerpos anti-babesiosis en seres humanos de África, lo que indica que ahí también se produce esta infección. La semejanza morfológica de *Babesia* con las fases de *P. falciparum* en el ciclo eritrocítico cobra una importancia especial (g). El tratamiento actual de la babesiosis requiere la asociación de quinina y clindamicina. La enfermedad es transmitida por la mordedura de garrapatas infectadas, de manera que son vulnerables las personas que tienen contacto con las garrapatas de los perros, el ganado y los caballos. Debido a la poca frecuencia de esta enfermedad y al aspecto semejante de *Babesia* con los trofozoitos jóvenes del plasmodio, el diagnóstico de la especie

Babesia en frotis de sangre humana puede ser tan inesperado como difícil. Conviene recordar las siguientes diferencias entre *Plasmodium* y *Babesia*:

- Las especies de *Babesia* no producen pigmento.
- No hay esquizontes ni gametocitos.
- La reproducción se hace por gemación, y los cuatro merozoitos ofrecen el aspecto de la cruz de Malta (h,i).
- La infección múltiple de los eritrocitos es más común que en el caso de las especies del parásito del paludismo (j).

Cuando un paciente no responde al tratamiento antipalúdico, se justifica volver a examinar extensamente los frotis gruesos y finos para descartar la infección por *Babesia* spp. como causa de la enfermedad. Al hacerlo, hay que prestar atención especial a las características recién descritas.

Lecturas complementarias

Diagnóstico de la malaria.

López Antuñano FJ, Schmunis G, eds.

Washington, DC, Organización Panamericana de la Salud, 1990

(Publicaciones científicas de la OPS, N.o 512).

Malaria Microscopy Quality Assurance Manual

World Health Organization, Regional Office for the Western Pacific, 2009

Malaria: principles and practice of malariology. Vol. 1. Vol. 2.

Wernsdorfer WH, McGregor I, eds.

Edimburgo, Churchill Livingstone, 1988.

Manual de bioseguridad en el laboratorio,

3.ª ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2006

Portada: Infección mixta por *Plasmodium falciparum* y *P. vivax*. Junto con formas anulares y un gametocito de *P. falciparum* hay un gran trofozoito de *P. vivax*. Extensión gruesa teñida por la técnica de Giemsa.

Microfotografías de extensiones finas teñidas mediante la técnica de Giemsa; en el sentido de las manecillas del reloj, a partir de la imagen superior izquierda: trofozoitos tempranos (etapas anulares) de 1) *Plasmodium falciparum*, 2) *Plasmodium vivax*, 3) *Plasmodium malariae* y 4) *Plasmodium ovale*; y trofozoitos maduros de 5) *Plasmodium falciparum* y 6) *Plasmodium vivax*.

Contraportada: Infección por *Plasmodium vivax*; las formas anulares se aprecian dentro de los «fantasmas» eritrocíticos. Extensión gruesa teñida por la técnica de Giemsa.



00082962

Medios auxiliares para el diagnóstico microscópico del paludismo conserva muchas de las microfotografías originales en color de la obra precedente, *Medios auxiliares para el diagnóstico de las infecciones palúdicas* (OMS, 2000), pero el texto se ha corregido a la luz de las observaciones que han formulado muchos profesionales en este campo.

La obra va dirigida a una gran variedad de profesores e instructores, estudiantes y capacitandos, y personal de laboratorio y sobre el terreno que trabajan en comunidades de difícil acceso en países donde el paludismo es endémico. El manual también puede ser de utilidad para el personal de laboratorio que efectúa el examen microscópico para diagnosticar el paludismo en países donde esta enfermedad no es endémica y se tiene poca experiencia en la identificación de los parásitos.



00082962

ISBN 978 92 4 354786 2



9 789243 547862