

DIAGNOSTICO PARASITOLOGICO DE LA MALARIA POR EL METODO DE CONCENTRACION-FAGOCITOSIS

INFORME PRELIMINAR*

DRES. ALBERTO RESTREPO Y ALBERTO ECHAVARRIA

De la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, Colombia

Anteriormente ya han sido descritos métodos (1) de concentración de los parásitos productores de la infección palúdica. En estos métodos se utiliza la centrifugación diferencial de la sangre y con pipetas capilares se extrae la capa superior de glóbulos rojos. La concentración es evidente, pero en la práctica no se emplea debido a su complejidad técnica. En 1952 Zinkham y Diamond (2) describieron un método para el estudio de la eritrofagocitosis *in vitro*, como ayuda diagnóstica en casos de anemia hemolítica. Estudiando por este método la eritrofagocitosis en un paciente con un síndrome hemolítico, y en quien exámenes repetidos, de frotis y gotas gruesas, no habían revelado la presencia de parásitos, se encontró en los frotis un aumento de la eritrofagocitosis, abundantes parásitos y fagocitosis de parásitos y pigmento malárico. Observando este hallazgo, que ofrecía a la vez la concentración y la fagocitosis de los parásitos de la infección palúdica, y pensando en la importancia práctica que esto pudiera tener para el diagnóstico parasitológico del paludismo, se inició un estudio sobre la constancia en los hallazgos, la simplificación del método y su eficacia en relación con los métodos de diagnóstico de uso corriente.

MÉTODOS

Los pacientes objeto de este estudio estaban hospitalizados en el hospital San Vicente de Paúl y en la clínica León XIII, del Instituto Colombiano de Seguros Sociales (ICSS), de Medellín, Colombia. A todo paciente con indicios clínicos de padecer paludismo se le hizo un estudio sistemático de la sangre en la forma siguiente:

a) Método en estudio

- 1) Se extraen 5 cc. de sangre por punción venosa;
- 2) Se vierte esta sangre en un tubo de 8 mm. x 75 mm. o de 10 mm. x 75 mm., el cual contiene como anticoagulante 2 gotas de oxalato de potasio al 20%;
- 3) Se incuba a 37° C. durante una hora;
- 4) Se centrifuga a 1.500 r.p.m. durante 15';
- 5) Con gotero médico se extrae la capa blanca, la cual contiene glóbulos blancos, algunos eritrocitos y plaquetas;
- 6) Se preparan frotis y gotas gruesas y se tratan con colorante de Wright.

Se aplicó el mismo método con algunas modificaciones para ver si eran necesarios el anticoagulante y la incubación. Al aplicar el método sin anticoagulante, después de la incubación de la sangre, el coágulo se fragmentó al máximo con aplicador de madera y luego se filtró por tela de gasa.

b) Métodos de comparación

Al mismo tiempo que se extraía sangre por punción venosa para el método anterior se obtuvo de cada paciente gota gruesa de sangre por punción digital y se hizo el frotis correspondiente.

Todas las muestras de sangre en gota gruesa y el frotis se trataron con el colorante de Wright, según la técnica descrita (6).

Con el método de investigación establecido, en el período de febrero a mayo de 1956, se encontró un total de 30 pacientes con parásitos maláricos en su sangre hallados por todos o alguno de los métodos. El mismo día del diagnóstico, se inició medicación de cada uno de ellos en la siguiente forma: Cloroquina base 1.500 mg. en los tres primeros días y a los que, después de este período se les encontraron parásitos circu-

* Manuscrito recibido en julio de 1956.

lantes, se les siguió administrando la droga a razón de 300 mg. por día. Simultáneamente se les administró la primaquina a la dosis diaria de 15 mg., durante 14 días.

A partir del diagnóstico se hizo investigación parasitológica por los métodos antes descritos, cada 24 horas, hasta que el último examen hallado positivo fue negativo en dos pruebas sucesivas.

En los frotis del método propuesto se obtuvo el índice fagocítico sobre un recuento total de 500 células (granulocitos y monocitos) que habían ingerido eritrocitos no parasitados, parásitos o pigmento.

RESULTADOS

En los exámenes efectuados desde el diagnóstico hasta la desaparición de los parásitos de la sangre se encontraron 159 positivos por el método estudiado, 102 por gota gruesa y 56 por frotis de sangre obtenida por punción digital. Las pruebas más persistentes de infección malarica se encontraron por el método en estudio. Este método, que hemos llamado de concentración-fagocitosis, acusa una efectividad de 35,8 % mayor que la del método de la gota gruesa de sangre de punción digital, que ha sido hasta

ahora el de uso más corriente en exámenes en masa.

No se encontró diferencia apreciable en la cantidad de parásitos hallados por el método en estudio y por el método modificado, sin anticoagulante. En algunos casos en los que se utilizó el método en estudio, se observó una alteración de la forma de las células rojas, quizás por el exceso de anticoagulante y por haber usado exclusivamente el oxalato de potasio. La diferencia sustancial entre el método en estudio y su modificación suprimiendo la incubación, fue la fagocitosis, ya que por el segundo, ésta fue escasa o no se encontró. En cambio por el primero, la fagocitosis fue un hallazgo permanente, encontrándose un índice fagocítico en el examen inicial de 46,1 %, con cifras extremas de 7 y 100 %. Fue el único indicio de parásitos en 6 frotis.

OTROS HALLAZGOS

De los 30 casos de infecciones palúdicas, 28 eran adultos y 2 niños. De los 28 casos adultos, 19 presentaban infecciones agudas, en 14 de los cuales no se encontraron parásitos circulantes 72 horas después de la medicación establecida. En los 5 casos res-

FIG. 1.—Un concentrado de *Plasmodium vivax*; obsérvese la parasitosis múltiple en los eritrocitos.

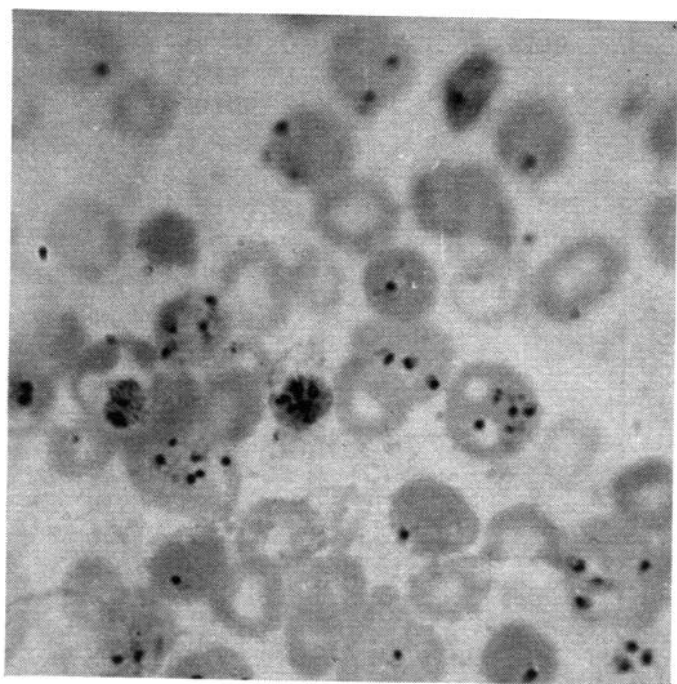
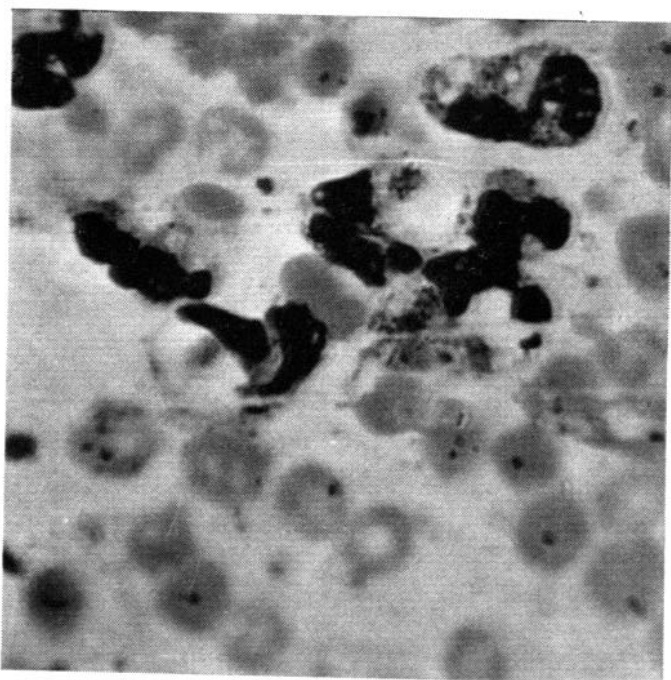
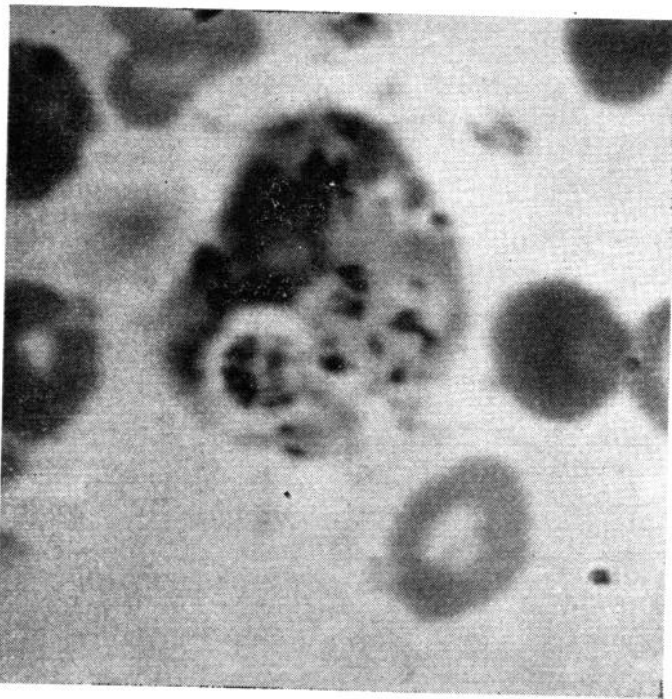


FIG. 2.—Concentrado de parásitos y de fagocitos, en los cuales se ven englobados parásitos y pigmento.



tantes de infección aguda se halló persistencia de parásitos en la sangre por el método de concentración-fagocitosis durante 120 horas. Nueve de los casos eran formas crónicas de malaria, en 7 de los cuales se halló persistencia de parásitos en la sangre, en un promedio de 7,3 días, por el método de concentración-fagocitosis. En los dos casos restantes se encontraron parásitos circulantes durante 20 días. Estos últimos casos fueron producidos por *P. falciparum*.

FIG. 3.—Monocito en fagocitosis múltiple. Parásito, eritrocito parasitado y parásito rodeado de halo blanco.

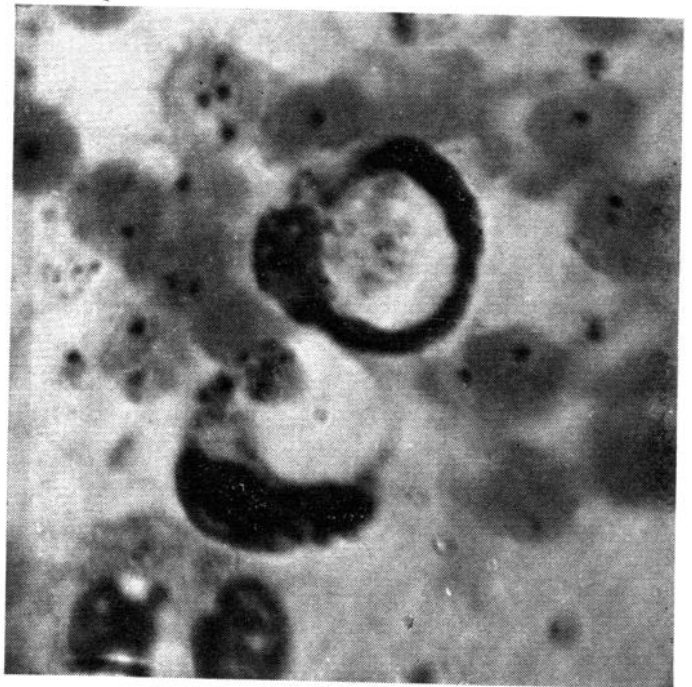


De las dos infecciones palúdicas en niños, una fue en una niña de 6 meses de edad, que, con la administración de 450 mg. de cloroquina base, en 3 días, se obtuvo la desaparición de los parásitos circulantes. En el otro niño, de 2 meses, que padecía síndrome hemolítico desde los primeros días de nacimiento, hubo persistencia de parásitos en la sangre después de la administración de 300 mg. de cloroquina base, en 3 días, obteniéndose la negativización de los parásitos a los 5 días con la dosis de 150 mg. de cloroquina base, en los dos días siguientes.

DISCUSION

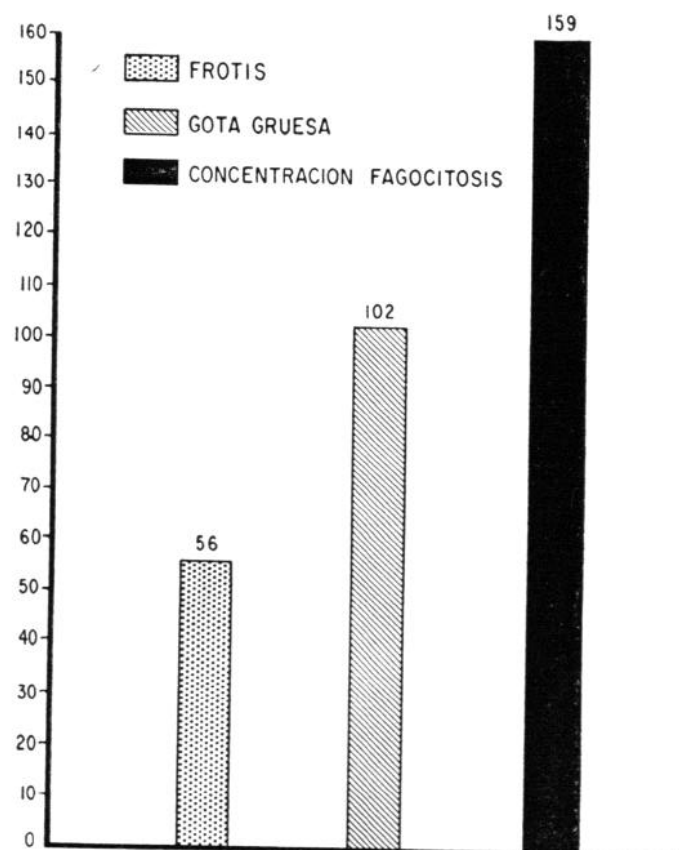
Está demostrado que las células parasitadas por el *plasmodium*, por su menor densi-

FIG. 4.—Concentrado de *Plasmodium vivax*. Dos fagocitos con parásitos englobados.



dad que los eritrocitos normales, al centrifugar la sangre aparecen en mayor proporción en la capa superior de las células rojas. El *P. vivax* produce cambios morfológicos muy claros en los eritrocitos, obteniéndose de esta especie de parásitos, por medio de la

FIG. 5.—Positividad para *Plasmodium (vivax-falciparum-malariae)*, en una serie de 159 exámenes por tres métodos: frotis, gota gruesa, y concentración-fagocitosis.



centrifugación, concentraciones que son de utilidad en el cultivo del *plasmodium*. De las otras especies, la concentración de parásitos obtenida con este método no es tan eficiente para ese fin, pero podría ser útil para el diagnóstico del paludismo.

La concentración de parásitos obtenida por este método simple, fue ligeramente distinta según la especie de *plasmodium*. Con el *P. vivax*, la concentración comprendió todas las formas del parásito en su fase eritrocítica, siendo más abundantes las formas jóvenes, trofozoítos, acaso por ser mayor la frecuencia de paludismo agudo. Con el *P. falciparum*, se observaron en los frotis y gotas gruesas las diferentes formas evolutivas del *plasmodium*, y aun las pequeñas formas anulares. Las formas gametocitas del parásito fueron más abundantes en los casos tratados. En cuanto al *P. malariae*, sólo uno de los casos se debió a esta forma de parásito, encontrándose en forma mixta con *P. falciparum*, y no se halló variación en ninguna fase de la evolución.

Fagocitosis

En la descripción de las técnicas del cultivo del *plasmodium* (3, 5) se considera como etapa importante de la preparación del concentrado del parásito, la eliminación de los leucocitos, por constituir un obstáculo a la reproducción del parásito.

Esta avidez de los leucocitos por los parásitos del paludismo, es la que posiblemente puede tener aplicación en el diagnóstico de la infección palúdica, ya que es menos laboriosa la búsqueda de los parásitos dentro de los leucocitos que en los eritrocitos. En las parasitosis leves y en las infecciones

crónicas la fagocitosis adquiere significación diagnóstica.

La fagocitosis observada en estas infecciones palúdicas presenta algunas particularidades que merecen citarse: a) la fagocitosis de eritrocitos parasitados y de eritrocitos de apariencia normal es frecuente y muchas veces múltiple; b) fagocitosis de parásitos aislados; c) fagocitosis de parásitos con su cromatina, citoplasma y pigmento intactos, rodeados de restos de eritrocito o de halo blanco, indicando que posiblemente la lisis del eritrocito es previa a la del parásito; d) el hallazgo más constante y persistente es la presencia de pigmento malárico dentro de los fagocitos, quizás por ser la porción más resistente a la acción lítica de los fermentos del citoplasma del leucocito.

RESUMEN

1) Se presenta un método práctico para el diagnóstico del paludismo, basado en la concentración-fagocitosis del *plasmodium*.

2) Dicho método fue puesto en práctica en 30 casos de infección palúdica en el diagnóstico y en el control de la terapia, con 159 series de exámenes simultáneos por tres métodos (concentración-fagocitosis, gota gruesa, y frotis), obteniéndose una positividad de 35,8% mayor que con la gota gruesa de sangre de punción digital.

3) Se hacen algunas observaciones sobre la fagocitosis en el paludismo y se sugiere la posible aplicación de este fenómeno al diagnóstico.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al doctor Héctor Abad su constante colaboración y estímulo en este estudio.

REFERENCIAS

- (1) Boyd, M. F.: *Malariaology*, Filadelfia y Londres, W. B. Saunders Company, 1949, pág. 179.
- (2) Zinkham, W. H., y Diamond, L. K.: In vitro erythrophagocytosis in acquired hemolytic anemia, *Blood*, 7:592, 1952.
- (3) Farabee, J. W., y Geiman, Q. M.: Studies on malarial parasites. III. A procedure for preparing concentrates of *Plasmodium vivax*, *Jour. Infect. Dis.*, 78:173, 1946.
- (4) Boyd, M. F.: *Malariaology*. Filadelfia y Londres, W. B. Saunders Company, 1949, pág. 205.
- (5) Wilcox, Aimee: *Manual for the microscopical diagnosis of malaria in man*, Nat. Inst. of Health Bull. No. 180, 1942.

PARASITOLOGICAL DIAGNOSIS OF MALARIA BY THE CONCENTRATION-PHAGOCYTOSIS METHOD (*Summary*)

1) A practical method is described for diagnosing malaria, based on the concentration-phagocytosis of plasmodia.

2) This method was applied in 30 malaria cases, in both diagnosis and treatment control, in a series of 159 simultaneous examinations using three methods (concentration-phagocytosis, thick

drop, and smear), and was found to be 35.8 per cent more effective than the use of the thick drop extracted by finger prick.

3) Additional comments are made on phagocytosis in malaria, and the possible application of this phenomenon is suggested as an aid in diagnosis.