

Erasmus MC

Universitair Medisch Centrum Rotterdam



Stichting Kwaliteitsbewaking
Medische Laboratoriumdiagnostiek

Bloedparasieten

SKML Deelnemersdag

11 Februari 2021

Jaap van Hellemond

Kim Tassche

Namens de sectie parasitologie SKML

SKML Rondzending bloedparasieten

Microscopie bloedparasieten 2020

RZ nummer	2020.1A	2020.1B	2020.2A	2020.2B	2020.3A	2020.3B	2020.4A	2020.4B
Expert uitslag	<i>Loa loa</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i> 1.7%	<i>P. falciparum</i> 16%	<i>P. falciparum</i> 2%	<i>P. vivax</i>	Negatief (miltloos)*	<i>P. falciparum</i> 1,3% (kweek**)
Deelnemers								
Correcte uitslag	42/62	62/68	67/69	68/69	69/69	31/68 Pv 13/68 Pv/Po	63/66	33/67
Onjuiste uitslag	20/62	6/68	2/69	1/69	0/69	25/69	3/66	34/67
Microscopie correct %	67.7%	91.2%	97.1%	99%	100%	65%	95%	<50%
Telling (range)	nvt	nvt	0.4-3.0%	4-22%	1.5-3.2%	nvt	nvt	0.05-3.1%
				6 deelnemers afwijkend; (<10% of >20%)	2 uitbijters, 1% en 5%			
Overige bevindingen, al dan niet in combinatie	Pm (1x) B. malayi (2x) M. perstans (8x) W. bancrofti (9x) Geen parasieten (1x)	Pf (2x) Pkn (2x) Pm+Pf (1x) Geen parasieten (1x)	Po (1x) P. non-falc(1x)	Pf+Leishmania (1x)		Po (9x) Pm (1x) P. spp (2x) P.non-falc(2x) Pf gam (1x) Po+Pf (1x) Po+T.cruzi (1x) Pv+T. brucei (1x)	Po (2x) Pv (1x)	Pm (19x) Po (5x) Pf+Pm (4x) Pf+Po (3x) Pv (1x) Pkn (2x)

Microscopie bloedparasieten 2020								
RZ nummer	2020.1A	2020.1B	2020.2A	2020.2B	2020.3A	2020.3B	2020.4A	2020.4B
Expert uitslag	<i>Loa loa</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i> 1.7%	<i>P. falciparum</i> 16%	<i>P. falciparum</i> 2%	<i>P. vivax</i>	Negatief (miltloos)*	<i>P. falciparum</i> 1,3% (kweek**)
Deelnemers								
Correcte uitslag	42/62	62/68	67/69	68/69	69/69	31/68 Pv 13/68 Pv/Po	63/66	33/67
Onjuiste uitslag	20/62	6/68	2/69	1/69	0/69	25/69	3/66	34/67
Microscopie correct %	67.7%	91.2%	97.1%	99%	100%	65%	95%	<50%
Telling (range)	nvt	nvt	0.4-3.0%	4-22%	1.5-3.2%	nvt	nvt	0.05-3.1%
				6 deelnemers afwijkend; (<10% of >20%)	2 uitbijters, 1% en 5%			
Overige bevindingen, al dan niet in combinatie	Pm (1x) B. malayi (2x) M. perstans (8x) W. bancrofti (9x) Geen parasieten (1x)	Pf (2x) Pkn (2x) Pm+Pf (1x) Geen parasieten (1x)	Po (1x) P. non-falc(1x)	Pf+Leishmania (1x)		Po (9x) Pm (1x) P. spp (2x) P.non-falc(2x) Pf gam (1x) Po+Pf (1x) Po+T.cruzi (1x) Pv+T. brucei (1x)	Po (2x) Pv (1x)	Pm (19x) Po (5x) Pf+Pm (4x) Pf+Po (3x) Pv (1x) Pkn (2x)



<p>met schede</p> <p><i>afmeting</i> <i>ligging in dikke druppel</i> <i>kernen</i> <i>kop</i> <i>staart</i> <i>periodiciteit</i> <i>lokalisatie</i></p>	<p>1 <i>Wuchereria bancrofti</i></p> <p>230-300 × 7,5-10 μm elegante bochten</p> <p>duidelijk te onderscheiden kernloos stuk kort zonder kernen nocturn (behalve pacific) bloed</p>	<p>2 <i>Brugia malayi</i></p> <p>170-280 × 5-6 μm hoekige bochten</p> <p>dicht opeen kernloos stuk lang twee kernen in staartpunt nocturn bloed</p>	<p>3 <i>Loa loa</i></p> <p>250-300 × 6-8 μm hoekige bochten</p> <p>dicht opeen kernloos stuk kort kernen tot uiteinde diurn bloed</p>
<p>zonder schede</p> <p><i>afmeting</i> <i>staart</i></p> <p><i>periodiciteit</i> <i>lokalisatie</i></p>	<p>4 <i>Mansonella perstans</i></p> <p>150-210 × 2,5-5 μm kernen tot uiteinde, laatste kern dikker geen bloed</p>	<p>5 <i>Mansonella ozzardi</i></p> <p>175-240 × 2,5-5 μm zonder kernen geen bloed</p>	<p>6 <i>Onchocerca volvulus</i></p> <p>250-350 × 5-9 μm zonder kernen geen huid</p> <p>7 <i>Mansonella streptocerca</i></p> <p>150-240 × 2,5-3,5 μm kernen in enkele rij tot uiteinde; staart gekruld geen huid</p>

Afbeelding 10.40

Schema morfologische kenmerken microfilarieën.



Medische Parasitologie (5e druk)
Ned. Ver. Parasitologie
Syntax Media 2017

met schede <i>afmeting</i> <i>ligging in dikke druppel</i> <i>kernen</i> <i>kop</i> <i>staart</i> <i>periodiciteit</i> <i>lokalisatie</i>	1 <i>Wuchereria bancrofti</i> 230-300 × 7,5-10 μm elegante bochten duidelijk te onderscheiden kernloos stuk kort zonder kernen nocturn (behalve pacific) bloed	2 <i>Brugia malayi</i> 170-280 × 5-6 μm hoekige bochten dicht opeen kernloos stuk lang twee kernen in staartpunt nocturn bloed	3 <i>Loa loa</i> 250-300 × 6-8 μm hoekige bochten dicht opeen kernloos stuk kort kernen tot uiteinde diurn bloed
zonder schede <i>afmeting</i> <i>staart</i> <i>periodiciteit</i> <i>lokalisatie</i>	4 <i>Mansonella perstans</i> 150-210 × 2,5-5 μm kernen tot uiteinde, laatste kern dikker geen bloed	5 <i>Mansonella ozzardi</i> 175-240 × 2,5-5 μm zonder kernen geen bloed	6 <i>Onchocerca volvulus</i> 250-350 × 5-9 μm zonder kernen geen huid 7 <i>Mansonella streptocerca</i> 150-240 × 2,5-3,5 μm kernen in enkele rij tot uiteinde; staart gekruld geen huid

Afbeelding 10.40

Schema morfologische kenmerken microfilarieën.

VRAAG t.a.v.
zichtbare kenmerken:

Wel/niet:

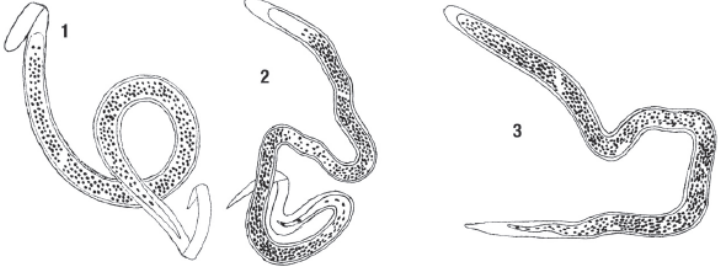
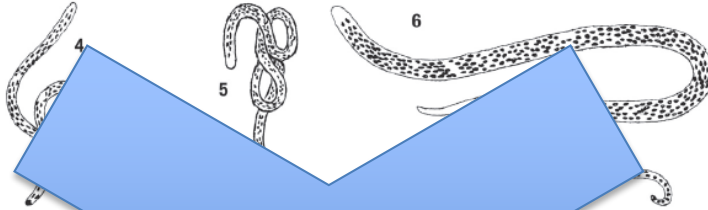
- Aanwezigheid schede
- Afmeting microfilaria
- Dichtheid van kernen
- Locatie kernen in kop
- Locatie kernen in staart



Medische Parasitologie (5e druk)
Ned. Ver. Parasitologie
Syntax Media 2017

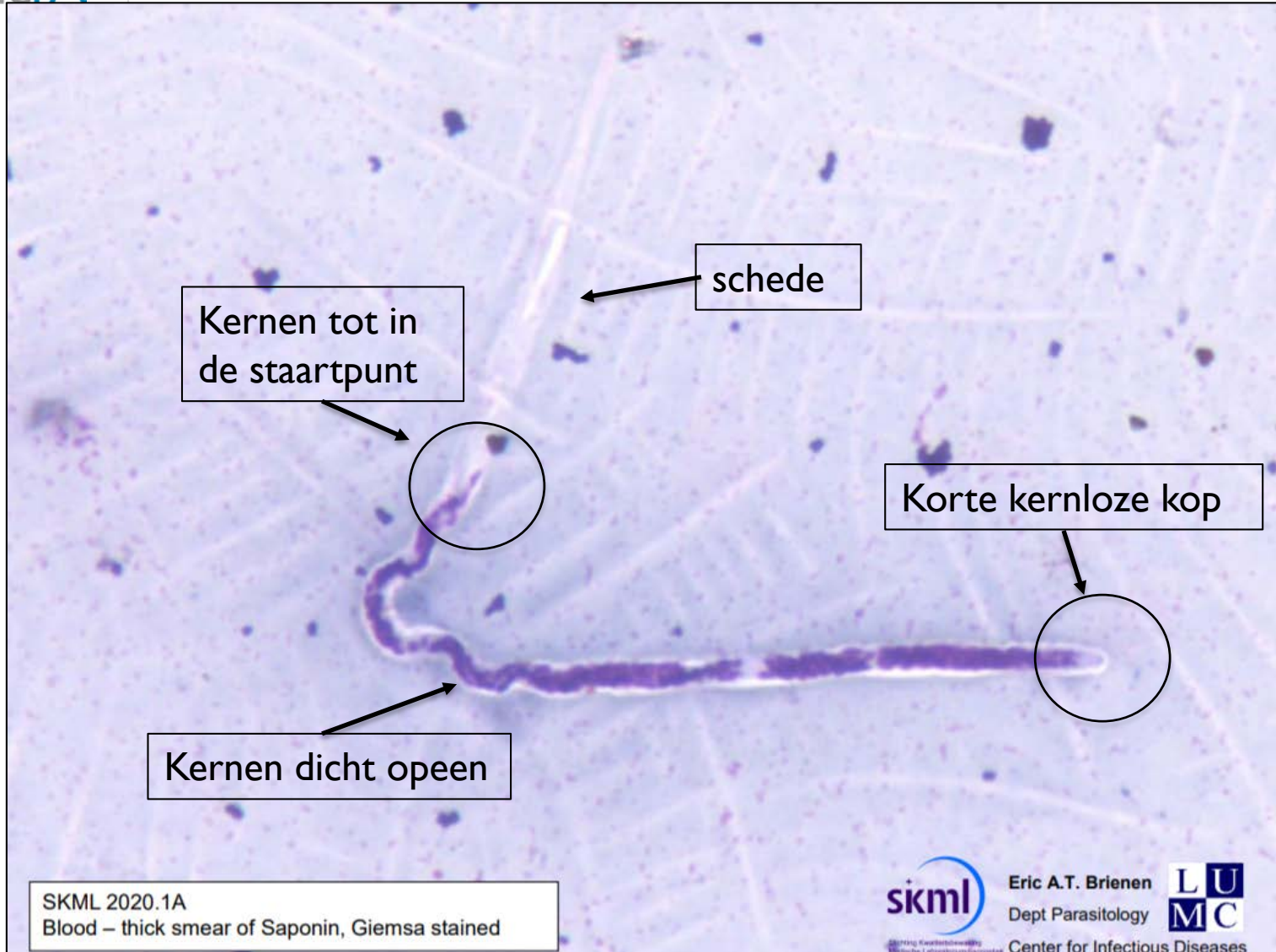


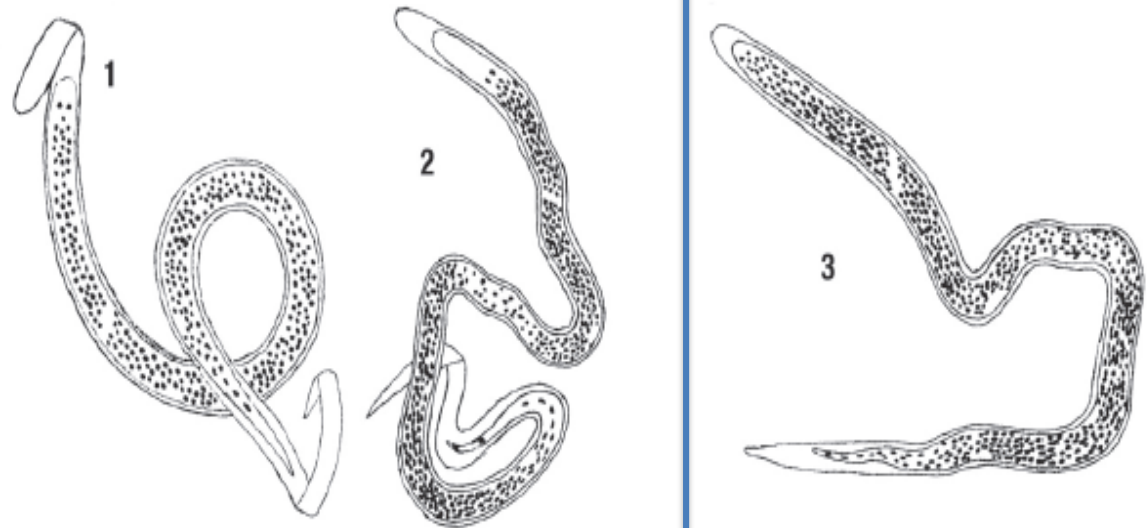
SKML 2020.1A
Blood – thick smear of Saponin, Giemsa stained

			
<p>met schede</p> <p>afmeting ligging in dikke druppel kernen kop staart periodiciteit lokalisatie</p>	<p>1 <i>Wuchereria bancrofti</i></p> <p>230-300 × 7,5-10 μm elegante bochten</p> <p>duidelijk te onderscheiden kernloos stuk kort zonder kernen nocturn (behalve pacific) bloed</p>	<p>2 <i>Brugia malayi</i></p> <p>170-280 × 5-6 μm hoekige bochten</p> <p>dicht opeen kernloos stuk lang twee kernen in staartpunt nocturn bloed</p>	<p>3 <i>Loa loa</i></p> <p>250-300 × 6-8 μm hoekige bochten</p> <p>dicht opeen kernloos stuk kort kernen tot uiteinde diurn bloed</p>
			
<p>zonder schede</p> <p>afmeting staart periodiciteit lokalisatie</p>	<p>4 <i>Mansonella perstans</i></p> <p>150-200 × 5-6 μm kernen in enkele rij tot uiteinde; staart gekruld geen bloed</p>	<p>5 <i>Mansonella streptocerca</i></p> <p>150-200 × 5-6 μm kernen in enkele rij tot uiteinde; staart gekruld geen bloed</p>	<p>6 <i>Onchocerca volvulus</i></p> <p>250-300 × 6-8 μm kernen tot uiteinde diurn bloed</p> <p>7 <i>Mansonella streptocerca</i></p> <p>150-240 × 2,5-3,5 μm kernen in enkele rij tot uiteinde; staart gekruld geen huid</p>

Afbeelding 10.40

Schema morfologische kenmerken microfilarieën.

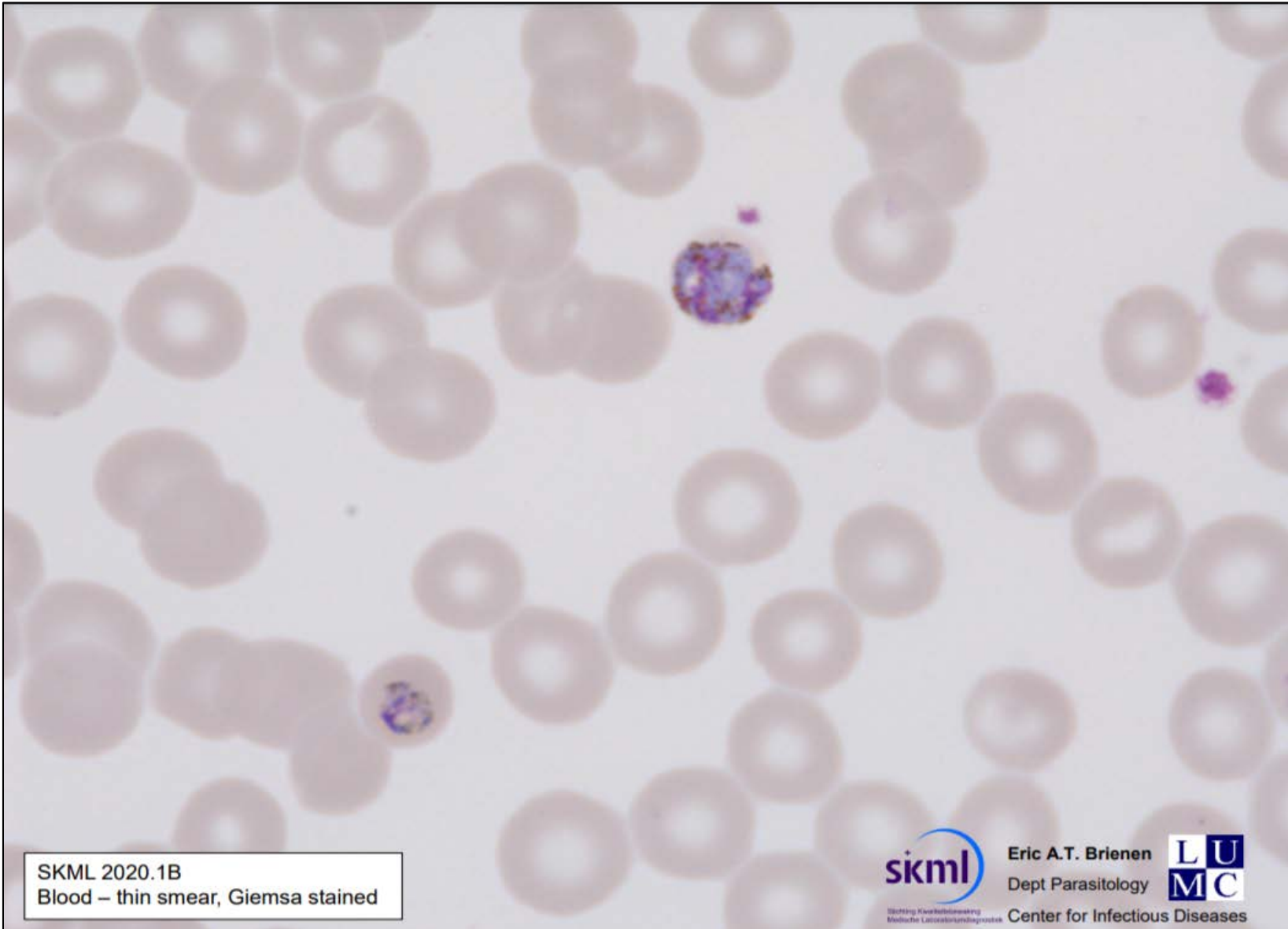




met schede	1 <i>Wuchereria bancrofti</i>	2 <i>Brugia malayi</i>	3 <i>Loa loa</i>
afmeting	230-300 × 7,5-10 μm	170-280 × 5-6 μm	250-300 × 6-8 μm
ligging in dikke druppel	elegante bochten	hoekige bochten	hoekige bochten
kernen	—	—	dicht opeen
kop	—	—	kernloos stuk kort
staart	—	—	kernen tot uiteinde
periodiciteit	—	—	diurn
lokalisatie	bloed	bloed	bloed

Afbeelding 10.40

Schema morfologische kenmerken microfilarïen.



SKML 2020.1B
Blood – thin smear, Giemsa stained

VRAAG t.a.v.

zichtbare kenmerk dat
meest onderscheidend is t.o.v.
andere *Plasmodium* spp

Opties:

- Bandvormige trofozoïet?
- Compact cytoplasma?
- Lage parasitaemie?
- Pigment (veel, vroeg, verspreid, fijnkorrelig)?
- RBC geen afwijkende vorm?

SKML 2020.1B
Blood – thin smear, Giemsa stained

VRAAG t.a.v.

zichtbare kenmerk dat
meest onderscheidend is t.o.v.
andere *Plasmodium* spp

Opties:

- Bandvormige trofozoïet (niet zichtbaar op foto)
- Compact cytoplasma (ook bij andere species)
- Lage parasitaemie (niet zichtbaar op foto)
- **Pigment (veel, vroeg, verspreid, fijnkorrelig)**
- RBC geen afwijkende vorm (ook bij andere species)

SKML 2020.1B
Blood – thin smear, Giemsa stained

VRAAG t.a.v.

zichtbare kenmerk dat
meest onderscheidend is t.o.v.
andere *Plasmodium* spp

Opties:

- Bandvormige trofozoïet (niet zichtbaar op foto)
- Compact cytoplasma (ook bij andere species)
- Lage parasitaemie (niet zichtbaar op foto)
- **Pigment (veel, vroeg, verspreid, fijncorrelig)**
- RBC geen afwijkende vorm (ook bij andere species)

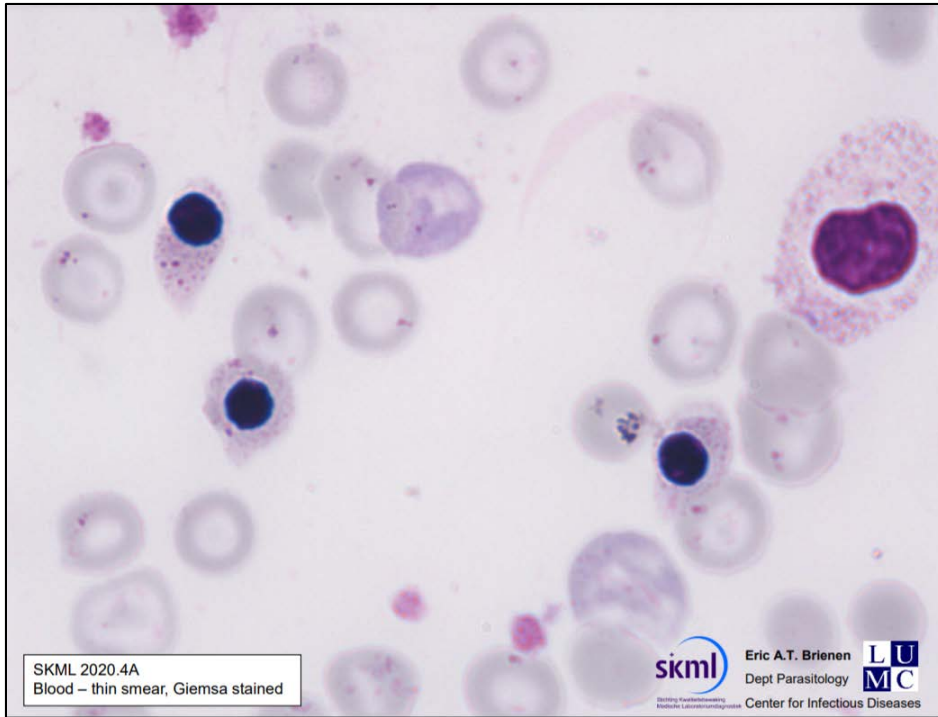
Gametocyt;

- rond, grote kern, veel cytoplasma
- RBC bijna geheel gevuld
- over gehele cytoplasma verspreid liggende brokjes pigment

Trofozoïet

- zeer compact
- Fijncorrelig pigment

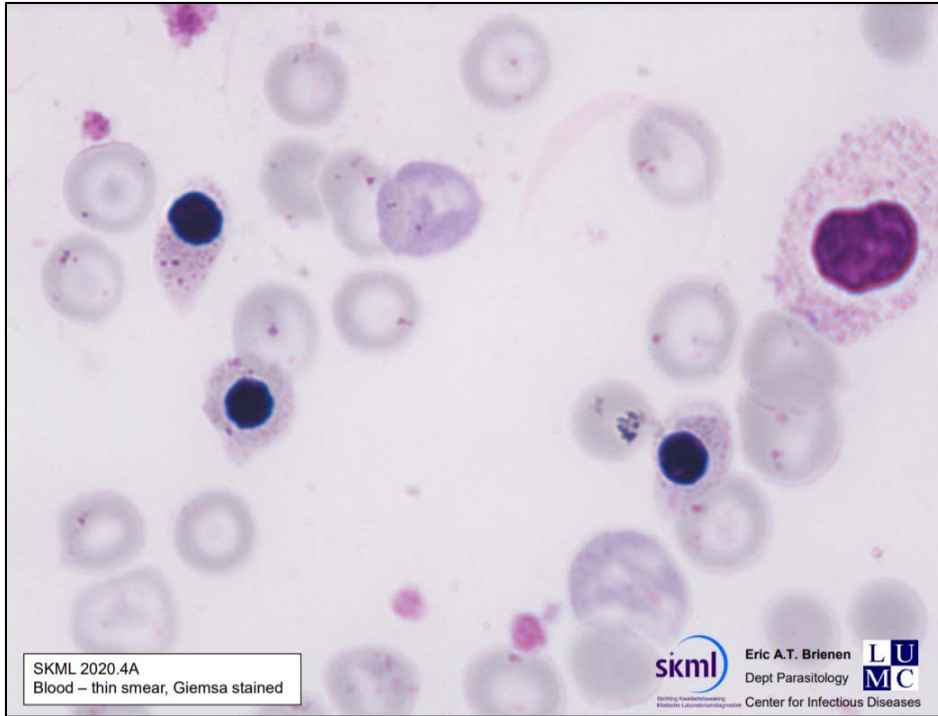
SKML 2020.1B
Blood – thin smear, Giemsa stained



SKML 2020.4A
Blood – thin smear, Giemsa stained

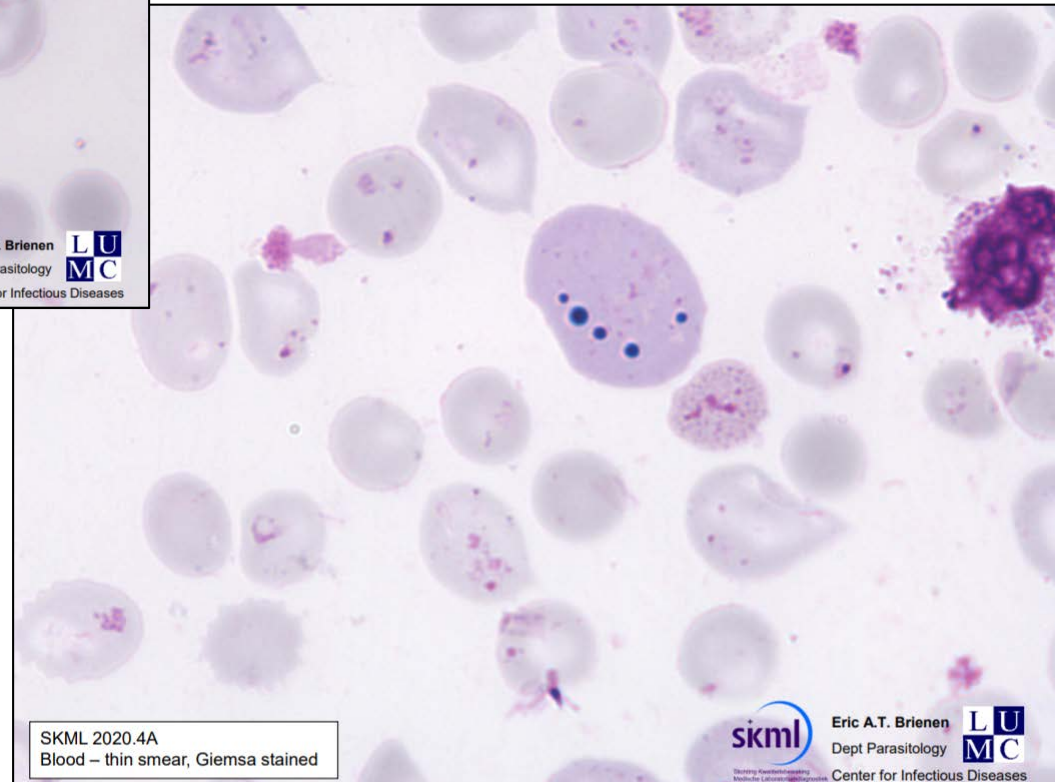
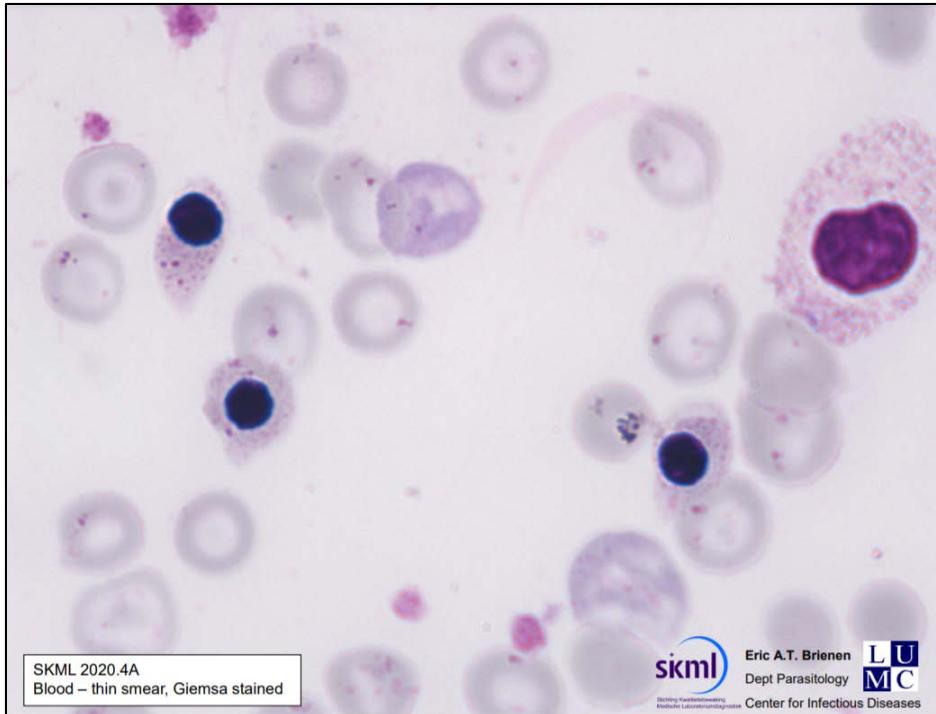


SKML 2020.4A
Blood – thin smear, Giemsa stained

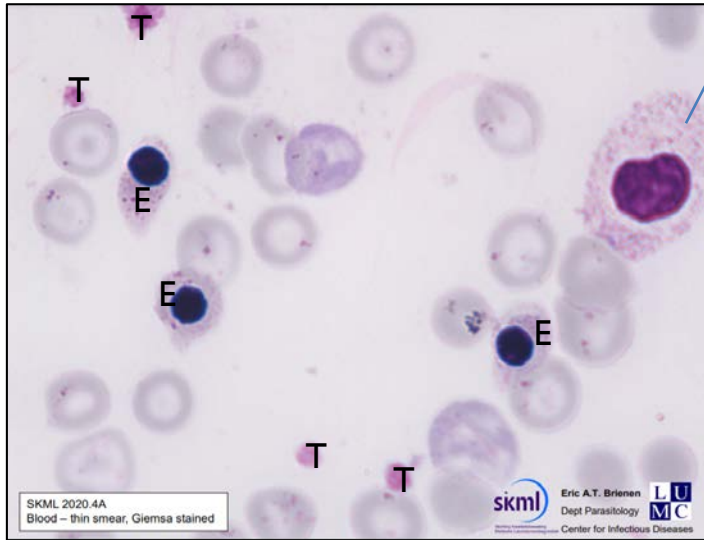


VRAAG

Hoe verklaar je de diversiteit aan afwijkende erythrocyten op afbeelding 4A?



Leukocyt (slecht gesegmenteerde neutrofiële granulocyt)

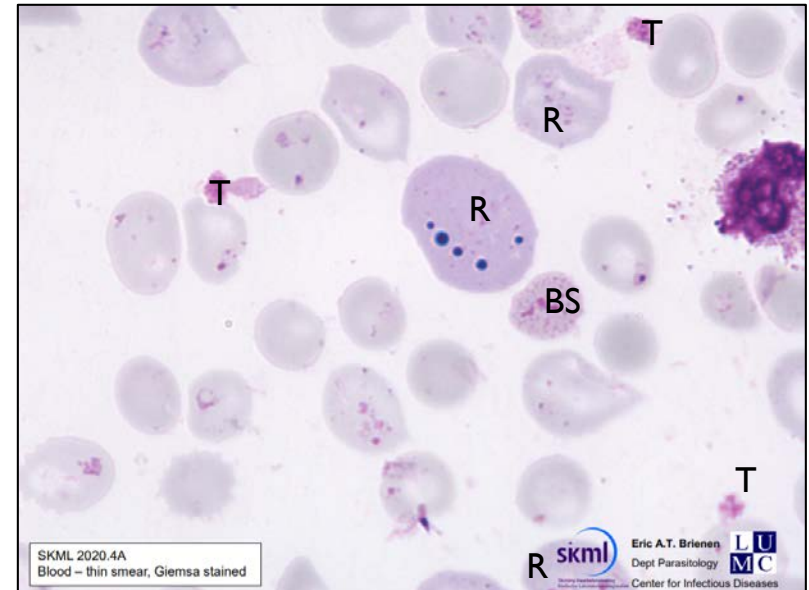
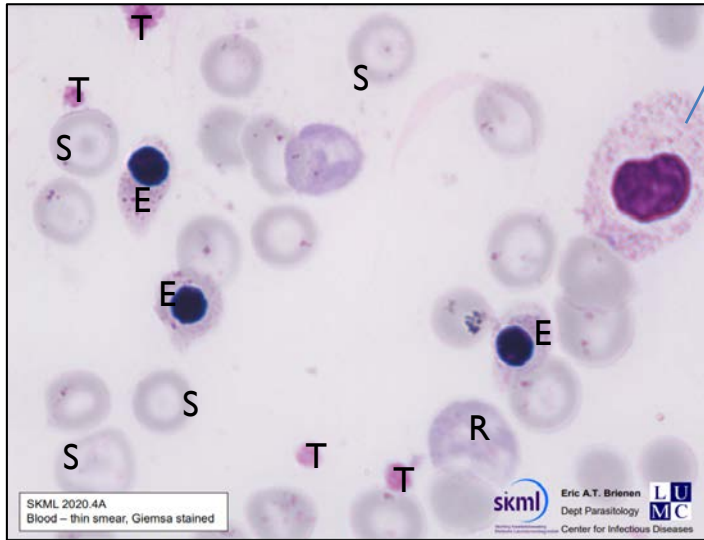


Zichtbaar aanwezige afwijkingen in erythrocyten:

- Onrijpe, kernhoudende RBC (E) = normoblasten = erythroblasten
- RBC variabele grootte (= anisocytose) vooral in rechter dia goed zichtbaar

T = trombocyten aggregaat

Leukocyt (slecht gesegmenteerde neutrofiële granulocyt)

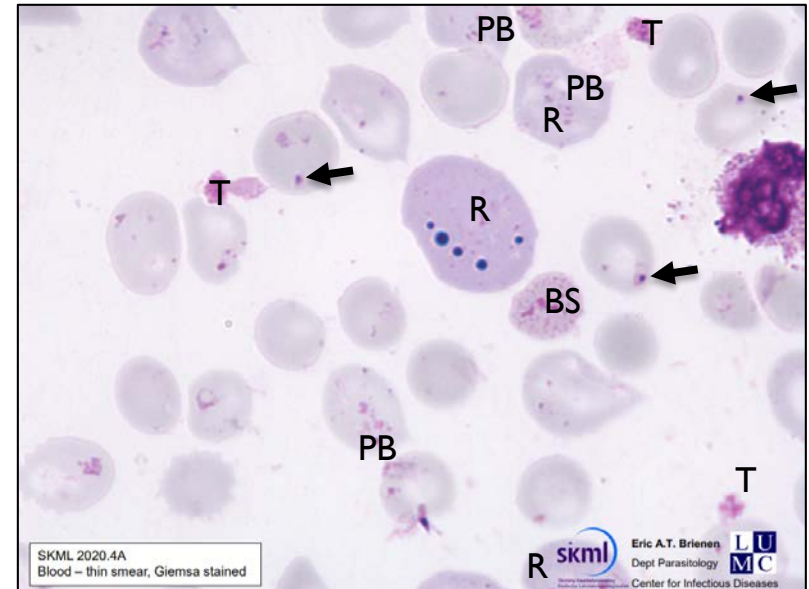
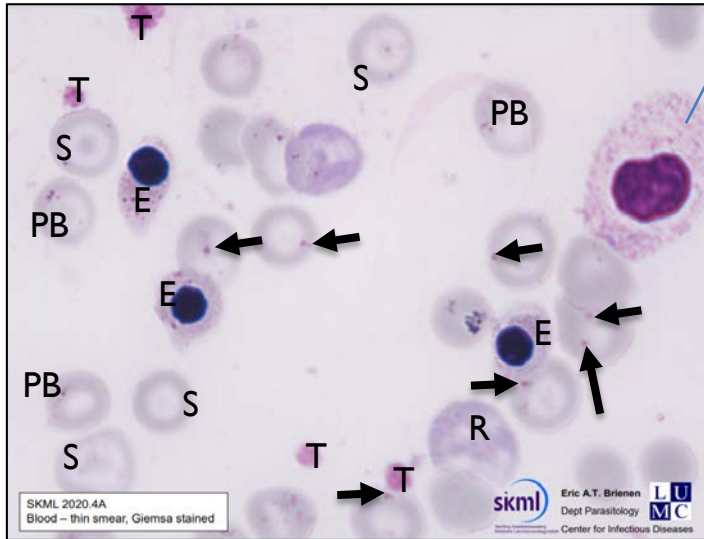


Zichtbaar aanwezige afwijkingen in erythrocyten:

- Onrijpe, kernhoudende RBC (E) = normoblasten = erythroblasten
- RBC variabele grootte (= anisocytose) vooral in rechter dia goed zichtbaar
- RBC afwijkende vorm, met name ondervulde erythrocyten (te ruim in hun jasje); ‘targetcells’ (S) = schietschijfcellen
- Basofiele stippeling (BS) = restanten RNA, mitochondria, etc.
- Reticulocyten (R) = immature erythrocyten

T = trombocyten aggregaat

Leukocyt (slecht gesegmenteerde neutrofiële granulocyt)



Zichtbaar aanwezige afwijkingen in erythrocyten:

- Onrijpe, kernhoudende RBC (E) = normoblasten = erythroblasten
- RBC variabele grootte (= anisocytose) vooral in rechter dia goed zichtbaar
- RBC afwijkende vorm, met name ondervulde erythrocyten (te ruim in hun jasje); 'targetcells' (S) = schietschijfcellen
- Basofiele stippeling (BS) = restanten RNA, mitochondria, etc.
- Reticulocyten (R) = immature erythrocyten
- Howell Jolly bodies (alle wat dikkere rode spikkels bij pijlen) = restanten DNA
- Pappenheimer bodies (PB, groepjes grijsblauwe spikkels) = ferritine aggregaten

T = trombocyten aggregraat

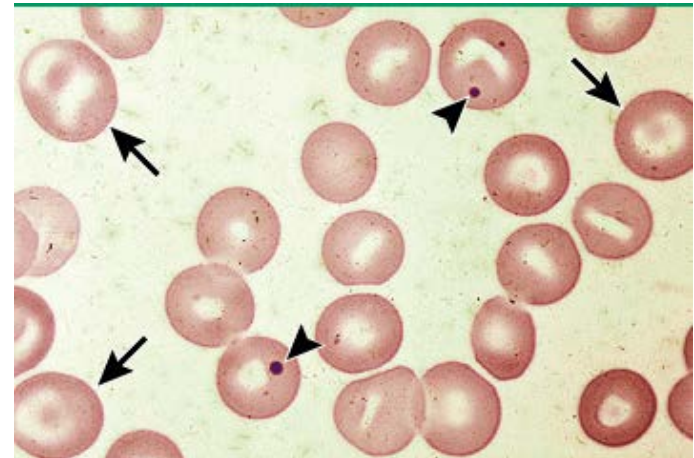
Erythrocyt afwijkingen bij disfunctionele milt.

Howell-Jolly bodies (pijlpunten): overblijfselen van RBC-kernen die normaal worden verwijderd door de milt.

-> passend bij verstoorde milt functie

“**Target cellen**” (pijlen): verhoogde verhouding rode celoppervlak tot volume, welke aanleiding geeft tot de afwijkende vorm.

-> passend bij sikkel-cel aandoening



- **basofiele stippeling** passend bij thalassemie
- **reticulocyten** passend bij plotselinge aanmaak van veel erythrocyten
- **erytroblasten** passend bij beenmergverdringing
- **Pappenheim bodies** passend bij een sideroblastaire anemie of loodvergiftiging.

- Hoe verklaar je de diversiteit in dit beeld?



MUSE

- 3 -

22 december

Bloed/Darm parasieten 2020.4

Monster : **A** Giemsa gekleurde uitstrijk en dikke druppelpreparaat.

Patiënt : Een 32-jarige Liberiaanse man meldt zich bij de spoedeisende hulp van uw ziekenhuis met malaise klachten en koorts. De man is 4 dagen geleden in Nederland aangekomen. Uit de klinische anamnese blijkt dat zijn milt 8 jaar geleden is verwijderd na een auto-ongeluk. De man heeft geen malaria profylaxe gebruikt en heeft al meerdere dagen koorts. De behandelend arts vraagt onderzoek op malaria aan,

Vraag : Microscopisch onderzoek op bloedparasieten.

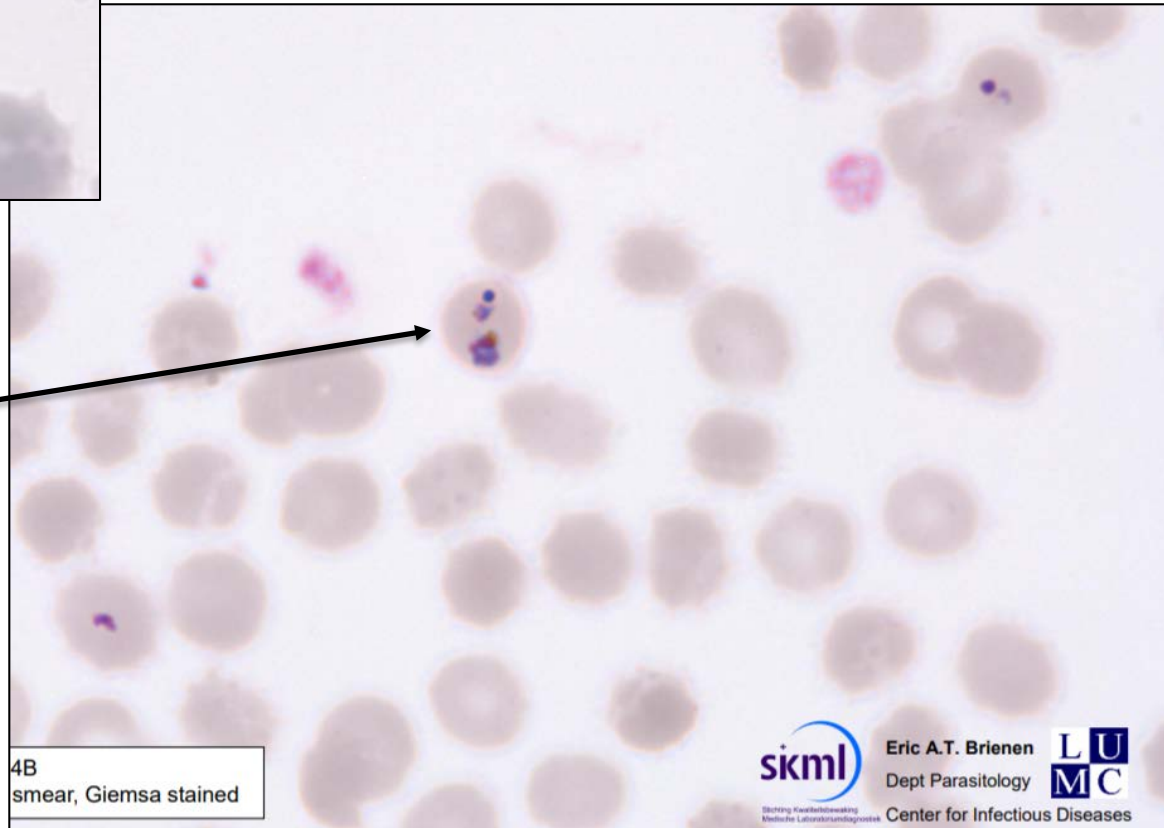
Casus beschrijving: bloedmateriaal afkomstig van een patiënt zonder milt

- Howell-Jolly bodies
- Daarnaast veel andere RBC afwijkingen aanwezig (die afwijkende RBC worden bij asplenie niet snel uit de circulatie verwijderd en versterkt hun aanwezigheid).





- RBC geen afwijkende vorm
- Schizont;
 - ca 25 merozoïeten
 - groot brok, donker pigment



- RBC geen afwijkende vorm
- fijne trofozoïeten
- <1/3 van de RBC

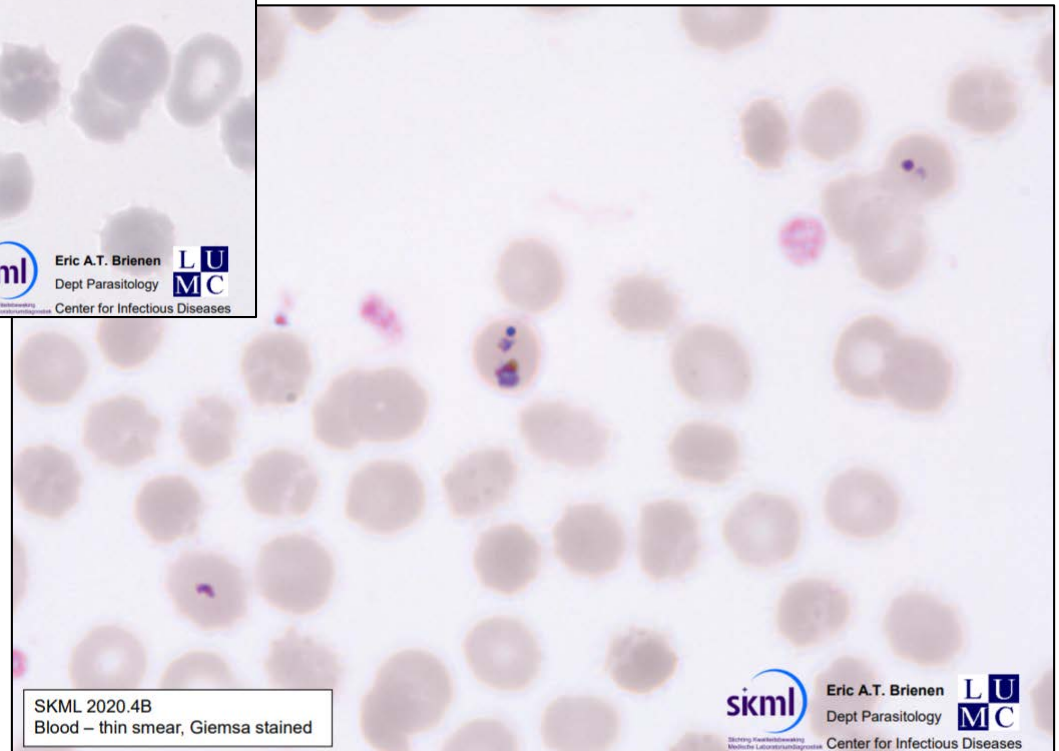
4B
smear, Giemsa stained




VRAAG

Hoe verklaar je de diversiteit aan parasitaire stadia in de erythrocyten op de afbeelding 4B?

- Veel schizonten
- Oude trofozoïeten met pigment



- Hoe verklaar je de diversiteit in dit beeld?



MUSE

- 4 -

Bloed/Darm parasieten 2020.4


22 december 2020

Monster :	B Giemsa gekleurde uitstrijk en dikke druppelpreparaat.
Patiënt :	Een 24-jarige vrouw uit Togo is 5 dagen geleden in Nederland aangekomen. De vrouw meldt zich bij de spoedeisende hulp van uw ziekenhuis met malaise klachten en koorts. De vrouw meldt dat zij een <u>niet functionele milt</u> heeft en dat ze geen malaria profylaxe heeft gebruikt. De behandelend arts vraagt onderzoek op malaria aan.
Vraag :	Microscopisch onderzoek op bloedparasieten.

Niet functionele milt:

- niet alleen de jonge trofozoïeten van *P. falciparum* aanwezig,
- ook oudere stadia (oude trofozoïeten & schizonten) die door de milt verwijderd worden

- Hoe verklaar je de diversiteit in dit beeld?



MUSE

- 4 -

22 december 2020

Bloed/Darm parasieten 2020.4

Monster :	B Giemsa gekleurde uitstrijk en dikke druppelpreparaat.
Patiënt :	Een 24-jarige vrouw uit Togo is 5 dagen geleden in Nederland aangekomen. De vrouw meldt zich bij de spoedeisende hulp van uw ziekenhuis met malaise klachten en koorts. De vrouw meldt dat zij een <u>niet functionele milt</u> heeft en dat ze geen malaria profylaxe heeft gebruikt. De behandelend arts vraagt onderzoek op malaria aan.
Vraag :	Microscopisch onderzoek op bloedparasieten.

Niet functionele milt:

- niet alleen de jonge trofozoïeten van *P. falciparum* aanwezig,
- ook oudere stadia (oude trofozoïeten & schizonten) die door de milt verwijderd worden

Werkelijkheid:

in vitro gekweekt *P. falciparum* (preparaat educatief & goed bruikbaar voor training)

RESEARCH

Open Access

The prognostic value of schizontaemia in imported *Plasmodium falciparum* malaria

Marlies E van Wolfswinkel¹, Mariana de Mendonça Melo^{1,2}, Klaske Vliegenthart-Jongbloed¹, Rob Koelewijn³, Jaap J van Hellemond^{3,4} and Perry J van Genderen^{1,2*}

Abstract

Background: In *Plasmodium falciparum* infection, peripheral parasite counts do not always correlate well with the sequestered parasite burden. As erythrocytes parasitized with mature trophozoites and schizonts have a high tendency to adhere to the microvascular endothelium, they are often absent in peripheral blood samples. The appearance of schizonts in peripheral blood smears is thought to be a marker of high sequestered parasite burden and severe disease. In the present study, the value of schizontaemia as an early marker for severe disease in non-immune individuals with imported malaria was evaluated.

Methods: All patients in the Rotterdam Malaria Cohort diagnosed with *P. falciparum* malaria between 1 January 1999 and 1 January 2012 were included. Thick and thin blood films were examined for the presence of schizontaemia. The occurrence of WHO defined severe malaria was the primary endpoint. The diagnostic performance of schizontaemia was compared with previously evaluated biomarkers C-reactive protein and lactate.

Results: Schizonts were present on admission in 49 of 401 (12.2%) patients. Patients with schizontaemia were more likely to present with severe malaria, a more complicated course and had longer duration of admission in hospital. Schizontaemia had a specificity of 0.95, a sensitivity of 0.53, a negative predictive value of 0.92 and a positive predictive value of 0.67 for severe malaria. The presence of schizonts was an independent predictor for severe malaria.

Conclusion: Absence of schizonts was found to be a specific marker for exclusion of severe malaria. Presence of schizonts on admission was associated with a high positive predictive value for severe malaria. This may be of help to identify patients who are at risk of a more severe course than would be expected when considering peripheral parasitaemia alone.

Keywords: Schizont, Prognosis, Malaria, Falciparum, Import, Severe



samen tegen infecties
www.labmicta.nl

Met dank aan: Welmoed Silvis, Rob Koelewijn, Sjef v.d. Leur, Henk Russcher



SKML 2020.2A
Blood – thin smear, Giemsa stained

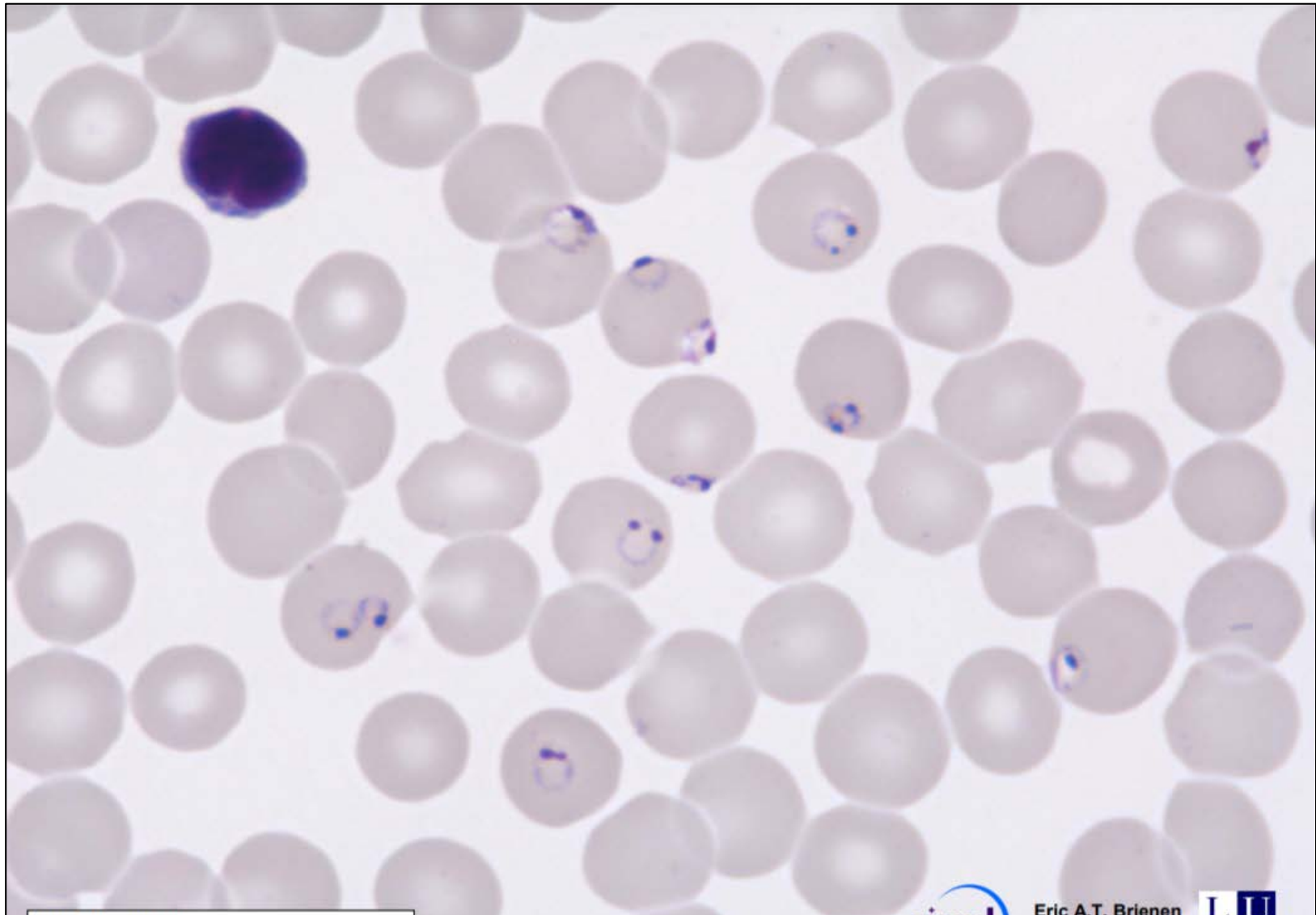
Algemene kenmerken:

- RBC geen afwijkende vorm
- geen Schüffnerse stippeling
- Veelal alleen kleine, tere ringen
- Vlekken van Maurer

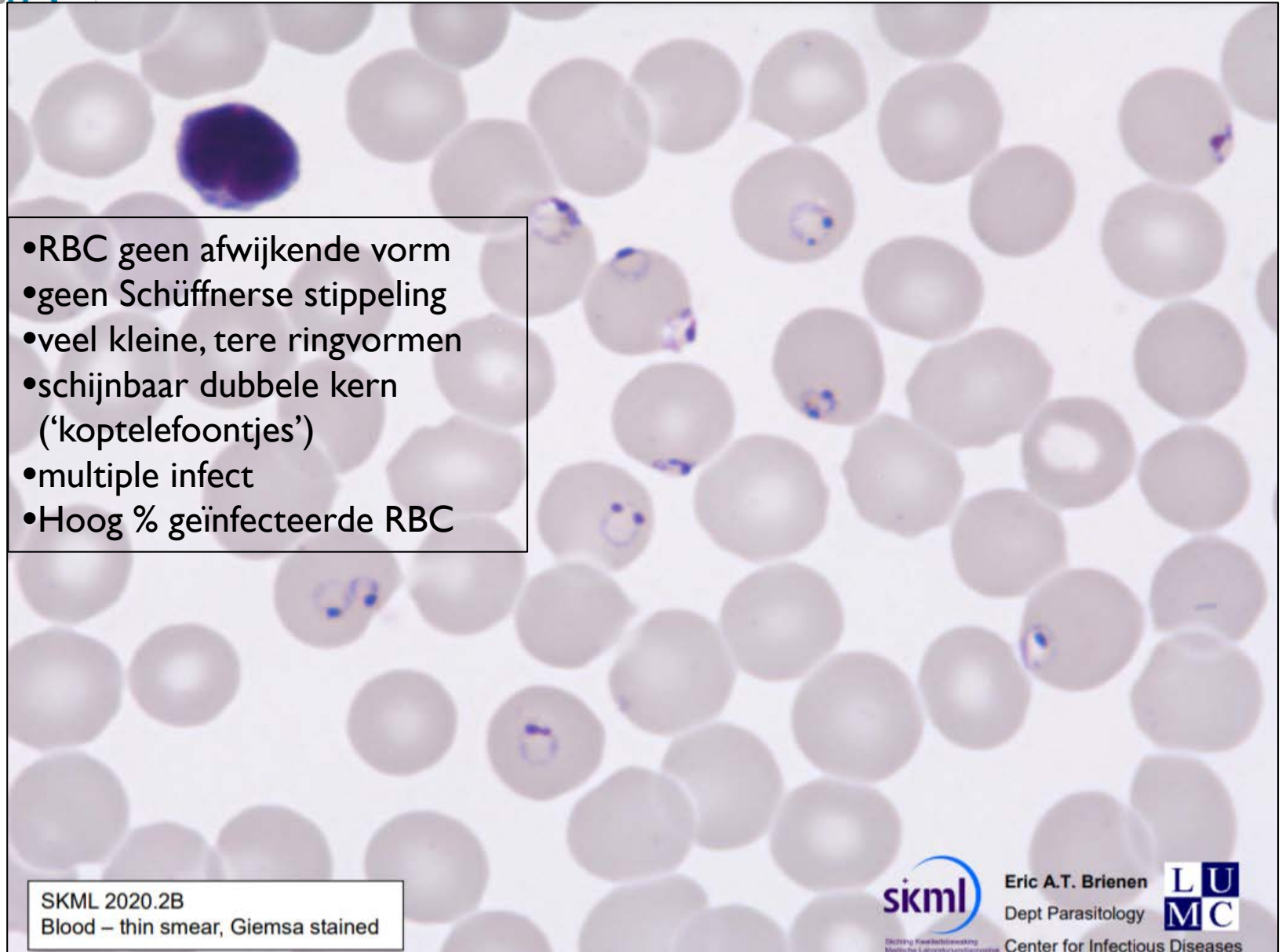
Vlekken van Maurer

- telbaar
- grove, bleek grijs-paars gekleurde onregelmatige structuren

SKML 2020.2A
Blood – thin smear, Giemsa stained

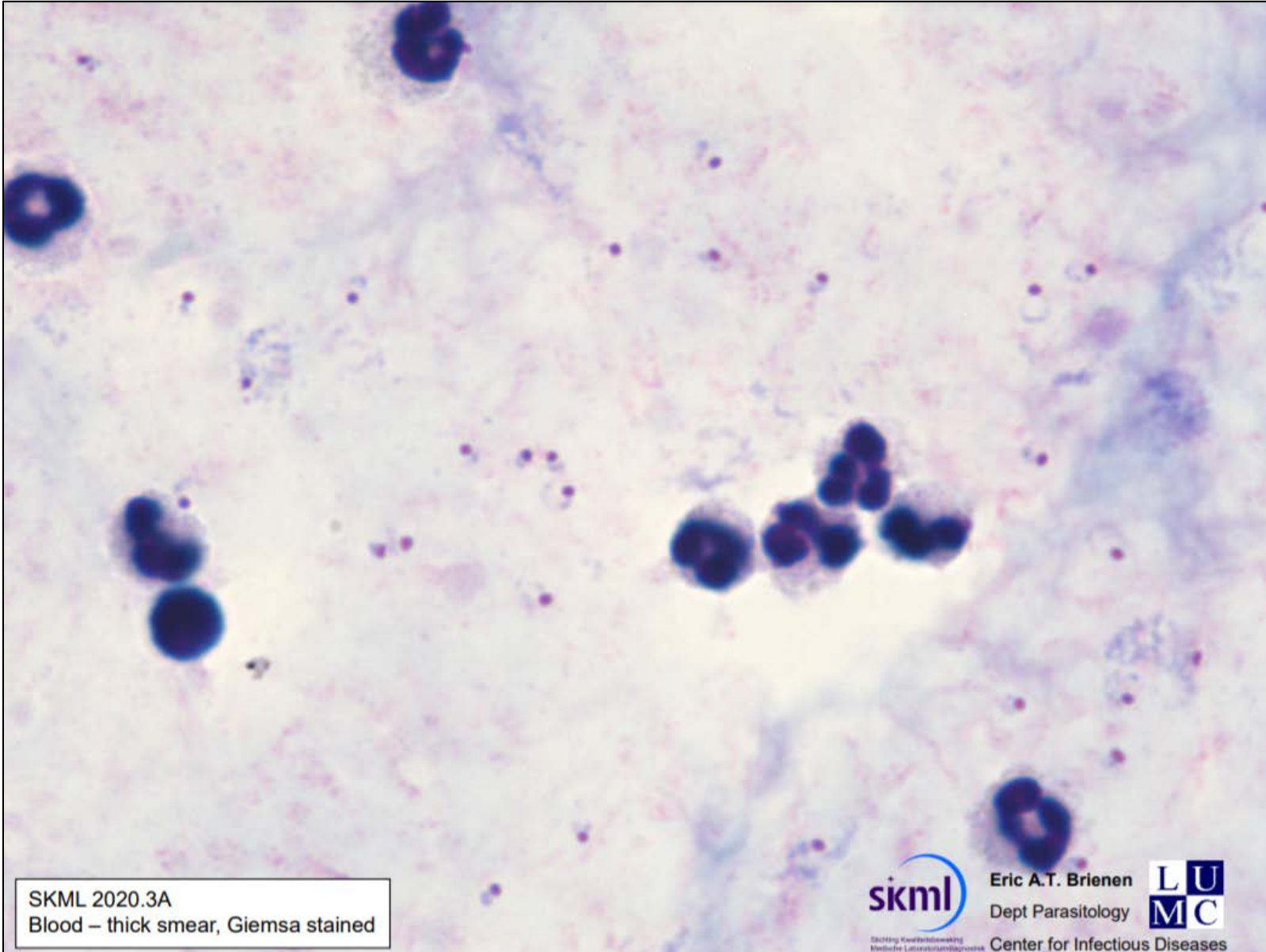


SKML 2020.2B
Blood – thin smear, Giemsa stained



- RBC geen afwijkende vorm
- geen Schüffnerse stippeling
- veel kleine, tere ringvormen
- schijnbaar dubbele kern ('koptelefoontjes')
- multiple infect
- Hoog % geïnfecteerde RBC

SKML 2020.2B
Blood – thin smear, Giemsa stained



SKML 2020.3A
Blood – thick smear, Giemsa stained

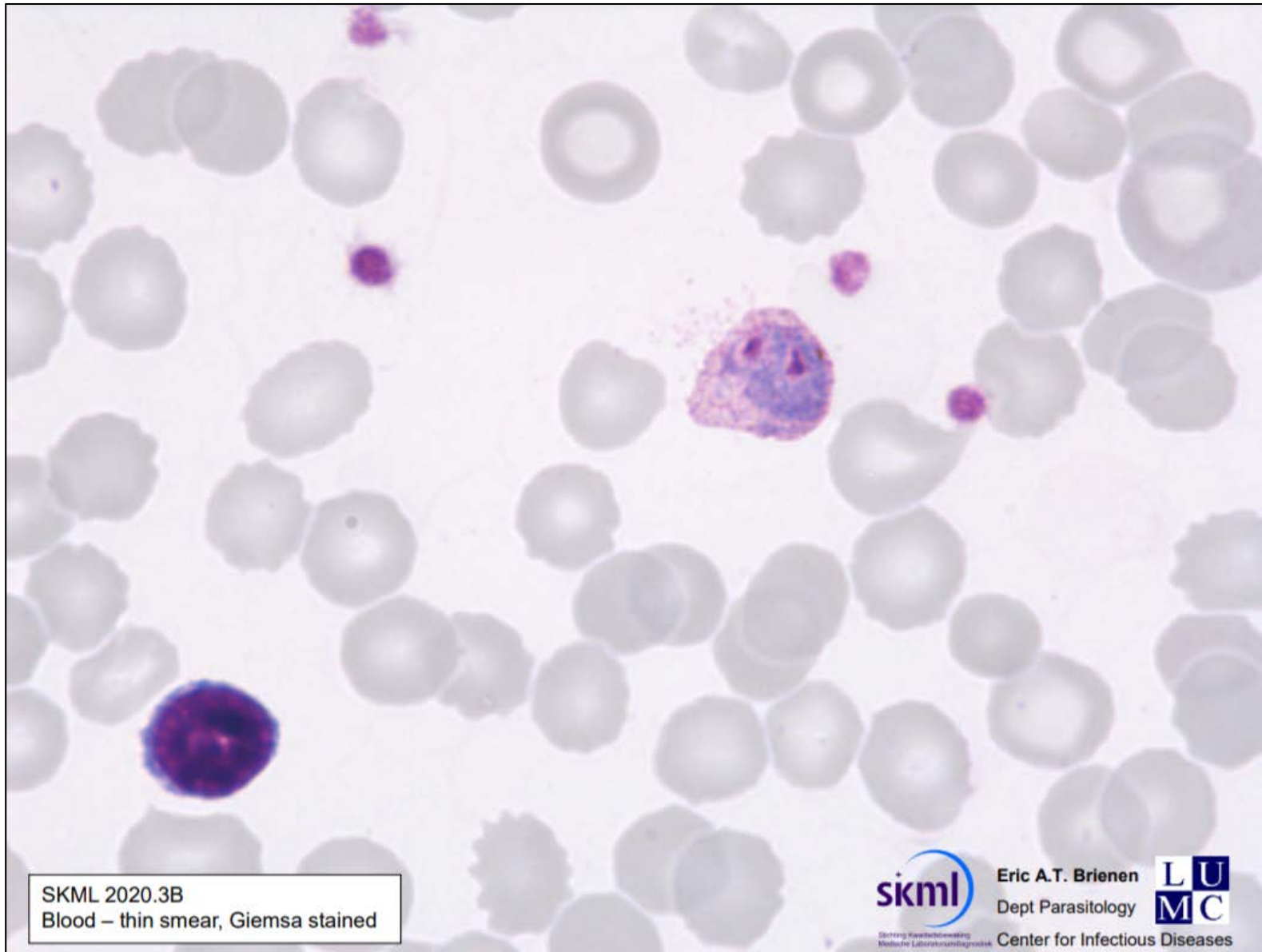
2020.3A *P. falciparum* (2%)

- kleine, tere ringen ('vlaggetjes/uitroeptekens')
- kleine kern

uitroepteken/vlaggetje

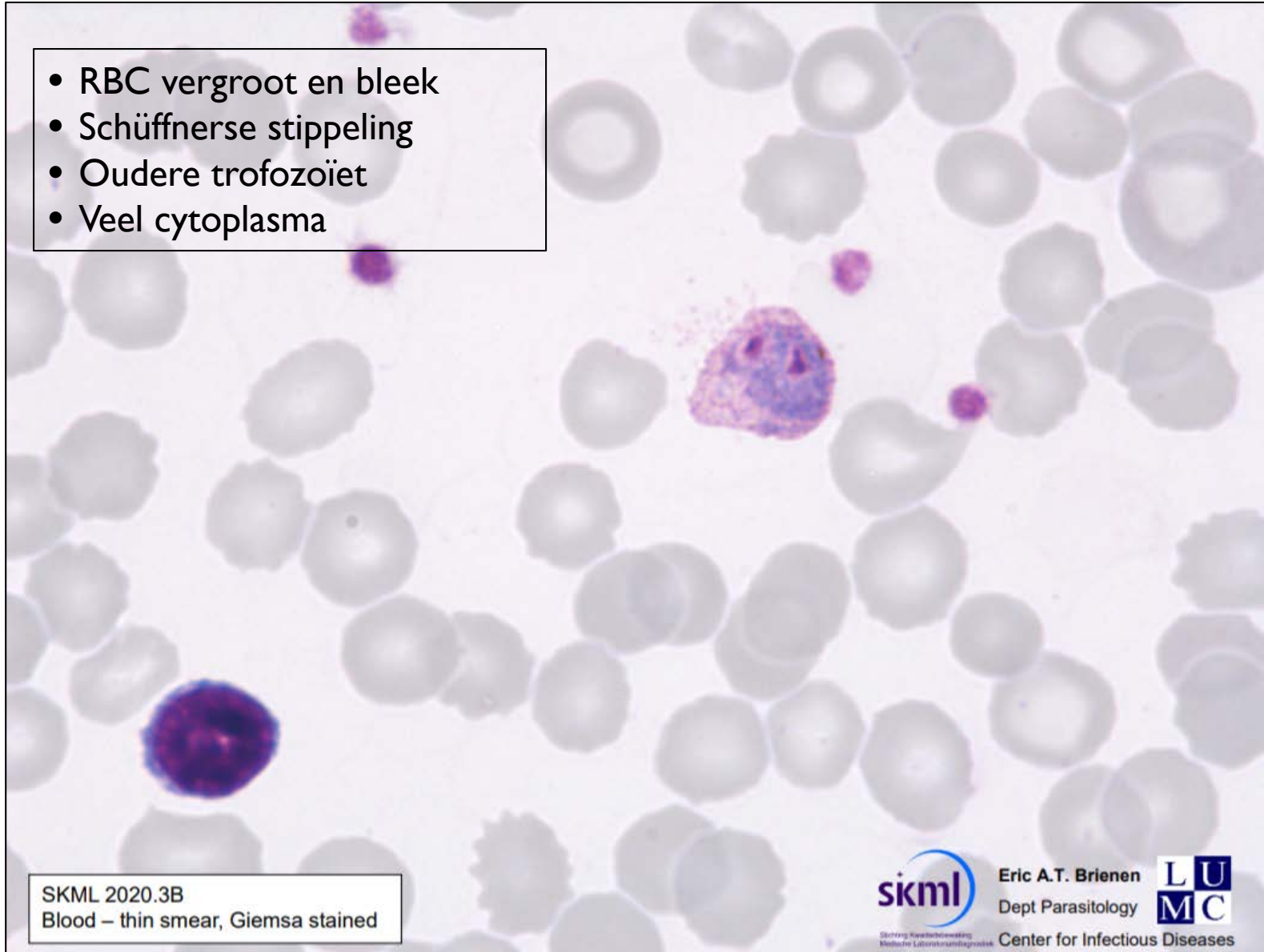
tere ringen

SKML 2020.3A
Blood – thick smear, Giemsa stained



SKML 2020.3B
Blood – thin smear, Giemsa stained

- RBC vergroot en bleek
- Schüffnerse stippeling
- Oudere trofozoïet
- Veel cytoplasma



SKML 2020.3B
Blood – thin smear, Giemsa stained