

BLOEDONDERZOEK OP PARASIETEN OVERZICHT 2016

Truus Derks

SKML

Amsterdam, 23 maart 2017

ONDERWERPEN

- Resultaten rondzending 2016
- Onderscheid *P.vivax* – *P.ovale*
- *P.falciparum*: Maurer's dots, schizonten en pigment in WBC's
- Vóórkomen en morfologie *P.knowlesi*

Resultaten bloedonderzoek op parasieten overzicht 2016:

| Nummer rondzending | Miroscopie | Parasitemie | Microscopie correct | Telling deelnemers |
|--------------------|---|-------------|---------------------|--------------------|
| 2016.1 A | <i>P.vivax</i> | n.v.t. | 56/78 (72%) | n.v.t. |
| 2016.1 B | <i>P.ovale</i> | n.v.t. | 68/78 (87%) | n.v.t. |
| | | | | |
| 2016.2 A | <i>P.falciparum</i> | 0,08% | 65/71 (92%) | 0,01- 0,15%. |
| 2016.2 B | <i>P.falciparum</i> + gametocyten + pigment in WBC's | 0,5% | 69/72 (96%) | 0,4 - 1%. |
| | | | | |
| 2016.3 A | <i>P.falciparum</i> (jonge schizonten + pigment in WBC's + Maurer's dots) | 8,5% | 76/77 (99%) | 6 - 11% |
| 2016.3 B | <i>P.knowlesi</i> (educatief) | 4,2% | 60/77 (78%) | 3,2 - 8,7% |
| | | | | |
| 2016.4 A | <i>P.falciparum</i> | 7,5% | 76/78 (97%) | 4,3 -17% |
| 2016.4 B | <i>Géén malariaparasieten</i> (+ Howell-Jolly bodies) | n.v.t. | 76/78 (97%) | n.v.t. |

Bloedonderzoek op parasieten overzicht 2016:

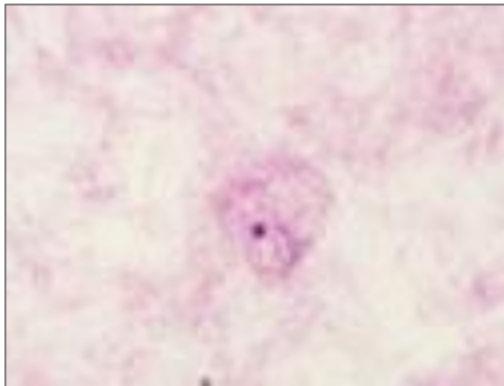
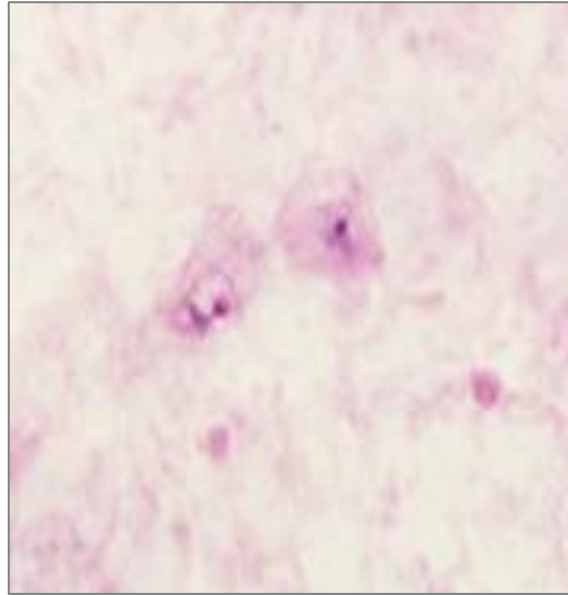
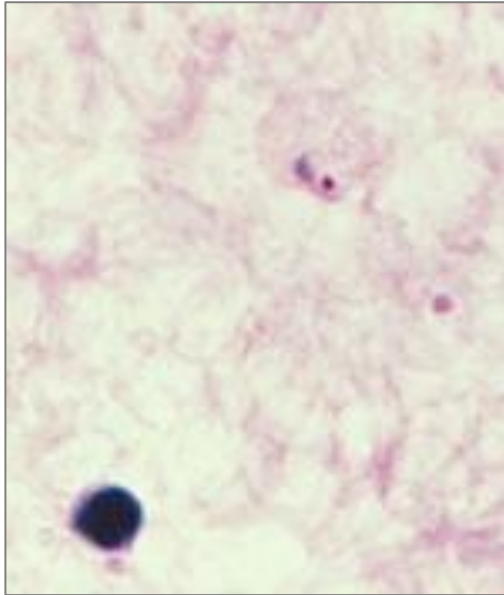
| Nummer rondzending | Miroscopie | Parasitemie | Microscopie correct | Telling deelnemers |
|--------------------|--|-------------|---------------------|--------------------|
| 2016.1 A | <i>P.vivax</i> | n.v.t. | 56/78 (72%) | n.v.t. |
| 2016.1 B | <i>P.ovale</i> | n.v.t. | 68/78 (87%) | n.v.t. |
| | | | | |
| 2016.2 A | <i>P.falciparum</i> | 0,08% | 65/71 (92%) | 0.01 – 0.15%. |
| 2016.2 B | <i>P.falciparum</i> + gametocyten + pigment in WBC's | 0,5% | 69/72 (96%) | 0,4 tot 1%. |
| | | | | |
| 2016.3 A | <i>P.falciparum</i> (jonge schizonten + pigment in WBC's + Maurer's dots) | 8,5% | 76/77 (99%) | 6 - 11% |
| 2016.3 B | <i>P.knowlesi</i> | 4,2% | 60/77 (78%) | 3,2 - 8,7% |
| | | | | |
| 2016.4 A | <i>P.falciparum</i> | 7,5% | 76/78 (97%) | 4,3 -17% |
| 2016.4 B | <i>Géén malariaparasieten</i> (allemaal "leuk") | n.v.t. | 76/78 (97%) | n.v.t. |

2016-1 A: *P. vivax*

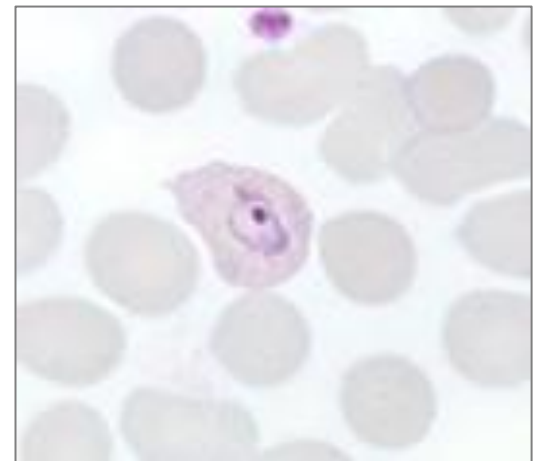
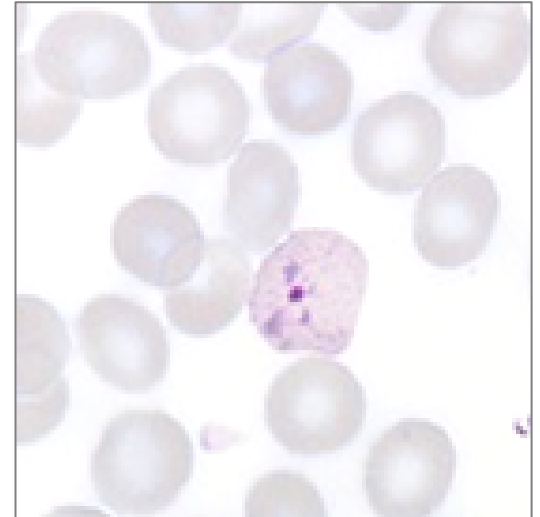
- Een 33-jarige Nederlandse man met koorts en malaise klachten. 6 dagen geleden terug in NL na een reis van 3 weken door Kenya. Kilimanjaro beklommen en diverse wildparken bezocht. Géén malaria profylaxe gebruikt.
- Van de 78 inzendingen rapporteerden 56 deelnemers (= 72%) correct de aanwezigheid van trofozoïeten (+ gametocyten) van *P.vivax*.
- De overige 22 deelnemers rapporteerden:
 - - *P. vivax/ovale* (5x)
 - - *P. ovale* (15x)
 - - *P. falciparum* (1x) en *P. vivax* + *P. falciparum* gametocyten (1x).

2016-1 A: *P. Vivax*

Dikke druppel



Uitstrijk

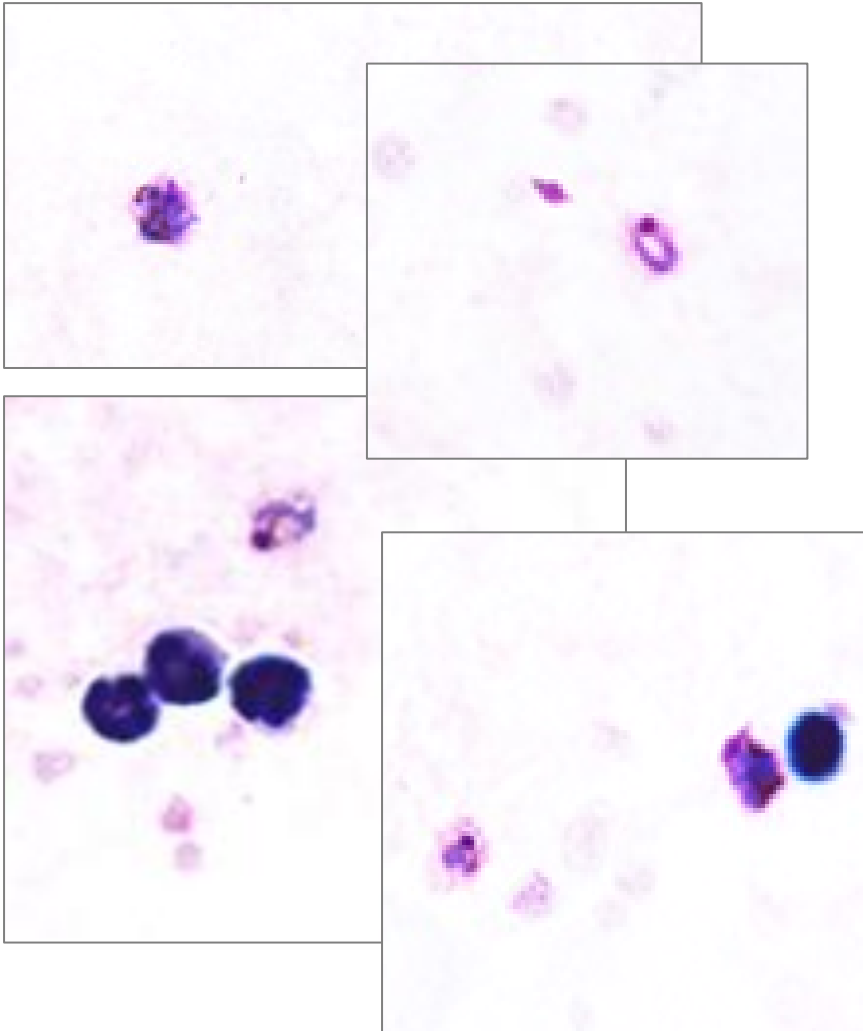


2016-1 B: *P. ovale*

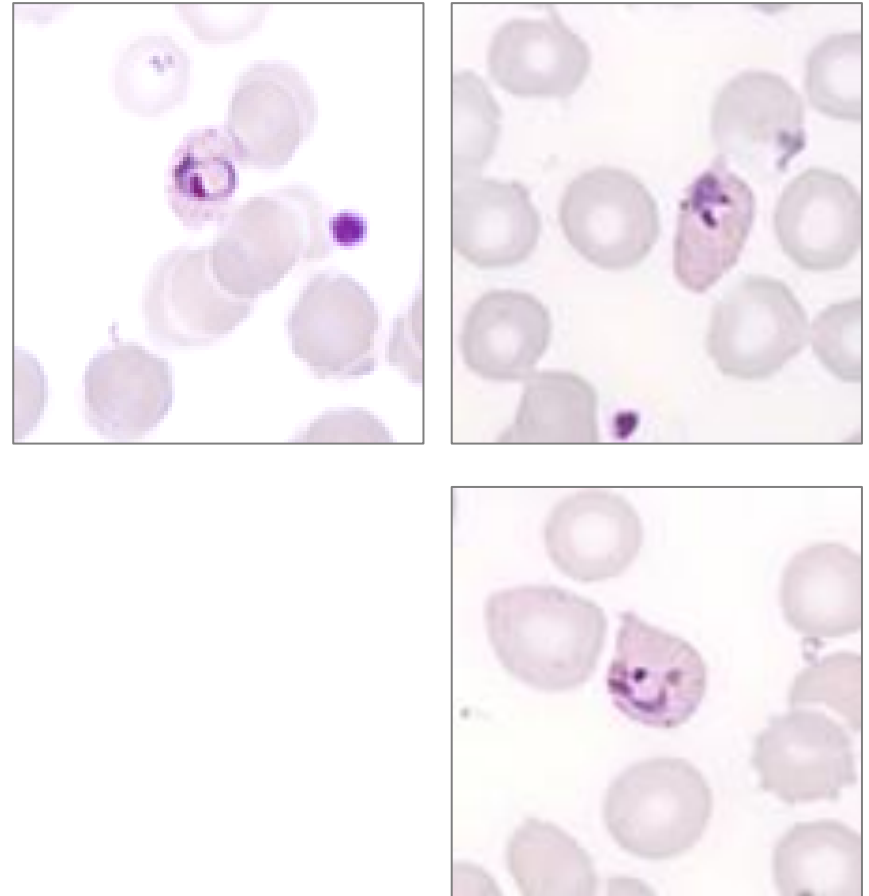
- Een 52-jarige vrouw uit Uganda met malaise klachten en piekende koorts. Ze woont in Uganda en is nu 1 week in Nederland.
Géén malaria profylaxe en diverse malen eerder malaria gehad.
- Van de 78 inzendingen rapporteerden 68 deelnemers (= 87%) correct de aanwezigheid van trofozoïeten + enkele schizonten + gametocyten) van *P.ovale*.
- De overige 10 deelnemers rapporteerden
 - - *P. malariae* (3x),
 - - *P. malariae* + *P. ovale* (2x)
 - - *P. vivax* (5x).

2016-1 B: *P. ovale*

Dikke druppel



Uitstrijk

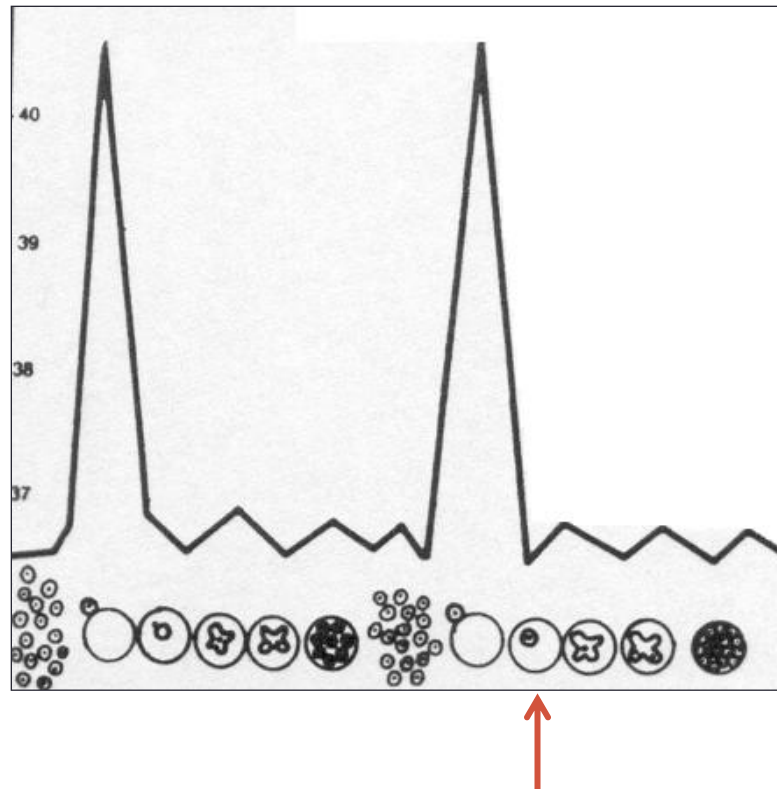


Verdiepingsvraag

- In bloedmateriaal 2016.1A waren trofozoïeten en gametocyten aanwezig, géén schizonten.
- Wat kan **de afwezigheid** van schizonten in het perifere bloed van deze patiënten verklaren?

Alléén jonge trofozoieten (+ gametocyten)?

P.vivax + *P.ovale*:
Koortspieken om de 48 uur



Gesynchroniseerde cyclus,
geprikt tijdens of vlak na de koortspiek

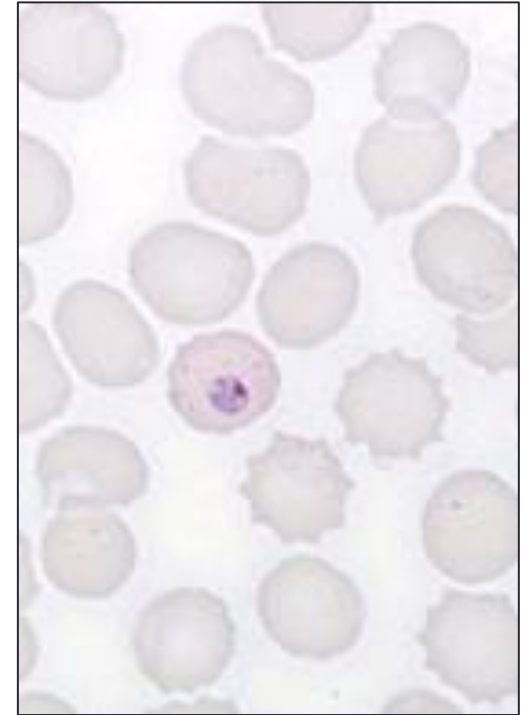
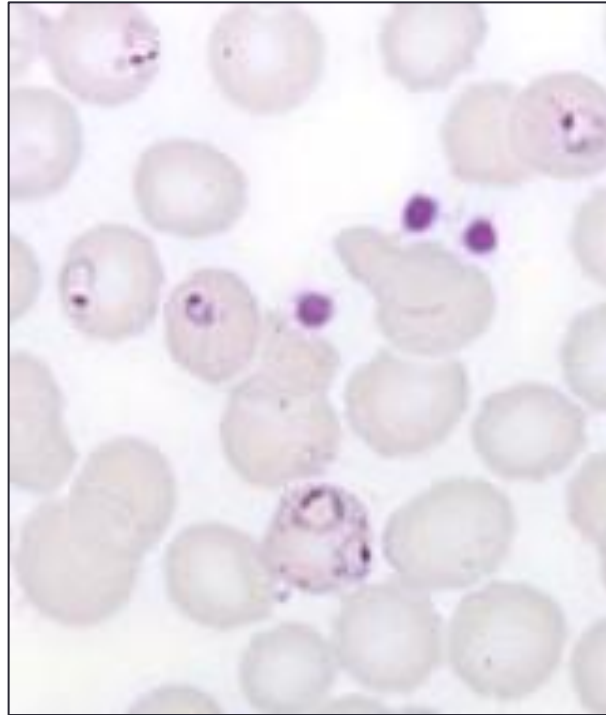
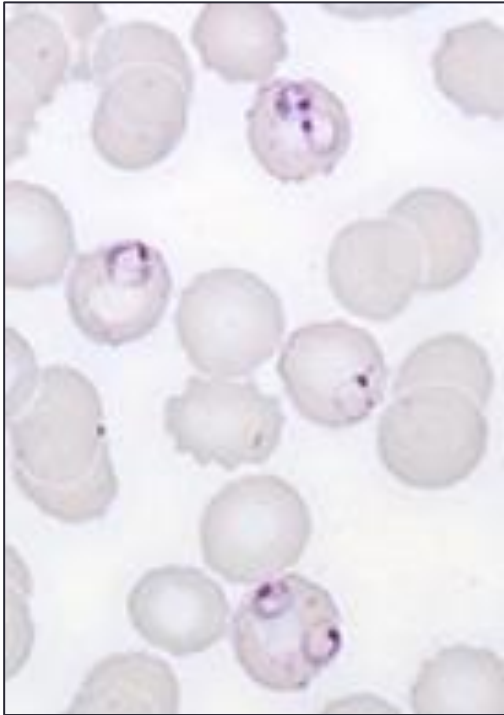
Bloedonderzoek op parasieten overzicht 2016:

| Nummer rondzending | Miroscopie | Parasitemie | Microscopie correct | Telling deelnemers |
|--------------------|--|-------------|---------------------|--------------------|
| 2016.1 A | <i>P.vivax</i> | n.v.t. | 56/78 (72%) | n.v.t. |
| 2016.1 B | <i>P.ovale</i> | n.v.t. | 68/78 (87%) | n.v.t. |
| | | | | |
| 2016.2 A | <i>P.falciparum</i> | 0,08% | 65/71 (92%) | 0.01–0.15%. |
| 2016.2 B | <i>P.falciparum</i> + gametocyten + pigment in WBC's | 0,5% | 69/72 (96%) | 0,4 tot 1%. |
| | | | | |
| 2016.3 A | <i>P.falciparum</i> (jonge schizonten + pigment in WBC's + Maurer's dots) | 8,5% | 76/77 (99%) | 6 - 11% |
| 2016.3 B | <i>P.knowlesi</i> (educatief) | 4,2% | 60/77 (78%) | 3,2 - 8,7% |
| | | | | |
| 2016.4 A | <i>P.falciparum</i> | 7,5% | 76/78 (97%) | 4,3 -17% |
| 2016.4 B | <i>Géén malariaparasieten</i> (+ Howell-Jolly bodies) | n.v.t. | 76/78 (97%) | n.v.t. |

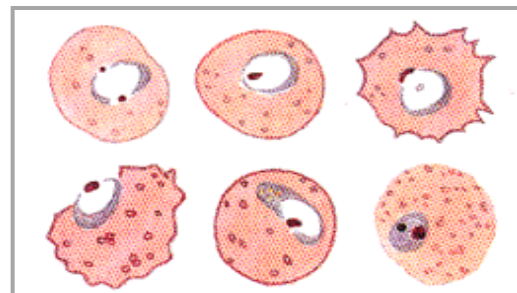
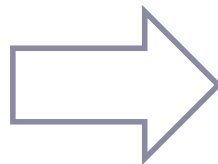
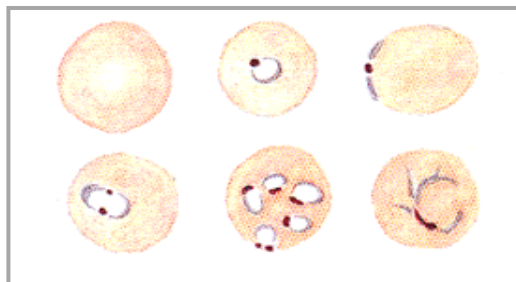
2016.3A

- Een 53-jarige NL man met meerdere dagen malaise klachten.
6 dagen geleden teruggekomen na 3 weken Ivoorkust.
Geen malaria profylaxe gebruikt.
- Van de 77 inzendingen rapporteerden 76 deelnemers (= 99%) correct de aanwezigheid van *P.falciparum*.
- In dit preparaat waren naast trofozoïeten, **Maurer's dots** ook sporadisch **schizonten** aanwezig.
Ook werd **pigment in WBC's** gezien.

2016.3A



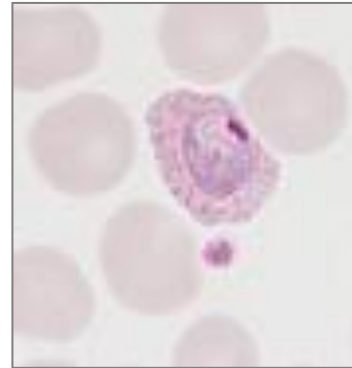
Uitstrijk: jonge en oudere trofo's met **Maurer's dots**.





Vlekken van Maurer

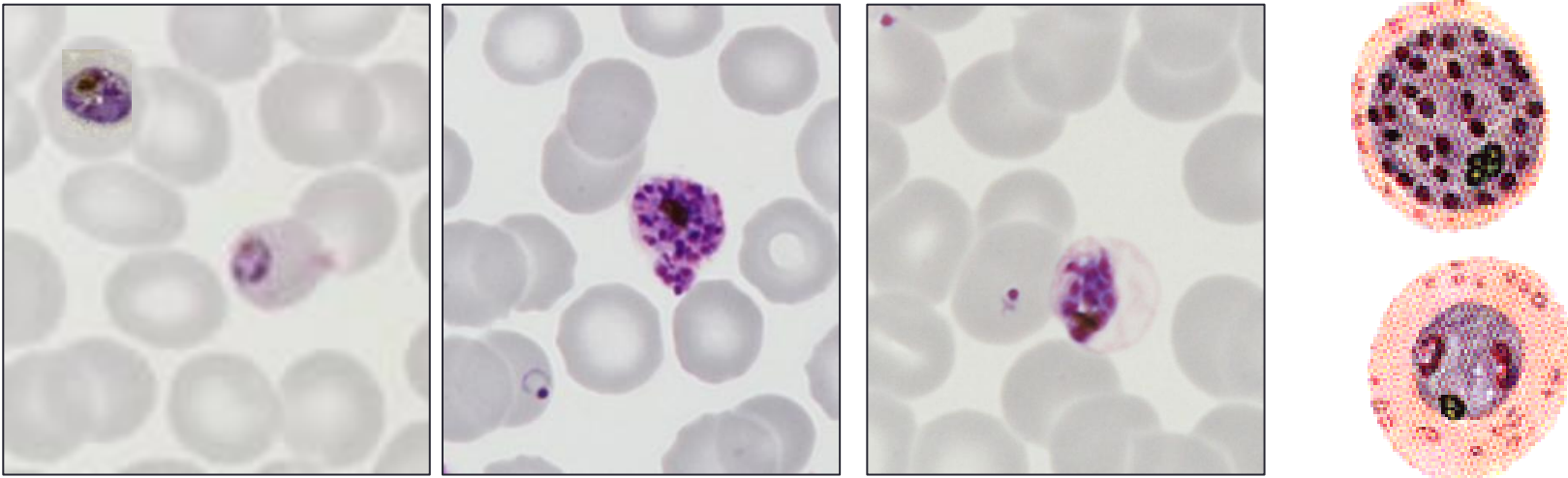
- telbaar
- onregelmatig van vorm en grootte
- grijs-paars
- niet zichtbaar in dikke druppel



Schüffnerse stippeling

- ontelbaar
- regelmatig van vorm en grootte
- rood
- zichtbaar in dikke druppel als Schüffnerse hof

Wanneer er schizonten van *P. falciparum* in het perifere bloed worden gevonden, is dat een aanwijzing dat er waarschijnlijk véél geïnfekteerde rode bloed cellen gesekwestreerd zijn.

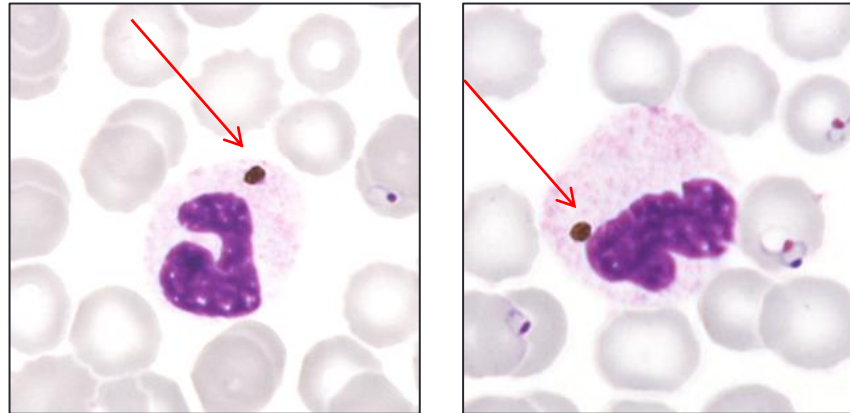


De kans is groot is dat de patiënt ernstige malaria heeft!

Let op het typerende malariapigment (één donkergekleurd brokje!)

Zie ook: van Wolfswinkel et al 2012 *The prognostic value of schizontaemia in imported Plasmodium falciparum malaria*. Malar J. 11:301

Malariapigment in WBC's



Het aantal parasieten in het perifere bloed is niet altijd een juiste afspiegeling van het aantal gesequestreerde parasieten.

Malaria pigment kan dienen als indicator voor de parasitaire biomassa omdat dit pigment onder de microscoop kan worden gezien in de monocyt en polymorfnucleaire leukocyten (PMN's).

Gepigmenteerde WBC's worden in verband gebracht met cerebrale malaria en de sterfte van kinderen met ernstige malaria

Bloedonderzoek op parasieten overzicht 2016:

| Nummer rondzending | Miroscoopie | Parasitemie | Microscopie correct | Telling deelnemers |
|--------------------|---|-------------|---------------------|--------------------|
| 2016.1 A | <i>P.vivax</i> | n.v.t. | 56/78 (72%) | n.v.t. |
| 2016.1 B | <i>P.ovale</i> | n.v.t. | 68/78 (87%) | n.v.t. |
| | | | | |
| 2016.2 A | <i>P.falciparum</i> | 0,08% | 65/71 (92%) | 0.01–0.15%. |
| 2016.2 B | <i>P.falciparum</i> + gametocyten + pigment in WBC's | 0,5% | 69/72 (96%) | 0,4 tot 1%. |
| | | | | |
| 2016.3 A | <i>P.falciparum</i> (jonge schizonten + pigment in WBC's + Maurer's dots) | 8,5% | 76/77 (90,1%) | 6 - 11% |
| 2016.3 B | <i>P.knowlesi</i> (educatief) | 4,2% | 60/77 (78%) | 3,2 - 8,7% |
| | | | | |
| 2016.4 A | <i>P.falciparum</i> | 7,5% | 76/78 (97%) | 4,3 -17% |
| 2016.4 B | Géén malariaparasieten (+ Howell-Jolly bodies) | n.v.t. | 76/78 (97%) | n.v.t. |

Geen “performance score”:

- Voor de beoordeling van dit materiaal werd geen “performance score” toegekend, omdat op basis van de morfologische aspecten *P.knowlesi* niet met 100% zekerheid onderscheiden kan worden van *P. malariae* en/of *P. falciparum*.
- Veel deelnemers rapporteerden terecht in het commentaar dat aanvullend onderzoek (PCR) is aangewezen.

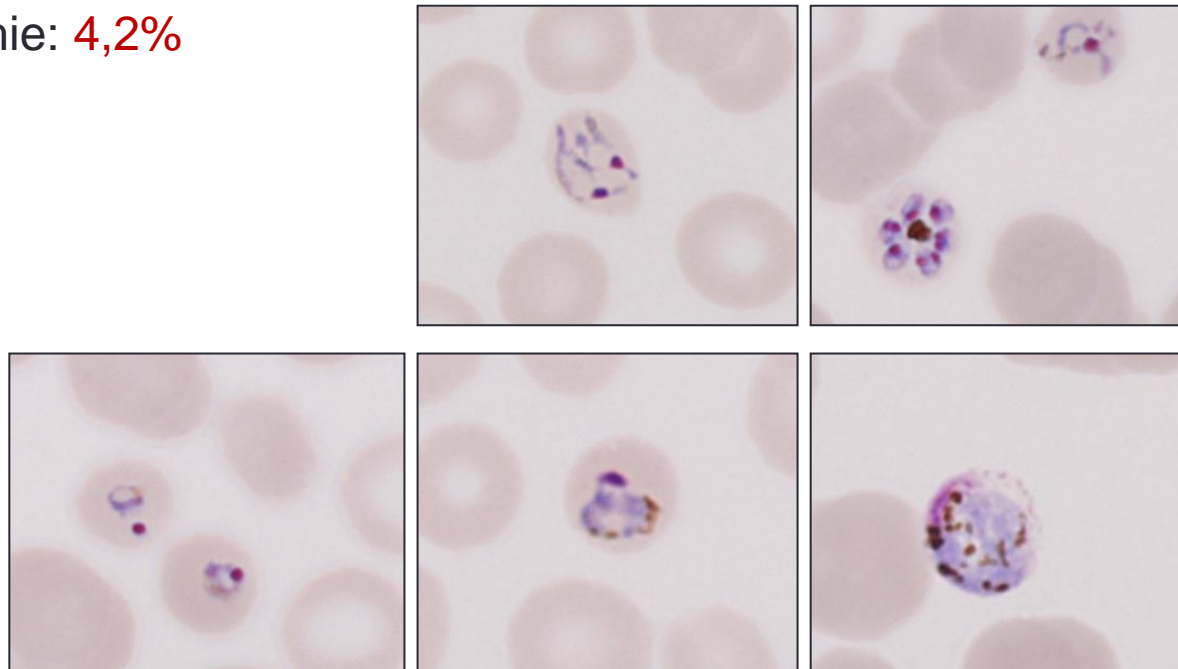
2016.3B *P. knowlesi*

In dit bloedmateriaal: trofozoïeten, schizonten en gametocyten.

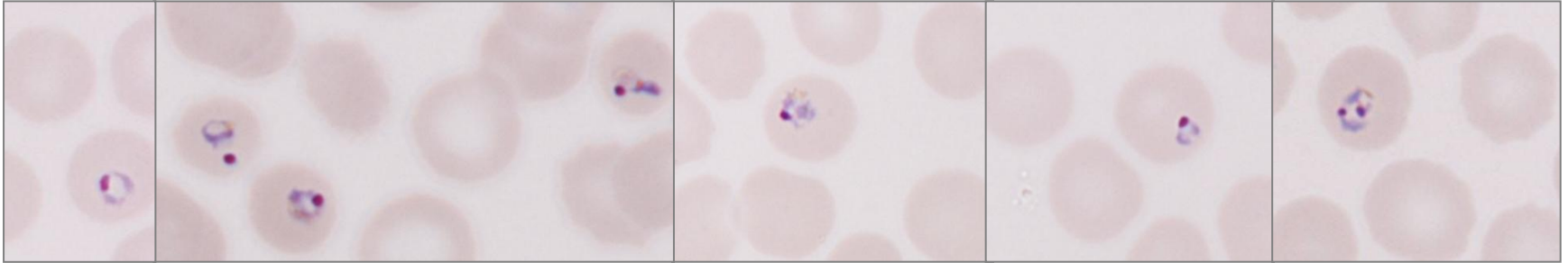
- Morfologie:

erythrocyten waren niet vergroot, geen Schüffnerse stippeling, trofozoïeten met grillig cytoplasma, brokken pigment, schizonten met 4-12 merozoïeten.

- Parasitemie: 4,2%



Jonge trofozoïeten *P.knowlesi*

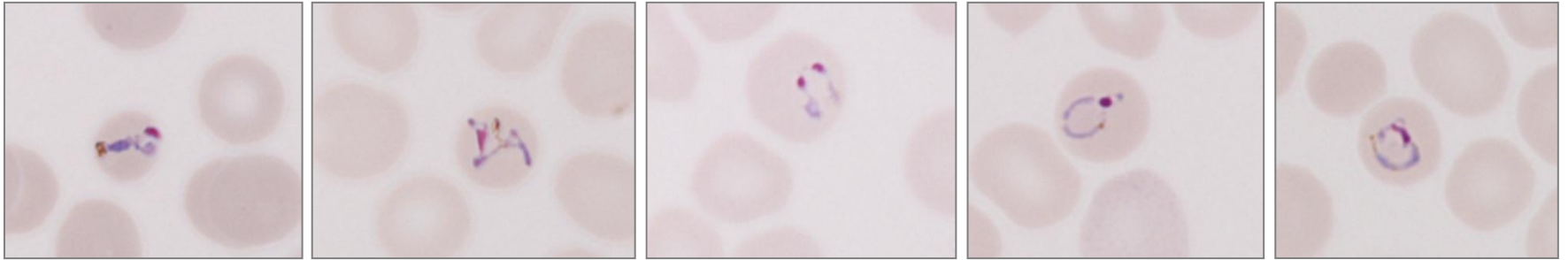


Jonge trofozoïeten van *P.knowlesi* zijn moeilijk te differentiëren van die van *P.falciparum*.

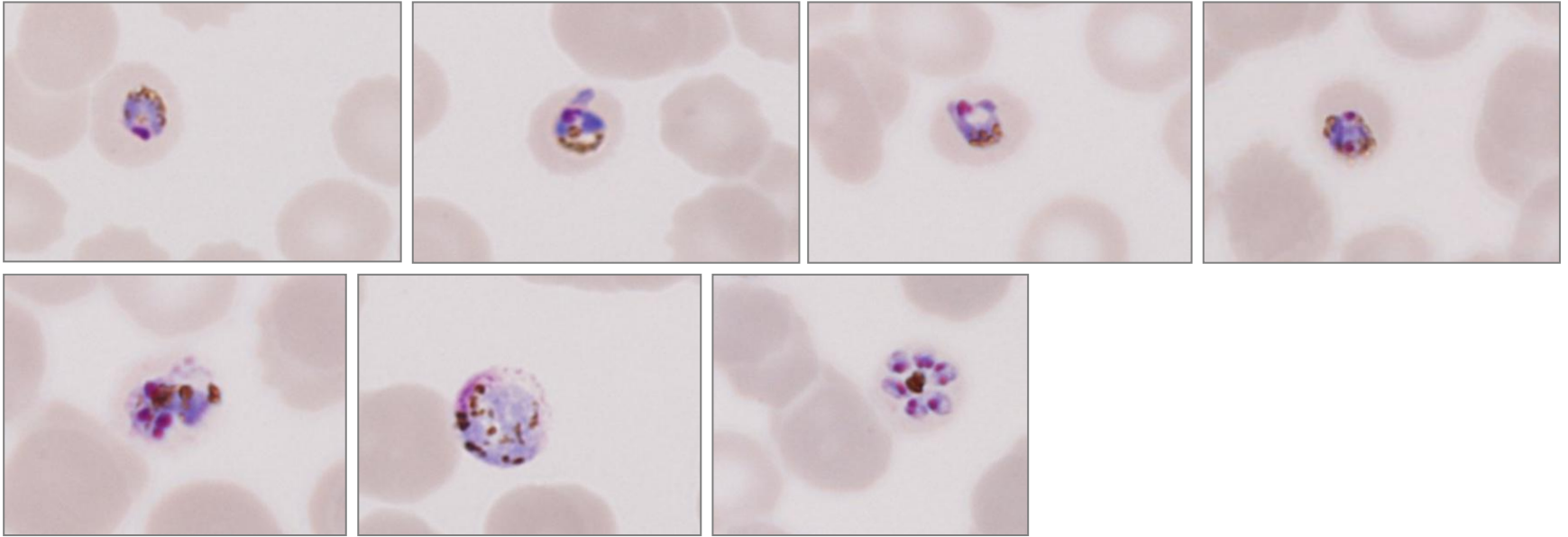
Infecties bij mensen verlopen meestal niet synchroon

lets oudere trofozoïeten *P.knowlesi*

Geïnfecteerde RBC's niet vergroot, géén Schüffnerse stippeling, trofozoïeten met grillig cytoplasma: onderscheid *P.vivax* en *P.malariae*.

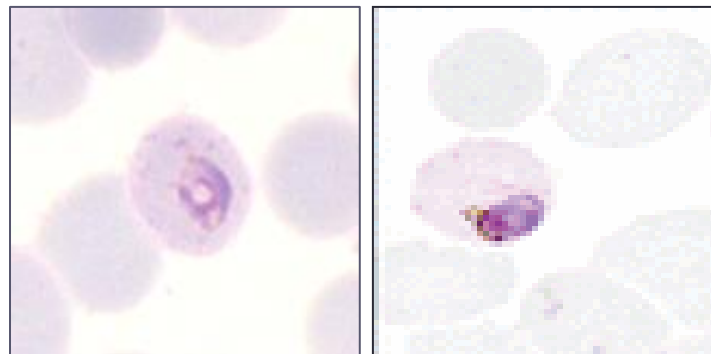


Oudere trofozoïeten, schizonten en gametocyten van *P.knowlesi*



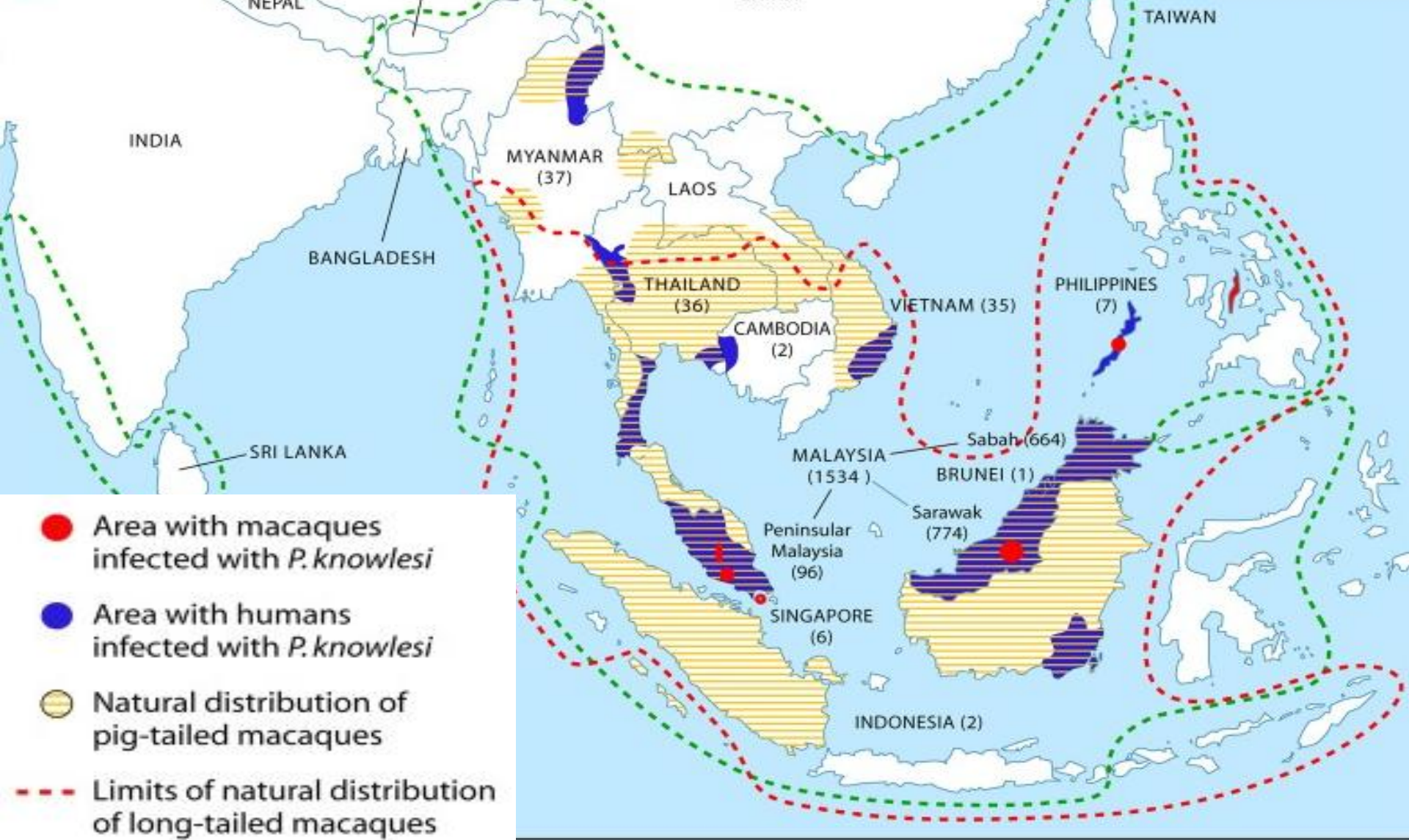
Oudere trofozoïeten, schizonten en gametocyten van *P.knowlesi* zijn moeilijk/niet te differentiëren van die van *P.malariae*.

- Géén vergroting van de RBC, géén Schüffnerse stippeling, wèl soms nauwelijks zichtbare onregelmatige vlekjes in rijpe trofozoïeten en schizonten: “**Sinton – Mulligan’s stippeling**” (onderscheid ***P. vivax/ovale*** lastig)!



Casus 2016.3B :

Alle genoemde morfologische kenmerken in combinatie met de **hoge parasitaemie (4,2%)** en de **reisanamnese (Maleisisch Borneo)** is alleen passend bij ***P. knowlesi***.



Source: Singh, B., & Daneshvar, C. (2013). Human Infections and Detection of *P. knowlesi*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(2), 165–184. doi:10.1128/CMR.00079-12

- Het vóórkomen *P. knowlesi* blijft beperkt tot die gebieden waar zowel de apen (natuurlijke gastheren) als de muggen (vectoren) gezamenlijk aanwezig zijn.
- De verwachting is dat het verspreidingsgebied in de nabije toekomst groter zal worden, omdat zowel het verspreidingsgebied van de passende vector als de passende apensoorten een groter overlappend verspreidingsgebied hebben.
- Meer informatie m.b.t. de geografische verspreiding van *P. knowlesi*: zie review van Moyes et al (2014) PLOS Negl. Trop. Dis. 8, e2780.

| <i>Plasmodium</i> spp. | ziektebeeld | duur cyclus | parasitemie >3% mogelijk | hypnozoïeten in de lever | aantal merozoïeten in rijpe schizonten |
|---------------------------|---------------------|----------------|-----------------------------|-----------------------------|---|
| <i>P. falciparum</i> | malaria tropica | 48 uur | ja | nee | 32 |
| <i>P. vivax</i> | malaria tertiana | 48 uur | nee | ja | 24 |
| <i>P. ovale</i> | malaria tertiana | 48 uur | nee | ja | 12 |
| <i>P. malariae</i> | malaria quartana | 72 uur | nee | nee | 12 |
| <i>P. knowlesi</i> | apen malaria | 24 uur | ja | nee | 16 |

- Ook met *P.knowlesi* geïnfectedeerde RBC's kunnen blijkbaar binden aan endotheelcellen van capillairen in de organen.
- Het moleculaire mechanisme is anders dan bij *P. falciparum*.
P. knowlesi heeft geen aan PfEMP-1 verwant eiwit (eiwit dat primaire van belang is bij sekwestratie bij *P. falciparum*).
- Bij *P. knowlesi* zijn vaak grote aantallen oudere trofozoïeten en schizonten aanwezig in het perifere bloed, terwijl deze bij *P. falciparum* meestal ontbreken doordat deze stadia zo goed als volledig sekwestreren
- Zie ook: review van Millar and Cox-Singh (2015) Clin. Microbiol. Infect. 21, 640-648

P.knowlesi

- **Microscopie:** verwarring met *P.malariae* en/of *P.falciparum* (*P.vivax*).
- **Antigeentesten:**
 - ICT (Binax):
positief voor aldolase (verwarring met *P.vivax*) (*P.malariae*)
 - Optimal:
positief voor *P.falciparum* LDH (kruisreactie) en Pan-malaria LDH.
(verwarring met *P.falciparum*)
- **PCR onderzoek**

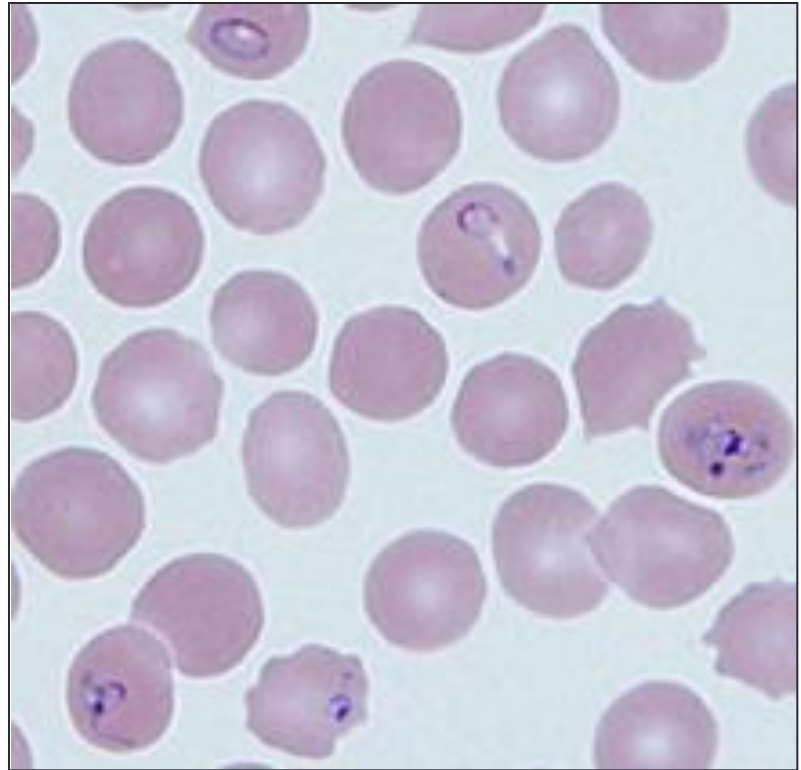
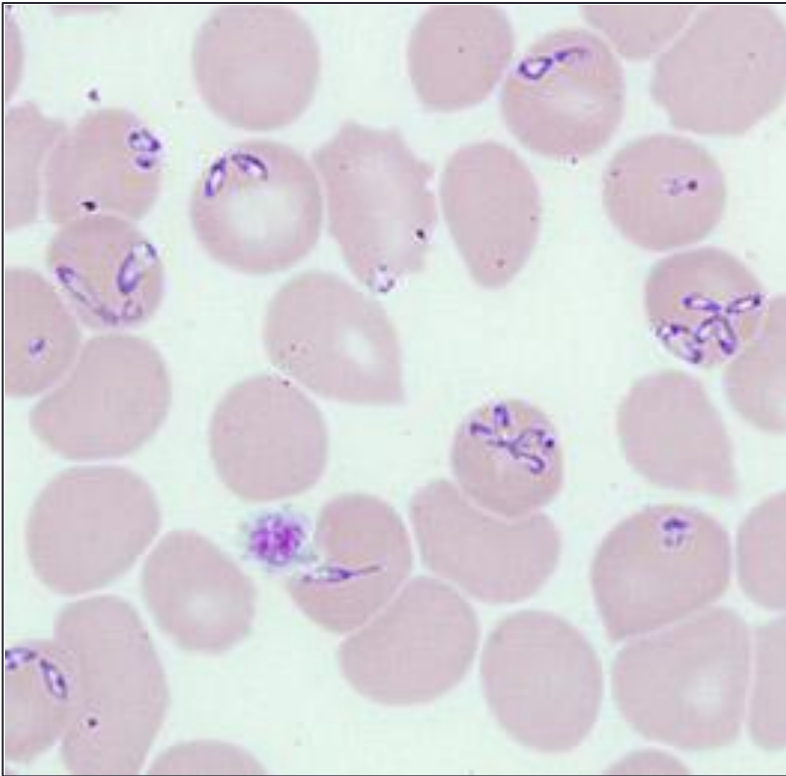
Klinische verschijnselen

- *P. knowlesi* vermenigvuldigt zich elke 24 uur waardoor de parasitaemie snel stijgt, waardoor ernstige malaria kan ontstaan en de infectie, indien onbehandeld dodelijk kan verlopen.
- Bij *P.knowlesi* worden dezelfde symptomen gezien als bij malaria veroorzaakt door andere *Plasmodium* soorten: koorts, hoofdpijn, spierpijn, misselijkheid, braken, diarree.
- Ook thrombocytopenie wordt vaak gezien en is meestal ernstiger dan bij *P.vivax* en *P.falciparum* terwijl de anemie meestal milder is.

Behandeling:

- *P.knowlesi* kan effectief met chloroquine worden behandeld.
- Aangezien apen niet behandeld worden voor malaria, is er bij deze *Plasmodium* soort geen resistentie tegen anti-malaria middelen.

***Babesia* spp.**



Babesia spp:

- Polymorf en ringvormig. Lijken op jonge ringvormen van *P.falc.*
- Afmetingen: 1 tot 5 μm .
- RBC niet vergroot of bleek, geen stippeling.
- **Nooit malariapigment.**
- Jonge vormen hebben weinig cytoplasma en een kleine kern.
- In de rijpere vormen kunnen twee of meer kernen worden gezien.
- Soms wordt een tetrad formatie (malthezer kruis) gezien door splitsing van de parasiet.
- Soms meer dan een parasiet in de RBC
- Geen gametocyten aanwezig
- Een negatieve dikke druppel sluit een infectie niet uit.
(parasitemie kan erg laag zijn)



Maltezer kruis



Hartelijk dank voor uw aandacht !