



VI

# CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUIMICA CLÍNICA

II

## CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA



*¡El riesgo es que te quieras quedar!*

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

# Esquistocitos en el laboratorio y la clínica: De la observación al diagnóstico

Myriam Beatriz Amaya Bernal

Bacterióloga y laboratorista clínico

Licenciada en Ciencias Naturales

Especialista en Hematología

Directora del Programa Control de Calidad Externo Hemato-morfología

Profesora cátedra de segunda especialidad

Directora científica del Laboratorio Hemato-morfología

Miembro de la ACHO hace 10 años

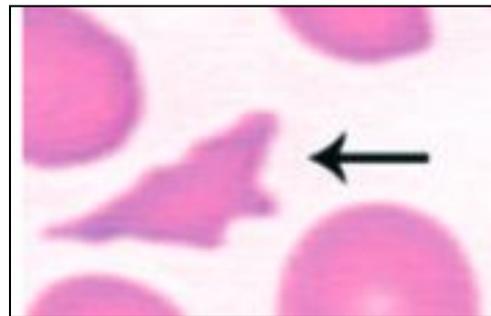
Miembro del grupo de SMD Colombia



# Generalidades

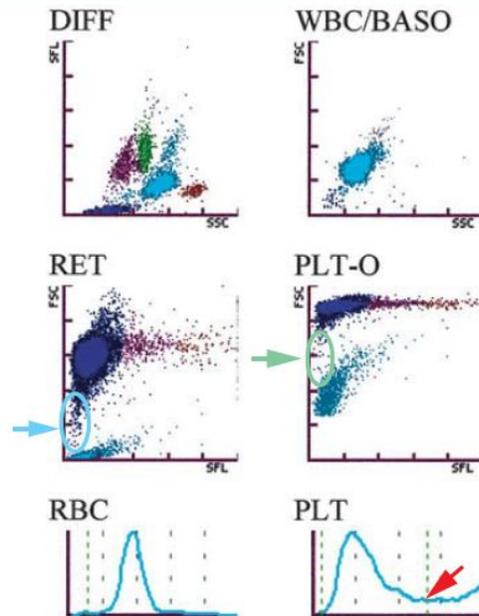
## ESQUISTOCITOS

- Fragmentos circulantes de glóbulos rojos
- Ausentes en individuos sanos
- Presencia en sangre periférica indicativo de enfermedad



Mujer de 55 años con antecedentes de diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensión arterial y obesidad. tras volver de un viaje rural, acudió al servicio de urgencias por presentar diarreas con sangre y hematomas con petequias diseminadas. A continuación se detalla el hemograma :

WBC	9.64	[10 <sup>9</sup> /L]	
RBC	3.29	[10 <sup>12</sup> /L]	
HGB	103	[g/L]	
HCT	29.9	[%]	
MCV	90.9	[fL]	
MCH	31.3	[pg]	
MCHC	344	[g/L]	
PLT	141	[10 <sup>9</sup> /L]	
RDW-SD	47.0	[fL]	
RDW-CV	14.9	[%]	
PDW	17.4	[fL]	
MPV	12.0	[fL]	
P-LCR	40.4	[%]	
PCT	0.17	[%]	
NEUT	7.29	[10 <sup>9</sup> /L]	75.6* [%]
LYMPH	1.03	[10 <sup>9</sup> /L]	10.7 [%]
MONO	0.98	[10 <sup>9</sup> /L]	10.2 [%]
EO	0.29	[10 <sup>9</sup> /L]	3.0* [%]
BASO	0.05	[10 <sup>9</sup> /L]	0.5* [%]
RET	2.51	[%]	82.6 [10 <sup>9</sup> /L]
IRF	19.8	[%]	
LFR	80.2	[%]	
MFR	17.1	[%]	
HFR	2.7	[%]	



Mensajes IP de WBC

Immature Gran?  
Left Shift?

Mensajes IP de RBC/RET

Mensajes IP de PLT

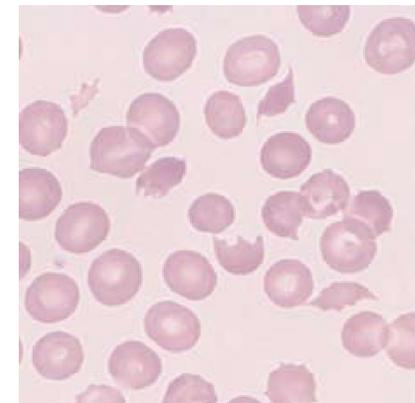
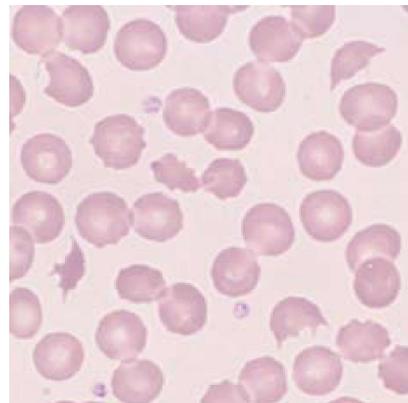
Resultados conteo visual

Banda	6	[%]
Segmentados	68	[%]
Linfocitos	9	[%]
Monocitos	4	[%]
Eosinófilos	8	[%]
Basófilos	0	[%]
Mielocitos	3	[%]
Metamielocitos	2	[%]
Hematíes nucleados	2/100	leucocitos
Esquizocitos		

Observaciones

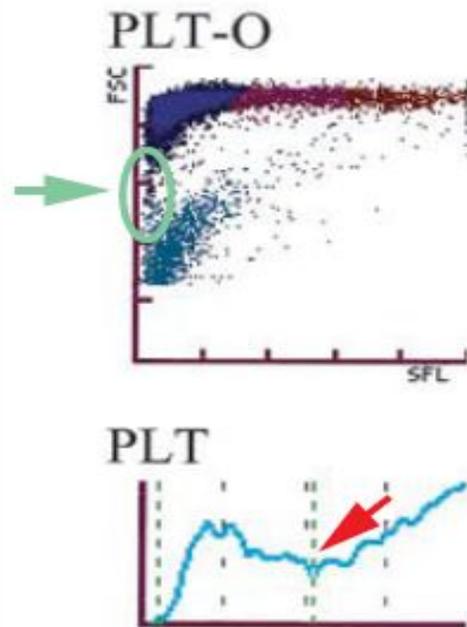
Es un caso que revelaba esquizocitos. Los puntos azules que se extendían del área de hematíes (RBC) maduros hacia el área de plaquetas (PLT) en el dispersograma RET (indicados por →) sugirieron la presencia de esquizocitos. El área de hematíes (RBC) estaba claramente separada del área de plaquetas (PLT) en el dispersograma PLT-O (indicada por →) indicando que no había influencia de estos esquizocitos sobre los resultados PLT-O.

Se consideró que los esquizocitos estaban presentes alrededor del punto de intersección situado un poco más alto que lo normal, cerca de la línea del discriminador superior en el histograma PLT (indicado por ↘). Sin embargo, su influencia no fue tan significativa, permitiendo que se mostraran los resultados



(luego de 7 días)

## ★ Información del XT-2000i (luego de 7 días)



### 👉 Observaciones

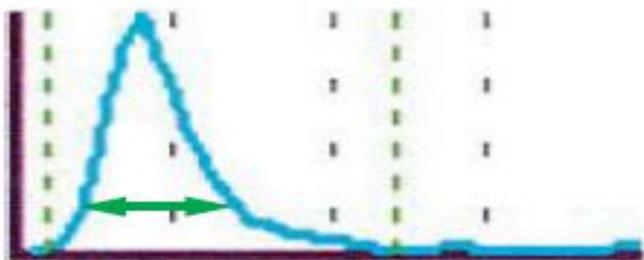
Estos son el dispersograma y el histograma del XT-2000i tomados después de 7 días. El dispersograma PLT-O mostraba que la expresión de esquizocitos estaba significativamente aumentada en relación a la semana anterior (indicada por ➡). La curva en el histograma PLT interseca la línea del discriminador superior en un punto mucho más alto de lo normal (indicado por 🔴), mostrando la influencia de los esquizocitos sobre los datos PLT-I los cuales están aumentados. Los resultados PLT fueron cambiados a los resultados PLT-O. Los mensajes "Fragments?" y "PLT Abn Distribution" fueron causados por estos hallazgos.



## Histograma de plaquetas (PLT)

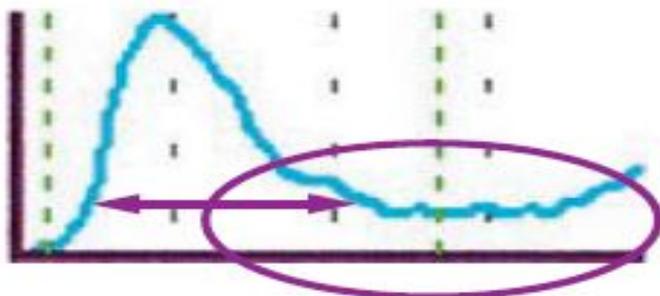
★ Pueden presentarse interferencias que causen errores en los resultados de plaquetas (PLT)

<Normal>



PLT : 109 [10<sup>9</sup>/L]  
PDW : 9.3 [fL]  
MPV : 9.0 [fL]  
P-LCR : 17.4 [%]  
PCT : 0.10 [%]

<Esquizocitos (1)>



PLT : 141 [10<sup>9</sup>/L]  
PDW : 17.4 [fL]  
MPV : 12.0 [fL]  
P-LCR : 40.4 [%]  
PCT : 0.17 [%]

<Esquizocitos (2)>



PLT & : 31 [10<sup>9</sup>/L]  
PDW : ---- [fL]  
MPV : ---- [fL]  
P-LCR : ---- [%]  
PCT : ---- [%]

Enfocarse en la mitad derecha del histograma

Mientras la distribución del ancho de plaquetas (PLT) se vuelve más grande, pueden presentarse interferencias que causen errores en los resultados PLT. En estos ejemplos, la presencia de algunas partículas (aglutinación de plaquetas, plaquetas grandes, esquizocitos, etc.), se sospecha en la región entre 20 fL y 40 fL (indicados por  y ). El análisis de plaquetas (PLT), o resultaba en un valor anormalmente alto o era totalmente imposible.

Test

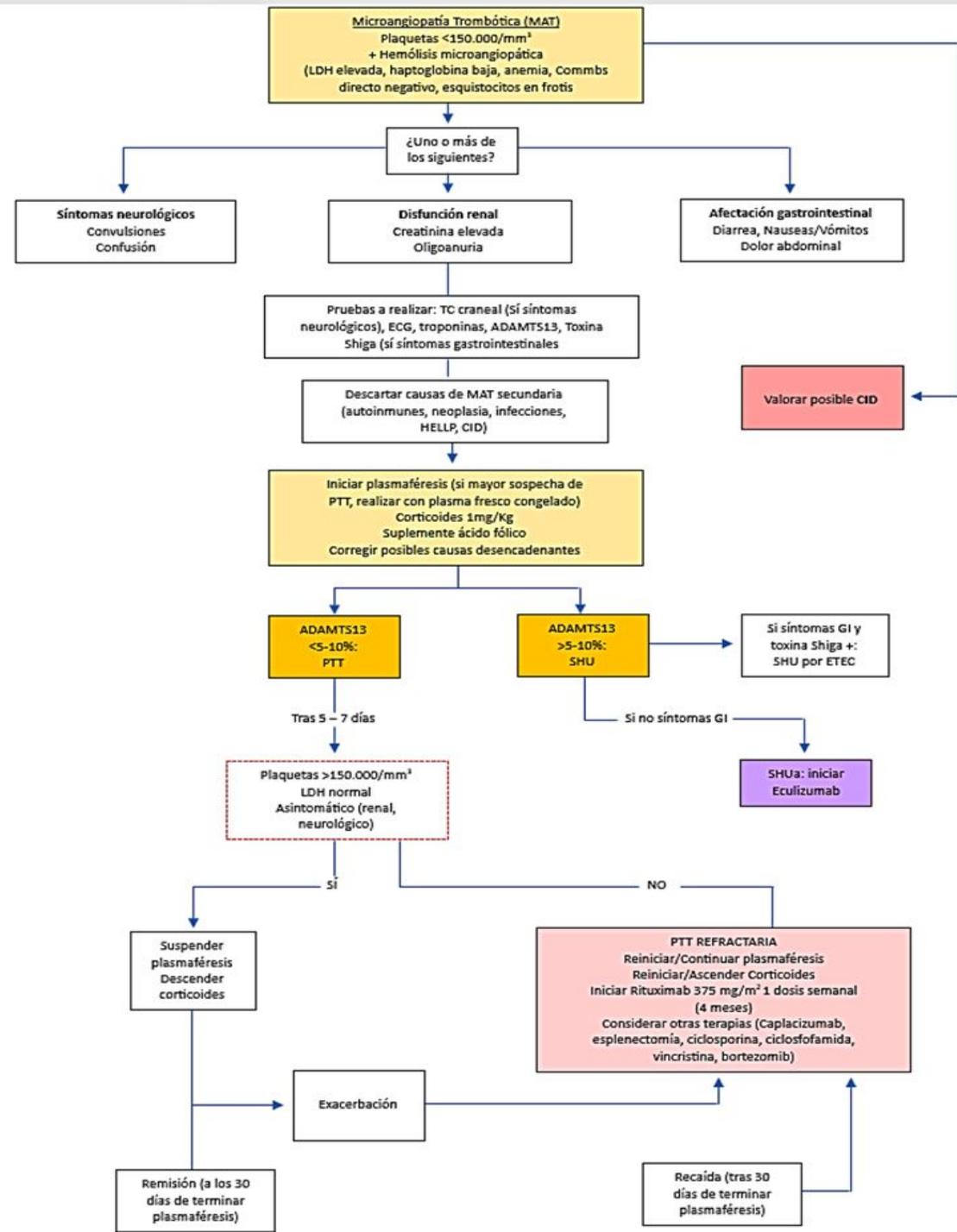
Valor de referencia

PDW Platelet Distribution Width

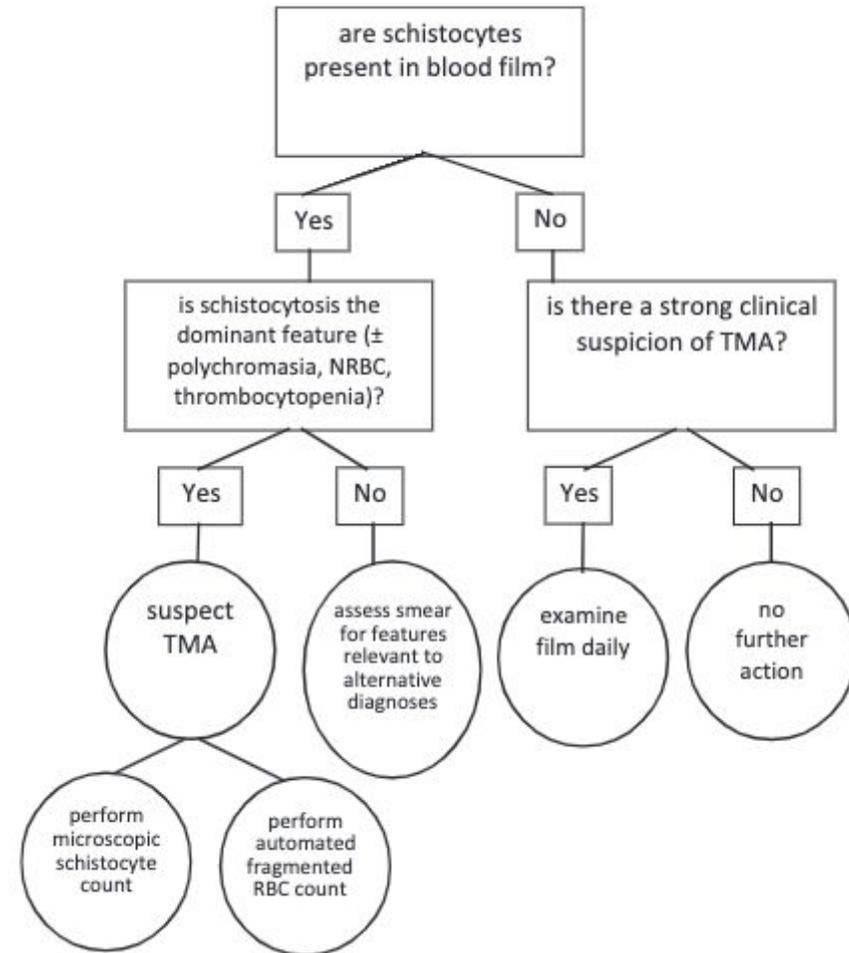
8.1–25.0 fL



SINTOMAS	La paciente mostró deterioro neurológico con afasia global y parestesia de miembro superior derecho. Se le realizó un TAC, en la cual no se encontraron hallazgos patológicos de interés.	AL 6TO DÍA DE TTO Mejora sus síntomas de movilidad. Desapareció la hemiparesia, la dosis metilprednisolona disminuyo y le suspendieron la plasmaféresis.	Al 8to presentó exacerbación bajaron las plaquetas, se reinicio la plasmaféresis y se administró el Rituximab durante 4 semanas.
FSP	ESQUISTOCITOS	ESQUISTOCITOS	ESQUISTOCITOS
Plaquetas	141 X10 <sup>9</sup> /L	>150X10 <sup>9</sup> /L	55X10 <sup>9</sup> /L
ADAMS 13	< 0,5% ( 44.0- 130 %)	26.7%	0.5%
TOXINA SHIGA	AUSENTE		
ANTICUERPOS INHIBIDORES	21.8U/ml (positivo > 15 U/ml)		
PLASMAFÉRESIS	+	NO	+
BILIRRUBINA INDIRECTA	3.72 mg/dL		
<b>HAPTOGLOBINA</b>	<b>INDETECTABLE</b>		
RETICULOCITOS	3.5%		
LDH	1.899U/L	NORMAL	
Coombs directo	NEGATIVO		



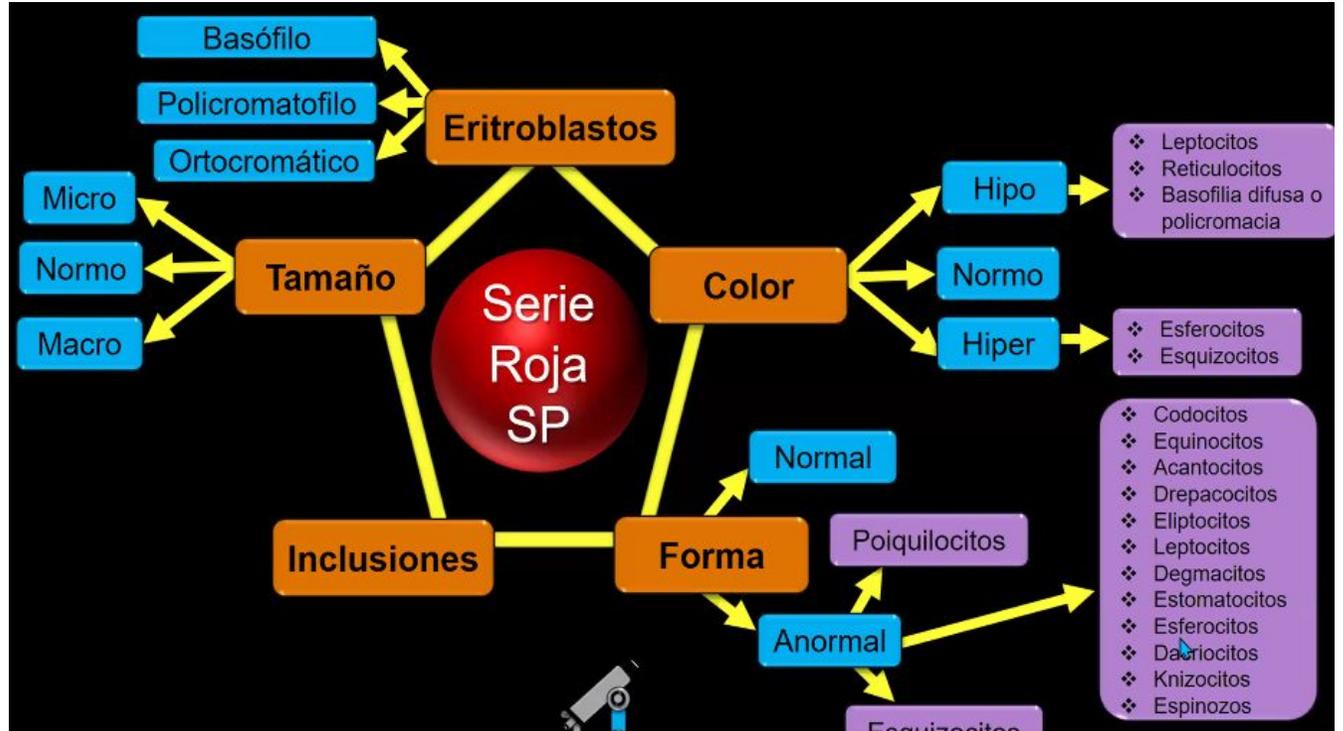
**Microangiopatía Trombótica (MAT)**  
 Plaquetas  $<150,000/\text{mm}^3$   
 + Hemólisis microangiopática  
 (LDH elevada, haptoglobina baja, anemia, Coombs directo negativo, esquistocitos en frotis)

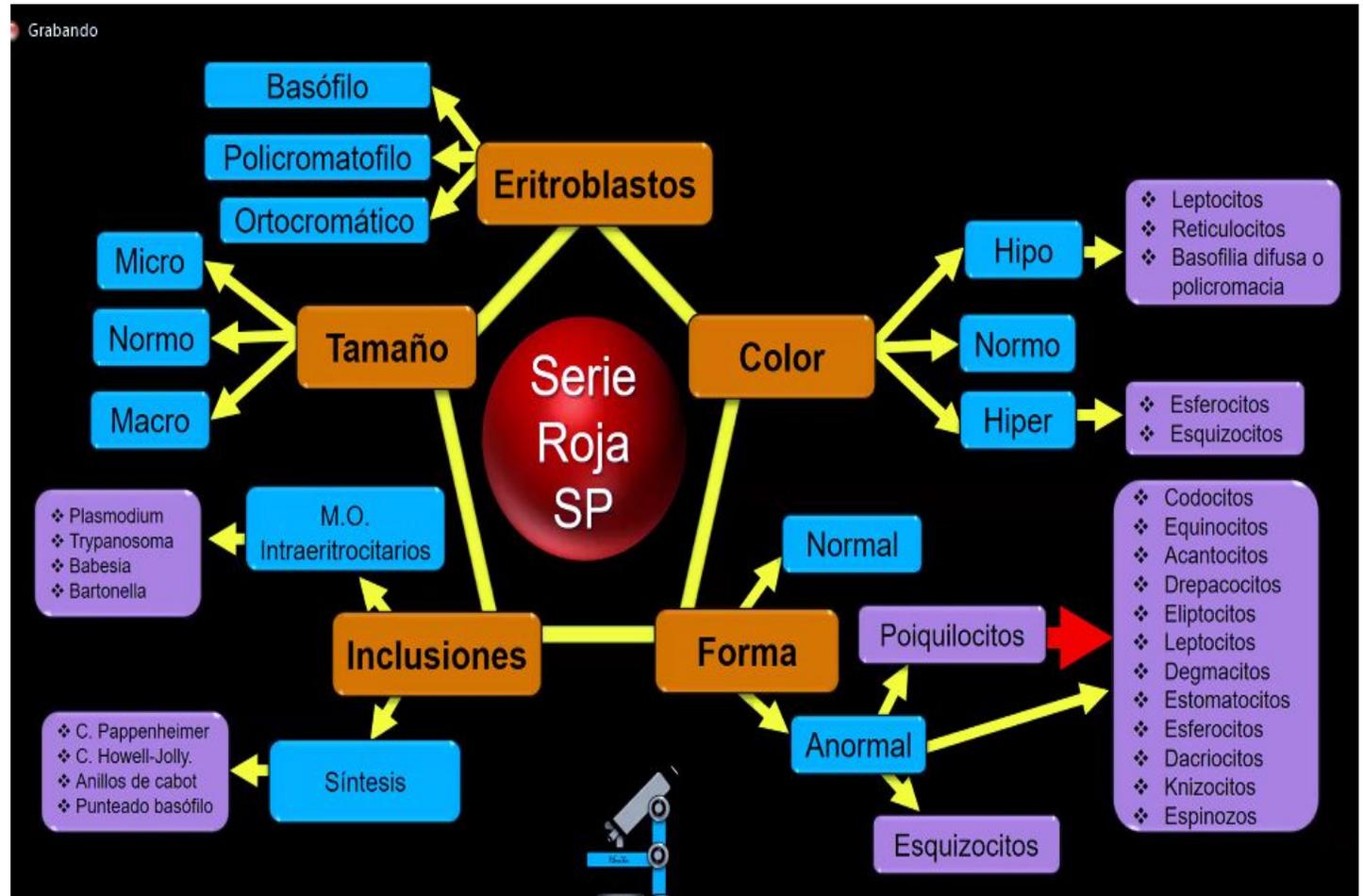


Falsos negativos  VCM  $> 105$  fL

Schapkaitz, E., & Mezgebe, M. H. (2017). International Council for Standardization in Hematology schistocyte guidelines. Turkish Journal of Hematology, 34(1), 59-63.







# Guía ICSH para diagnóstico de esquistocitos

## Objetivos:

- Definir un criterio morfológico estandarizado para el reconocimiento de esquistocitos
- Estandarizar método de cuantificación
- Indicar un umbral de valor para el diagnóstico de MAT
- Evaluar la confiabilidad y utilidad clínica de métodos de conteo automatizado



# Confiabilidad de métodos automatizados

- Algunos analizadores de última generación tienen banderas para el conteo de fragmentos de GR
- Ventajas:
  - Rápida disponibilidad, bajo costo
- ¿Reproducibilidad y confiabilidad? 
  - Estudios de MAT post trasplante: resultados confiables
  - Podría SUBestimar el conteo de esquistocitos
- Falsos negativos  VCM > 105 fL
- ICSH  Método de tamizaje
  - Si alto conteo de GR fragmentados o normal con VCM > 105 fL: REVISION!



**Table 1. Microscopic and automated schistocyte percentages for each specific diagnosis.**

Diagnosis (n=146)	Microscopic Schistocyte, % (Mean ± standard deviation)	Automated Fragmented Red Cell Count (Mean ± standard deviation)	p-value
Thrombotic microangiopathies (76)	3.44±1.84	0.84±0.62	<0.001*
Sepsis (20)	0.87±0.67	0.88±0.7	0.963
Neonates	1.55±0.90	1.01±0.53	0.102
Term (4)	1.81±0.98	0.81±0.23	
Preterm (7)	1.39±0.72	1.14±0.65	
Hematologic malignancy (10)	0.70±0.41	0.61±0.66	0.718
Mechanical heart valves (2)	0.43±0.32	-	-
Renal failure (10)	1.1±0.5	0.75±0.47	0.124
Hemoglobinopathies (15)	1.2±0.78	2.5±3.11	0.128



# Escenarios clínicos

MAT

Daño mecánico

OTROS:  
Hemoglobinopatías,  
Quemaduras,  
mielofibrosis

**VERDADEROS ESQUISTOCITOS: IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN**

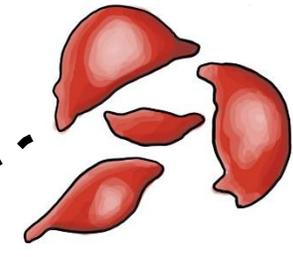
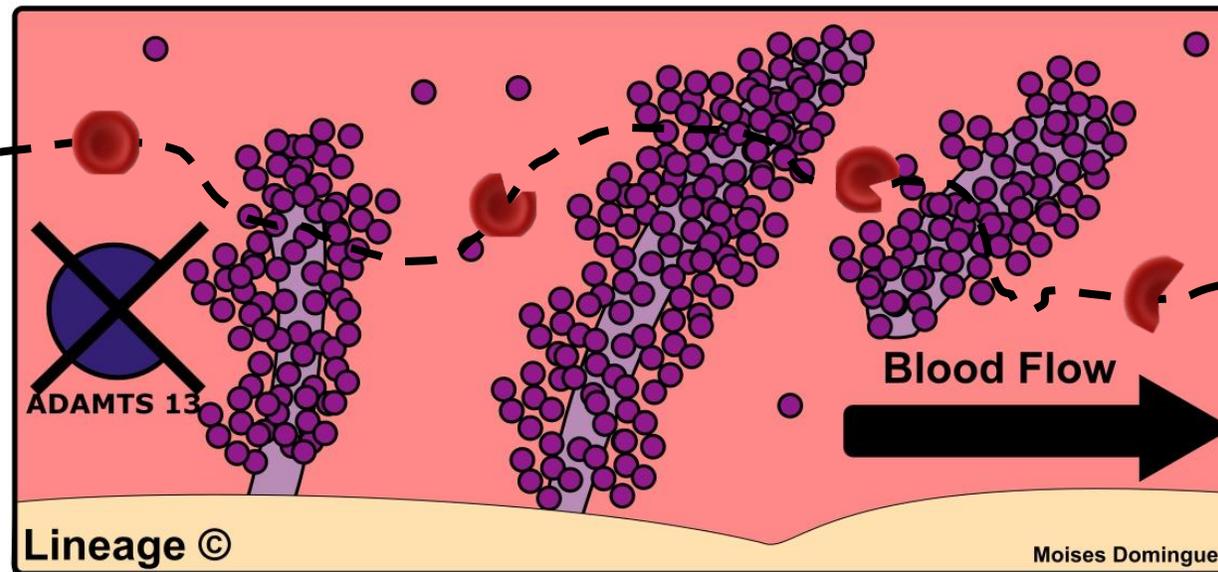
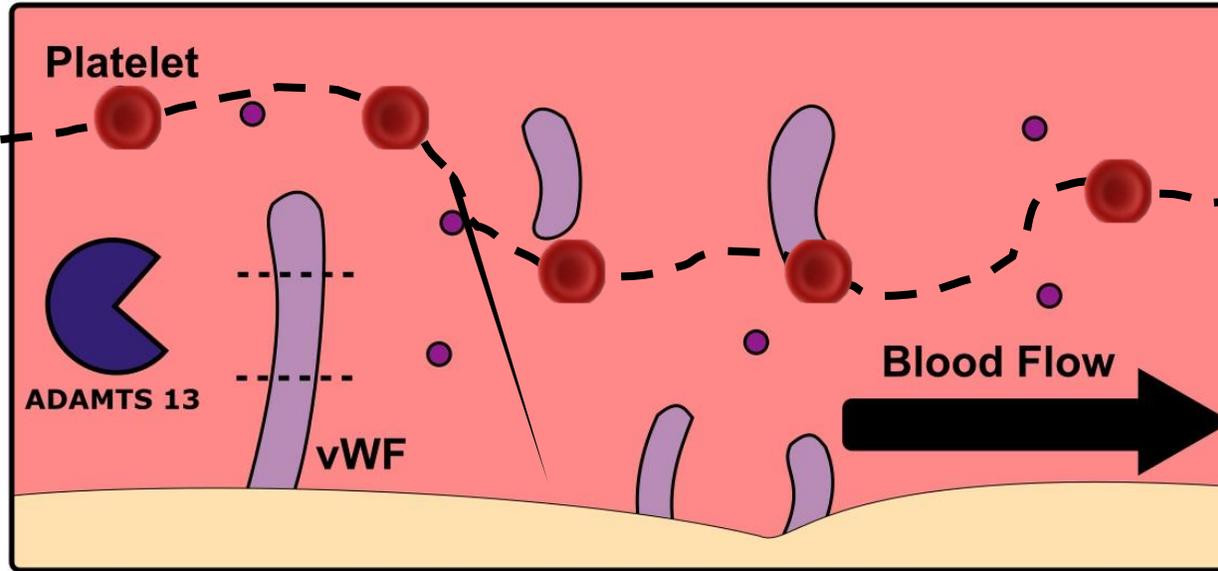


# Umbral para MAT y otras patologías

- **SIEMPRE es necesario descartar lo más grave**
  - Microangiopatías trombóticas  Primarias o secundarias
    - **Primarias** es una URGENCIA (SIN CAUSA APARENTE) PTT y SHU
    - **Secundaria:** tratar la causa desencadenante ( enfermedades auto inmunes, el embarazo,(síndrome de HELLP), CID, infecciones (VIH, VEB, parvovirus, neoplasias malignas o uso de ciertos medicamentos))
- Esquistocitos por daño mecánico no corresponden a urgencia y se pueden encontrar de forma crónica
- Método de cuantificación para definir si esquistocito hace sospechar MAT



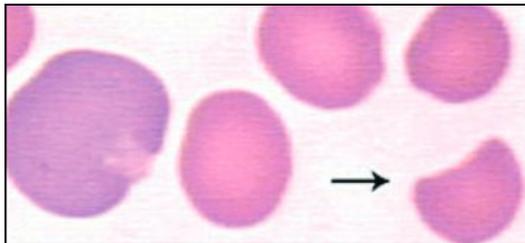
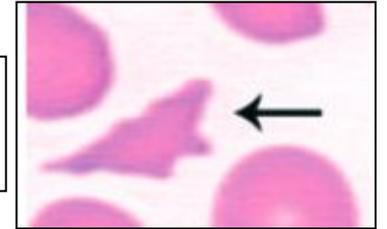
# Thrombotic Thrombocytopenic Purpura



# Identificación morfológica

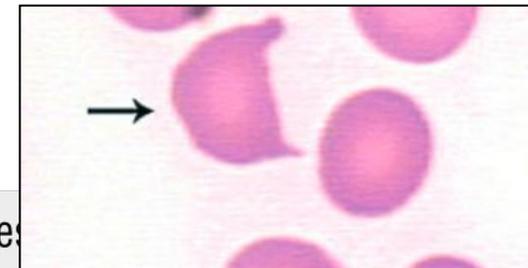
- Siempre deben ser mas pequeños que GR normal, adicionalmente:

- Fragmentos pequeños de tamaño variable, pueden tener puntas finas (triángulos), pueden ser microcrescetes (punta redonda de un lado), tinción mas oscura.



- Células tipo casco (“helmet cells”): una sola zona amputada, con borde recto y puntas finas. La porción faltante corresponde al fragmento que ha sido extraído resultado de un quiebre en fibrina.

-Células dañadas, con par de espículas separadas por fragmento semicircular, cóncavo, llamados queratocitos (células con cuernos).



# ¿Anisopoiquilocitosis vs. Esquistocitos predominantes ?



- **Según la forma predominante va a variar la forma de contar y la sospecha diagnóstica:**
  - Anisopoiquilocitosis → Probablemente daño mecánico
  - Recomendación: conteo cualitativo (mencionar esquistocitos en reporte)
- **Predominancia de esquistocitos: conteo cuantitativo indicado**

	Ligera	Moderada	Marcada
Esquistocitos	< 1%	1-2	> 2
Células bite	N/A	1-2	> 2
Células bístere	N/A	1-2	> 2
Drepanocitos	N/A	1-2	> 2
Elíptocitos	N/A	5-20	> 20
Ovalocitos	N/A	5-20	> 20
Eferocitos	N/A	5-20	> 20
Estomatocitos	N/A	5-20	> 20
Dacriocitos	N/A	5-20	> 20
Equinocitos	N/A	5-20	> 20
Codocitos	N/A	5-20	> 20
Macro-ovalocitos	N/A	2-5	> 5
Acantocitos	N/A	5-20	> 20



# ¿Hasta cuántos esquistocitos son normales?

- Alrededor de 0.2% es normal en la población general
- Puede variar según antecedentes y comorbilidades
- Mayor a 1%  Alta sospecha de MAT

## \*\*MAT secundario a TAMO: 4%, +:

- Trombocitopenia
- Anemia
- Incremento LDH
- Disminución haptoglobina

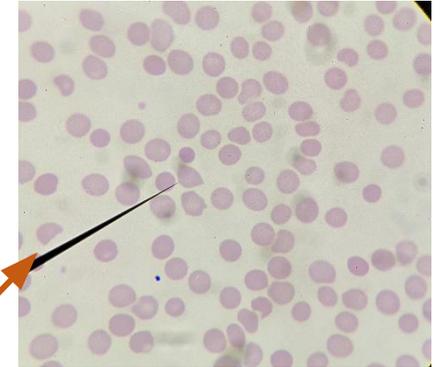
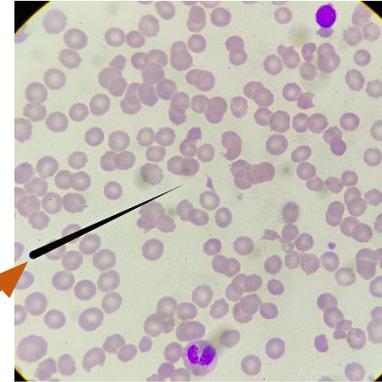
• Si alta sospecha de MAT sin esquistocitos  Frotis de sangre periférica diario



# Cuantificación de esquistocitos

- **Técnica:**

- ✓ Microscopía óptica en FSP
- ✓ Expresar resultados en porcentaje
- ✓ Método cuantitativo  Solo cuando esquistocito es morfología predominante



- **¿Qué parte de la lámina?**

- ✓ Fragmentos angulares tienden a volverse esféricos cerca a la cola
- ✓ Recomendación: contar en región previa a la cola de la lámina  GR empiezan a separarse entre si
- ✓ Aumento : 40x,100x.



Table 2. Confidence limits of an observed percentage of schistocytes when the total number of events varies from 1000 to 10 000 (adapted from Rümke, 1979)

Schistocytes (%)	100 RBC	1000 RBC	10 000 RBC
0	0.0–3.6	0.0–0.4	0.0–0.1
1	0.0–5.4	0.5–1.8	0.8–1.3
2	0.2–7.0	1.2–3.1	1.7–2.3
3	0.6–8.5	2.2–4.3	2.6–3.4
4	1.1–9.9	2.9–5.4	3.6–4.5
5	1.6–11.3	3.7–6.5	4.5–5.5
6	2.2–12.6	4.6–7.7	5.5–6.5
7	2.9–13.9	5.5–8.8	6.5–7.6
8	3.5–15.2	6.4–9.9	7.4–8.6
9	4.2–16.4	7.3–10.9	8.4–9.6
10	4.9–17.6	8.2–12.0	9.4–10.7
15	8.6–23.5	12.8–17.4	14.3–15.8

**\*Conteo de al menos 1000 GR**



## Morphologic Diagnosis of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura

Edward R. Burns,<sup>1,2\*</sup> Yenmay Lou,<sup>2</sup> and Anjali Pathak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York

<sup>2</sup>Department of Medicine, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York

**TABLE I. Incidence of Schistocytes on Peripheral Blood Smears**

Patient groups	N	Prevalence (%)	Mean ± SD (%)	Range (%)
Normals	40	58	0.05 ± 0.03	0–0.27
Chronic renal disease	28	93	0.21 ± 0.18	0–0.6
Preeclampsia	5	80	0.25 ± 0.08	0–0.45
Mechanical valves	5	100	0.18 ± 0.15	0–0.48
TTP	6	100	8.35 ± 2.74	1.0–18.4



# Mensajes finales

1. Esquistocitos deben ser evaluados en FSP usando microscopía óptica
  - Valor en % a partir de conteo de 1000 células
2. Conteo de esquistocitos se debe hacer cuando haya sospecha de MAT, daño mecánico, y junto pacientes con trombocitopenia
3. Se deben aplicar criterios morfológicos específicos:
  - SIEMPRE son mas pequeños que GR normales
4. Esquistocitos significativos si son morfología principal
5. Conteo > 1%: indicativo de MAT
6. Fragmentos de GR se pueden contar con métodos automatizados
  - Método rápido y confiable
  - Se debe confirmar con microscopio en caso de macrocitos



Gracias!





# VI CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUIMICA CLÍNICA

## II CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

¡El riesgo es que te quieras quedar!

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024



**COLABIOCLI**  
Confederación Latinoamericana  
de Bioquímica Clínica



Colegio Nacional de Bacteriología

[www.congresocolabiocli.com](http://www.congresocolabiocli.com)

