



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES Y
AGRIMENSURA

PRÁCTICA ELECTIVA

INFORME FINAL

**“Alteraciones citomorfológicas en
frotis de sangre periférica de
pacientes post Covid-19”**

(PLAN DE TRABAJO APROBADO POR RESOLUCION N° 2285/19)

ALUMNA

Palacio, Myrna Ana María

DIRECTORA

Bca. Ivan, María Victoria

INDICE

Introducción.....	3
Objetivos.....	5
Hipótesis.....	6
Materiales y Métodos.....	6
Resultados.....	7
Discusión.....	9
Anexo.....	10
Bibliografia.....	12

INTRODUCCION

El virus SARS-CoV-2 es un virus de ARN de la familia Coronaviridae y subfamilia Coronvirinae. Existen 4 subgrupos principales que son el alfa, beta, gamma y delta, de los cuales alfa y beta solo afectan a mamíferos. Hasta diciembre del 2019, se sabía que seis coronavirus diferentes infectaban a humanos, cuatro de estos HCoV-NL63, HCoV-22Ge, HCoV-OC43 y HKU1 que causaron síntomas leves.

Con respecto a su estructura, el material genético es ARN que se encuentra envuelto por la nucleocapside y una proteína de membrana, todo protegido por una envoltura donde se encuentran la Glicoproteína Spike y la Hemaglutinina Esterasa.

El virus SARS-CoV-2 infecta inicialmente las vías respiratorias altas, a través de fómites, vehiculado por gotas de saliva o en aerosoles. Una vez que ingresa al organismo, infecta las células mediante la unión de su proteína Spike (proteína S) a los receptores de la enzima convertidora de la angiotensina 2 (ACE2), aunque requiere la presencia de una proteasa de membrana, la proteasa transmembrana de Serina de tipo II (TMPRSS2) que se une al receptor ACE2 y lo escinde para que se active la proteína S y el ARN viral penetre en la célula infectada (etapa determinante para la transmisibilidad). Se ha demostrado una mayor afinidad por los receptores ACE2 del SARS-CoV-2 con respecto al SARS-CoV (causante de la epidemia de SARS de 2003), lo que explica la mayor transmisibilidad; lo que justifica además la ubicuidad de los daños provocados por el SARS-CoV-2 en todo el organismo, ya que la expresión de los receptores ACE2 es prácticamente universal en las células de todos los órganos del cuerpo humano. (Hernando, 2021)

La infección del SARS-CoV-2 se debe a cuatro mecanismos principales, efecto citotóxico directo, desregulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), daño endotelial y trombosis, y desregulación de la respuesta inmunitaria. El ACE2 es un potente modulador del SRAA. Transforma la angiotensina I en su forma inactiva, y la angiotensina II en angiotensina 1-7, que es vasodilatadora y tiene propiedades antiproliferativas y antifibróticas. Y como dijimos anteriormente, la expresión de receptores ACE2 es universal y se encuentra en muchas células de diferentes tejidos como en el endotelio vascular de diferentes órganos. Por tanto, el SARS-CoV-2 daña por citotoxicidad directa el endotelio, provocando también una endotelitis. Estos fenómenos llevan a un aumento de la producción de fibrina, inhibición de la fibrinólisis y activación del complemento, lo que induce la formación de microtrombos y una disfunción microvascular. (Hernando, 2021)

Entre los hallazgos de laboratorio que podemos encontrar en pacientes de COVID-19 se encuentra principalmente, una marcada linfopenia, que afecta tanto a los linfocitos T CD4+ como a los CD8+, y su presencia se ha asociado a una mayor gravedad de la enfermedad. (Robles Tapia, 2021) También se ha asociado a peor pronóstico la leucocitosis, en especial la neutrofilia, aunque esto se observó más raramente. Puede existir también, trombocitopenia, lo que podría indicar una alteración por consumo, pero en ocasiones se detectará un aumento del recuento plaquetario, que podría deberse al aumento de la trombopoyetina tras la inflamación pulmonar. También se han reportado la presencia de hipersegmentación de neutrófilos, hemofagocitosis y reacción leucemoide, vacuolas, citopenias y características mielodisplásicas. (Hala Gabr, 2022) (Aldo Cabello-Ganem, 2021) (Bahadur, 2021) Además de la presentación clínica, dichas investigaciones desempeñaron un papel importante en el diagnóstico y la

evaluación de la gravedad de la enfermedad. (SUNDARI, 2021) La respuesta inflamatoria inmunomediada juega un papel importante en la patogenia de la enfermedad, ya que a medida que avanza la gravedad hay una linfopenia, eosinopenia y neutrofilia significativas. Por tal, algunos estudios han declarado sobre el impacto morfológico causado por la infección por el virus SARS-CoV-2 en el frotis de sangre periférica de pacientes con COVID-19. (Gokula Kannan, 2021)

En cuanto a las manifestaciones clínicas, la más importante es la enfermedad tromboembólica. La enfermedad tromboembólica y la trombosis microvascular en COVID-19 condicionan la aparición de accidentes cerebrovasculares (ACV), tromboembolismo pulmonar agudo (TEPA), infarto de miocardio y otros eventos graves que pueden conducir a un empeoramiento importante e incluso a la muerte. Los pacientes con COVID-19 pueden presentar en fase aguda, alteraciones del metabolismo de la glucosa, con hiperglucemia y cetoacidosis de inicio, incluso en pacientes que previamente no tenían diagnóstico de diabetes. En la fase aguda de la enfermedad se produce, en un número importante de pacientes graves, un daño renal agudo, con alteraciones electrolíticas, proteinuria, hematuria y acidosis metabólica, todo lo que conlleva una alta mortalidad. A largo plazo, puede provocarse daño glomerular permanente, por acción directa del virus o por inmunocomplejos. Estos acontecimientos pueden llevar a una insuficiencia renal crónica. El COVID-19 tiene múltiples manifestaciones, no solo respiratorias, sino en todos los sistemas del cuerpo humano, algunas de ellas van a persistir tras la superación de la fase aguda de la enfermedad, dando lugar a la denominada COVID prolongada. (Hernando, 2021)

Algunos de los que se recuperaron de COVID-19 desarrollan síntomas persistentes o nuevos que duran semanas o meses; esto se llama "COVID largo", "Long Haulers" o "Síndrome post COVID". El grupo de estudio de síntomas de COVID identificó seis grupos de síntomas. Ellos son: "Semejante a la gripe" sin fiebre: dolor de cabeza, pérdida del olfato, dolores musculares, tos, dolor de garganta, dolor de pecho, sin fiebre. "Semejante a la gripe" con fiebre: dolor de cabeza, pérdida del olfato, tos, dolor de garganta, ronquera, fiebre, pérdida del apetito. Gastrointestinales: dolor de cabeza, pérdida del olfato, pérdida del apetito, diarrea, dolor de garganta, dolor de pecho, sin tos. (Bouza, 2021)

La recuperación de una infección leve por SARS-CoV-2 generalmente ocurre dentro de los 7 a 10 días posteriores al inicio de los síntomas en la enfermedad leve; pero podría tomar de 3 a 6 semanas en una enfermedad grave. Sin embargo, el seguimiento continuo de los pacientes que se recuperaron de la COVID-19 mostró que uno o más síntomas persisten en un porcentaje alto de personas, incluso semanas o meses después de COVID-19. "COVID largo" o 'Síndrome Post-COVID' es un término que se usa para describir la presencia de varios síntomas, incluso semanas o meses después de contraer la infección por SARS-CoV-2, independientemente del estado viral. Puede ser de naturaleza continua o recurrente y remitente. Puede haber persistencia de uno o más síntomas de COVID agudo, o aparición de nuevos síntomas. La mayoría de las personas presentan síndrome post-COVID con PCR negativas. En otras palabras, el síndrome post COVID es el tiempo que transcurre entre la recuperación microbiológica y la recuperación clínica. Dependiendo de la duración de los síntomas, post COVID o Long COVID se puede dividir en dos etapas: post COVID agudo donde los síntomas se extienden más allá de las 3 semanas, pero menos de 12 semanas, y COVID crónico donde los síntomas se extienden más allá de las 12 semanas. Los síntomas en personas

con “COVID prolongado” son fatiga profunda, dificultad para respirar, tos, dolor en el pecho, palpitaciones, dolor de cabeza, dolor en las articulaciones, mialgia y debilidad, insomnio, hormigueo, diarrea, sarpullido o pérdida de cabello, deterioro del equilibrio y problemas neurocognitivos, problemas de memoria y concentración y empeoramiento de la calidad de vida. (A.V.Raveendranab, 2021)

Debido a los múltiples hallazgos de alteraciones en frotis de sangre periférica de pacientes post Covid-19 y la relación con el avance de la enfermedad como de la recuperación, es que se considera importante y necesario estudiar el hemograma y frotis de cada paciente acompañado de su historia clínica y antecedentes. (Kaur, 2021) (Tandon, 2021)

OBJETIVOS

Generales:

- Brindar al alumno que está finalizando el Ciclo de Formación Profesional, un espacio curricular que le permita profundizar su capacitación en el campo disciplinar de la Hematología Clínica.
- Posibilitar un mayor desarrollo de competencias en aspectos no tradicionales del perfil profesional y que presentan una importante demanda en Investigación Básica e Investigación Aplicada en el área de Hematología Clínica.

Particulares:

- El objetivo de este trabajo es dar a conocer las alteraciones observadas en hemogramas realizados con un equipo de 3 DIFF: Cell-Dyn Emerald y alteraciones citomorfológicas observadas en leucocitos, eritrocitos y plaquetas en el frotis de sangre periférica en pacientes post Covid'19 mayores de 18 años.
- Realizar extracción de sangre venosa, utilizando como anticoagulante EDTA o sal disódica o tripotásica del ácido etilendiaminotetraacético (posee un efecto quelante sobre el calcio impidiendo el proceso de coagulación al fijarlo) para el hemograma, y teniendo en cuenta las condiciones pre analíticas y de bioseguridad como ser:
 - Respetar las normas de higiene
 - Abrir el material descartable en el momento de uso y descartar luego
 - Utilizar guantes y descartar al finalizar en bolsa roja para residuos patológicos al igual que todo lo que tenga contacto con la muestra
 - Tener todo el material preparado antes de la toma de muestra
 - Controlar el correcto funcionamiento del émbolo de la jeringa
 - Rotular correctamente los tubos con los datos de cada paciente
- Desarrollar la técnica de Tinción de May-Grünwald-Giemsa
- Relacionar los resultados obtenidos con la información clínica.
- Aplicar procedimientos de control de calidad y de bioseguridad en el laboratorio de Hematología Clínica.
- Adquirir la conducta adecuada y las habilidades que le permitan en el futuro desempeñarse en el ámbito profesional.

HIPOTESIS

Confirmar que la infección por Covid-19 está relacionada a alteraciones morfológicas y de recuento en las células sanguíneas blancas, rojas y plaquetas que persisten en la post infección.

MATERIALES Y METODOS

Se estudió en forma retrospectiva y descriptiva 63 pacientes del Hospital Escuela General San Martín sin distinción de sexo y mayores de 18 años que fueron diagnosticados con Covid'19 desde el mes de Noviembre del año 2020 de la provincia de Corrientes Capital, Argentina, datos de alta.

Con previo consentimiento informado de cada paciente, se extrajo sangre, un volumen no superior a 3ml de sangre venosa, con la que inmediatamente, se realizó dos extendidos de punta de jeringa sobre un portaobjeto perfectamente limpio y seco con la ayuda de un extensor. Luego se colocó la muestra contenida en la jeringa en tubo con anticoagulante EDTA.

Antes de las 2 horas de realizada la extracción se realizó un hemograma de cada paciente con un equipo de 3 DIFF: Cell-Dyn Emerald, el cual se comprobó con la observación de la región central del frotis de sangre periférica teñido con la técnica de tinción de May-Grünwald-Giemsa. Se estudió la citomorfología y recuento de leucocitos, eritrocitos y plaquetas, registrando alteraciones. Se utilizó para ellos un Microscopio Óptico Binocular.



Fig 1: Equipo de 3 DIFF (Cell-Dyn Emerald)



Fig 2: Frotis en proceso de tinción con May-GG

Además, se registraron datos de cada paciente tales como DNI, edad, sexo, enfermedad de base, fecha de hisopado positivo para Covid-19, síntomas de la enfermedad, vacuna (dosis, marca y reacciones a la misma), secuelas del Covid-19 y medicación. Dichos datos fueron de utilidad para relacionar los resultados obtenidos con la información clínica.

Se utilizó como herramienta un Excel, para el registro de datos recolectados a través del cuestionario, observación del frotis y hemograma.

RESULTADOS

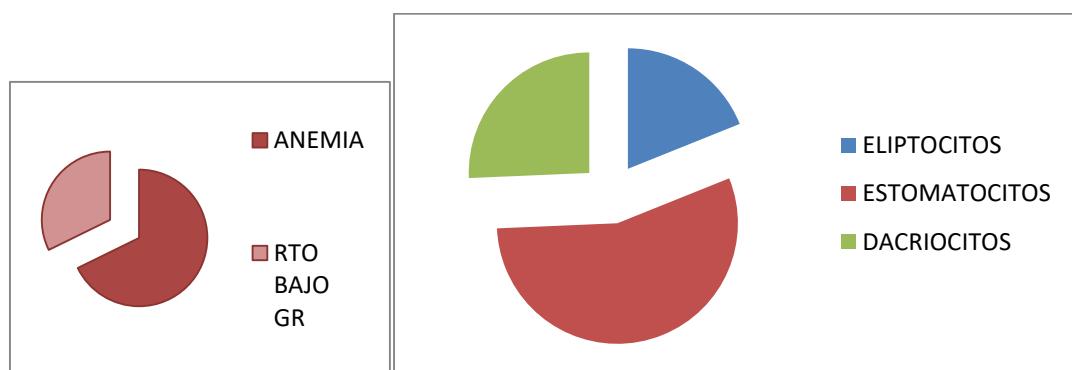
Se estudió hemograma y frotis de sangre periférica de los 63 pacientes.

Con respecto a las alteraciones en recuento de serie roja, el 21% presentó anemia, definiéndola como la disminución de la concentración de Hemoglobina en sangre dependiendo de la edad y el sexo del paciente (Donato, 2009); y el 10% una disminución del recuento de glóbulos rojos. Con respecto a la morfología de las alteraciones, dentro de las más frecuentes se observó:

41% Estomatocitos

19% Dacriocitos

14% Eliptocitos

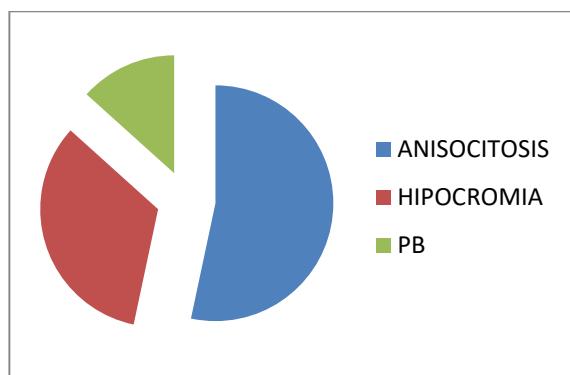


Y con respecto a las alteraciones citoplasmáticas:

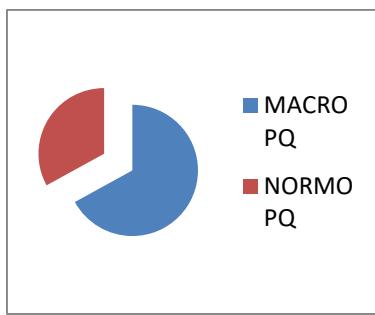
8% Anisocitosis

5% Hipocromía

2% Punteado basófilo



En cuanto a plaquetas, se observó en un 67% la presencia de macroplaquetas.



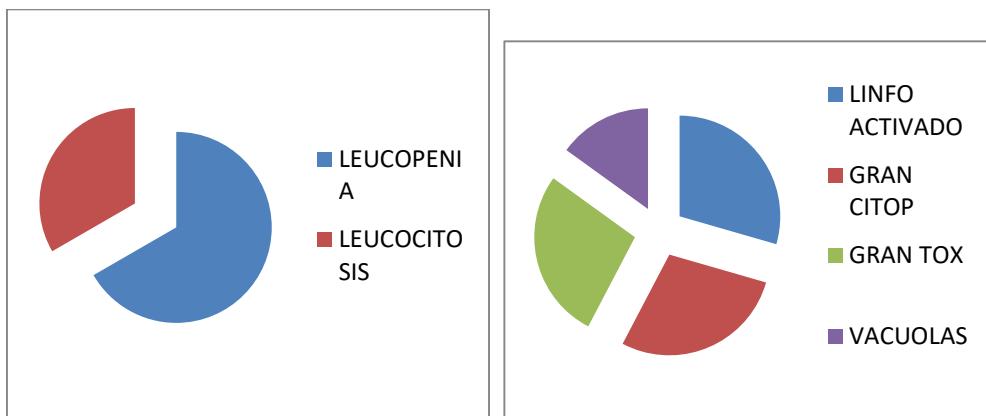
En la serie blanca, se observó un 6% de pacientes con leucopenia y un 3% con leucocitosis con neutrofilia; y con respecto a la morfología:

94% Linfocitos activados

90% Granulaciones citoplasmáticas

87% Granulaciones tóxicas

48% Vacuolas



Las alteraciones mencionadas se observaron en forma regular o abundante. Siendo las más frecuentes con respecto a la morfología de la serie blanca.

Se tomó como intervalos de referencias los siguientes valores para adultos sanos:

- Leucocitos: 5.000 – 10.000 / mm³
- Cayados: 0 – 2 % / 100 – 250 cel / mm³
- Neutrófilos segmentados: 55 – 70 % / 2.500 – 6.500 cel / mm³
- Eosinófilos: 1 – 4 % / 50 – 350 cel / mm³
- Basófilos: 0 – 1 % / 0 – 100 cel / mm³
- Linfocitos: 20 – 40 % / 1.500 – 4.000 cel / mm³
- Monocitos: 4 – 8 % / 100 – 800 cel / mm³
- Hematócitos: mujeres: $4,1 \times 10^{12} / L$ – $5,2 \times 10^{12} / L$; varones: $4,6 \times 10^{12} / L$ – $5,9 \times 10^{12} / L$
- Hematócrito: mujeres: $42 \pm 5 \%$; varones: $45 \pm 5 \%$
- Hemoglobina: varones: 13 g/dL, mujeres: 12 g/dL
- Volumen corpuscular medio: 80,0 – 100,0 fL
- Hemoglobina corpuscular media: 26,0 – 34,0 pg

- Concentración de Hemoglobina corpuscular media: 31,0 – 36,0 g/dL
- RDW: 14%
- Recuento plaquetario: 150 – 400 plaquetas/microlitro

DISCUSION

Se observó con los resultados obtenidos, la presencia de alteraciones en las células sanguíneas de los pacientes post- Covid19, siendo las más frecuentes las alteraciones morfológicas de la serie blanca.

Del total de pacientes sólo el 92% afirmó estar vacunado contra Covid-19, de los cuales sólo el 70% con segunda dosis aplicada.

Con respecto a las enfermedades de base, un 2% refirió enfermedad de sangre como plaquetopenias y leucemias.

El 54% de los pacientes refirió estar tomando medicamentos, pero solo el 20% medicamentos que influyen sobre el recuento de células sanguíneas, como ser corticoides, quimioterapia, anticoagulantes.

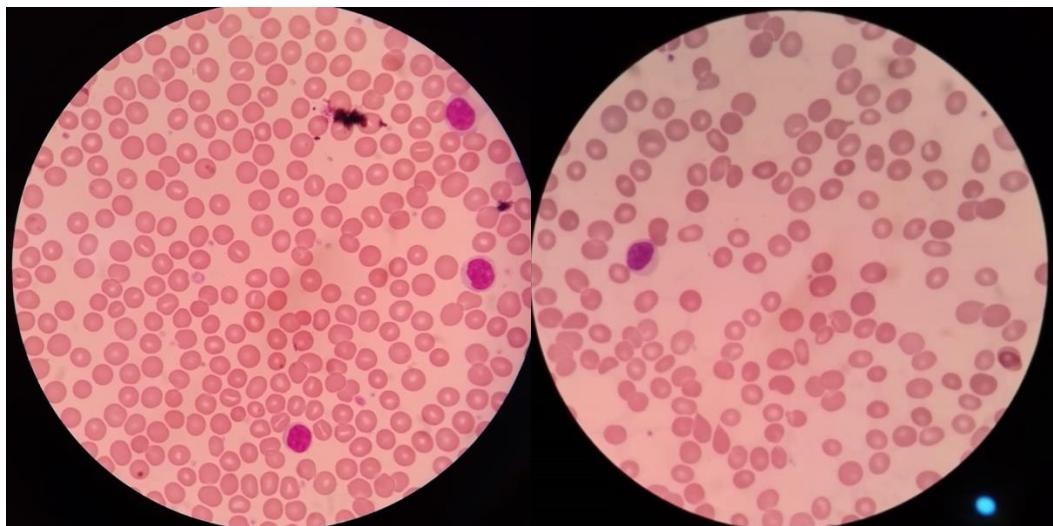
En mayor porcentaje de pacientes estudiados, las alteraciones celulares no se ven relacionadas con enfermedad de base ni medicamento.

Con los resultados obtenidos y relacionado a la historia clínica de cada paciente, se reafirma la importancia de estudiar las alteraciones de recuento y morfología de las células sanguíneas de los pacientes post Covid-19, que se ven afectadas post infección.

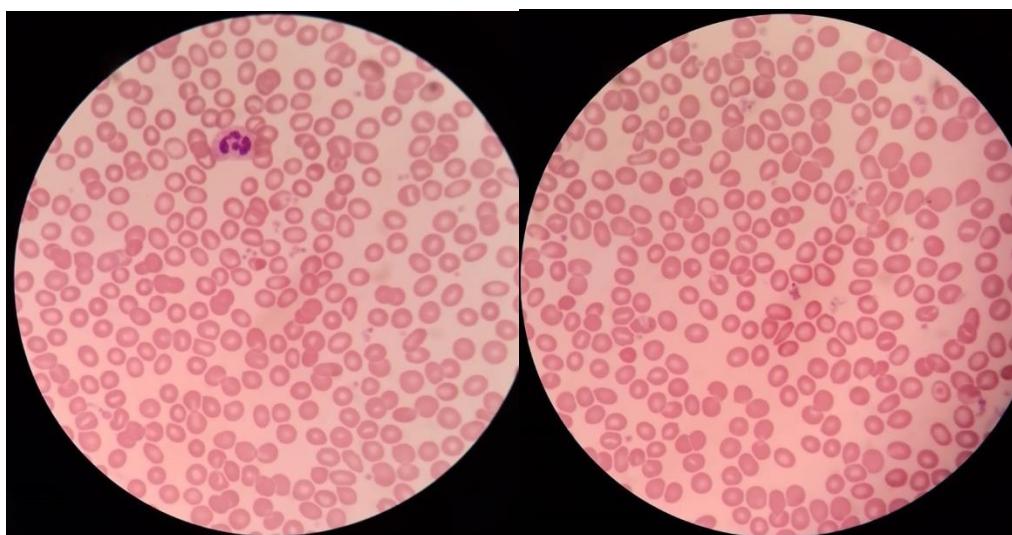
Se logró por tanto, cumplir con los objetivos de este trabajo al dar a conocer las alteraciones observadas en hemogramas realizados con un equipo de 3 DIFF: Cell-Dyn Emerald y alteraciones citomorfológicas observadas en leucocitos, eritrocitos y plaquetas en el frotis de sangre periférica en pacientes post Covid'19 mayores de 18 años dados de alta, adquiriendo mayor práctica también en la toma de muestra de sangre venosa como en el reconocimiento y alteraciones de las células sanguíneas.

El frotis de sangre periférica es una prueba económica, simple, altamente informativa y universalmente disponible; y los informes preliminares sugieren que el hemograma es una herramienta valiosa para la estratificación del riesgo clínico. Se resalta por tanto, la importancia de la actividad Bioquímica en el diagnóstico y seguimiento de dicha patología.

ANEXO

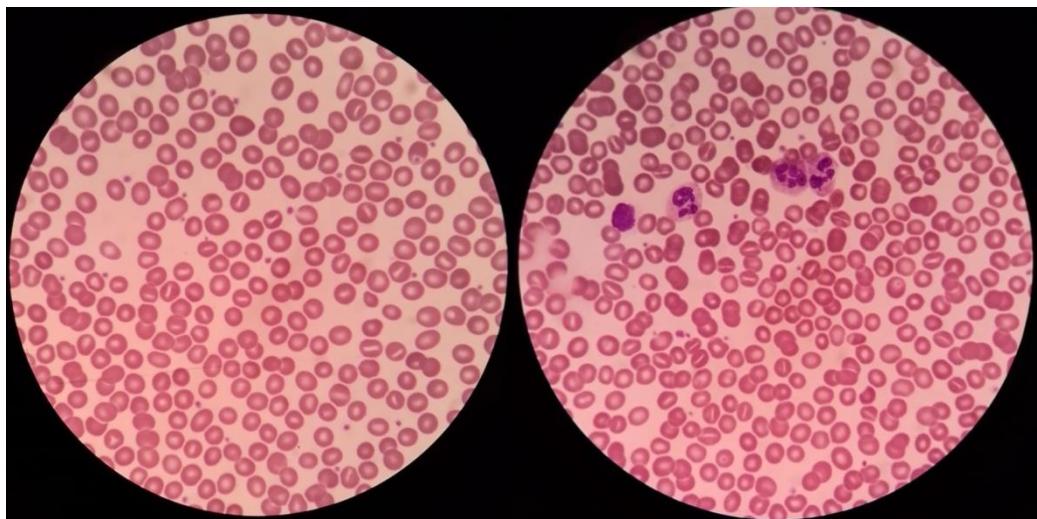


Ig1: Estomatocitos-Linfocitos activados-Anisocitosis Ig2: Recuento disminuido de glóbulos rojos-
Anisopoiquilocitosis (Daciocitos-Eliptocitos)



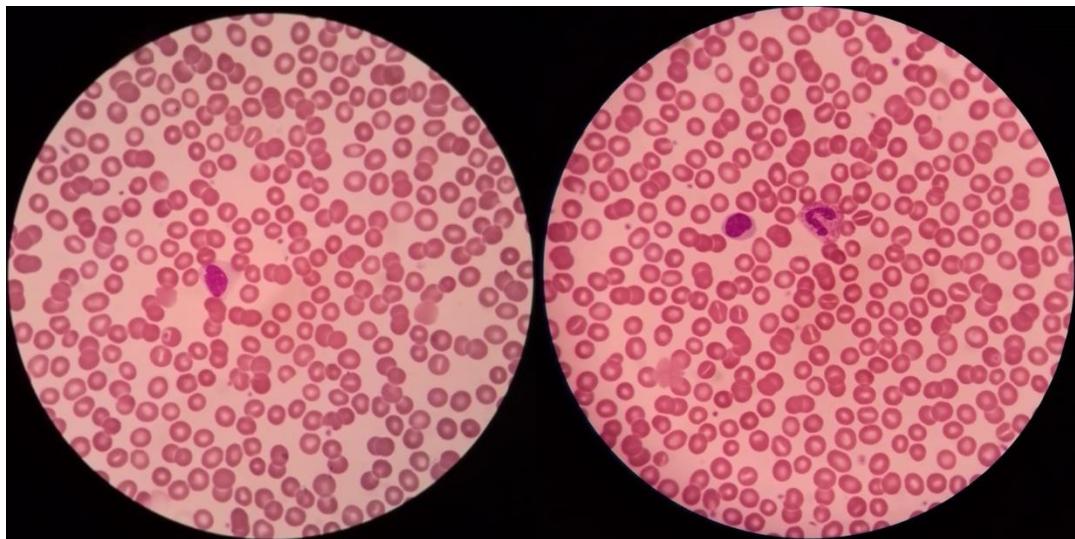
Ig3: Hipocromía- Granulaciones Tóxicas

Ig4: Anisopoiquilocitosis: Estomatocitos-Eliptocitos-
Daciocitos- Target) Macroplaquetas- Hipocromía



Ig5: Estomatocitos-Eliptocitos-Macroplaquetas

Ig6: Estomatocitos-Daciocitos-Gran. Tóxicas



Ig7: Estomatocitos-Eliptocitos- Linfocito activado

Ig8: Estomatocitos- Neutrófilo con Gran. Tóxicas-
Anisocitosis- Macroplaqueta

Las imágenes fueron observadas con un Microscopio Óptico Binocular Marca Servinlab OLYMPUS.

Las fotos fueron tomadas desde un celular Motorola modelo: moto e7i power.

Bibliografía

- A.V.Raveendranab, R. J. (2021). Long COVID. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 869-875.
- Aldo Cabello-Ganem, M. F. (2021). Implicaciones cardiovasculares, hematológicas y renales del COVID-19. *Med Int Méx.*, 813-826.
- Bahadur, S. (2021). Changes in peripheral blood in SARS CoV-2 patients and its clinico-pathological correlation: A prospective cross-sectional study. *Wiley Online Library*.
- Bouza, E. (2021). Síndrome post-COVID: Un documento de reflexión y opinión. *National Library of Medicine*.
- Donato, D. H. (2009). Anemia ferropénica. Guía de diagnóstico y tratamiento. *Archivos Argentinos de Pediatría*.
- Gokula Kannan, M. S. (2021). Leukocyte morphological changes in COVID-19, a peripheral smear study and analysis at a tertiary health care centre in India. *APOLLO MEDICINE*, 158-161.
- Hala Gabr, S. B. (2022). Changes in peripheral blood cellular morphology as diagnostic markers for COVID-19 infection. *Wiley Online Library*.
- Hernando, J. E. (2021). Seguimiento de los pacientes con secuelas no respiratorias de la COVID-19. *FMC - Formación Médica Continuada en Atención Primaria*, 81-89.
- Kaur, G. (2021). Morphologic Changes in Circulating Blood Cells of COVID-19 Patients. *CUREUS*.
- Robles Tapia, A. J. (2021). Linfopenia como predictor de severidad en enfermedad causada por SARS- COV-2. *Universidad Privada Antenor Orrego*.
- SUNDARI, A. (2021). Morphological Changes in Blood Cells as Indicators for Disease Progression in COVID 19. *EUROPE PMC*.
- Tandon, A. (2021). Morphological alterations in peripheral blood smears of covid 19 patients: study of twocases from district hopsital, pali. *NMO Journal*.