

Expert waarden in microscopische diagnostiek van de parasitologie.



Foekje F. Stelma¹, Jaap van Hellemond²

1) Dept. Medische Microbiologie, Radboudumc, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.

2) Dept. Medische Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus Medisch Centrum en Havenziekenhuis, Postbus 2040, 3000 CA, Rotterdam

Verschuivingen in de parasitologische diagnostiek in het Radboud over het afgelopen decennium

Jaar	Aantallen 2003	Aantallen 2014	Procentuele verandering
Microscopie	5085	720	86% ↓
Moleculair	84	4830	98% ↑
Serologie	2355	1058	45% ↓

Microscopie blijft een essentieel onderdeel van de diagnostiek.

Rondzendingen van sectie Parasitologie

- • Rondzending bloed en gastro-intestinale parasieten, 4x 4 materialen
- Rondzending moleculaire parasitologie, 4x 2 materialen
- • **NIEUW** 2015 volbloed voor rondzending malaria sneltest 2x2 materialen

Rondzending bloed en gastro-intestinale parasieten

- N ~ 85 laboratoria
- Per rondzending
 - 2 bloedmonsters (dikke druppel en uitstrijk)
 - 2 fecesmonster

Microscopie; een kwalitatieve techniek

- Eisen aan kennis van microscopisten = hoog
- Belangrijke variatie tussen microscopisten
- Expert waarde → 6 hoog gekwalificeerde centra / consensus
 - Kwaliteit
 - Geschiktheid (aanwezigheid parasiet, morfologie, parasitaire load)

Referent	LUMC	EMC/Haven	LabMicta	TD	StrLab Haarlem	Radboud
datum uitslag	7-jan				15-jan	15-jan
bevinding	P. malariae	P. malariae	P. malariae	P. malariae	P. malariae	P.malariae
dikke druppel	compacte trofozoieten, meestal met veel korrels pigment, ringen, schizonten met tot 8 kernen, gametocyten	Niet altijd even goed gelyseerd, wel goed te beoordelen Trofozoiten, schizonten en gametocyten aanwezig.	6-16 WBC/gv, geen schuff hof, trofo's met compact cytoplasma en veel korrelig pigment, schizont 'madelief'-vorm met 6 merozoieten	Jonge trofo's met kleine korreltjes pigment, schizonten met 2 tot 8 merozoieten. Geen duidelijke gamtocyten gezien.	enkele trofozoieten gevonden; 1x schizont met veel pigment	5-6 WBC/gez.veld 1par 2 gez.velden, jonge trofo's en iets oudere met pigment. Ook jonge schizont gezien
uitstrijk	Rijpe trofozoieten met veel cytoplasma, compact, veel grote pigment korrels, ery's vaak iets verkleind en verder onveranderd, gametyocyten en schizonten.	Mooie uitstrijk, trofozoiten en schizonten, soms zelf een bandvorm	ery's niet vergroot, trofo's, bandvorm	ery's niet vergroot, trofo's met duidelijk aanwezig korrelig pigment.Lage parasitemie.	1 geïnfecteerde erythrocyt gevonden (na 2x 30 minuten beoordelen. / erythrocyt niet vergroot	parasiet soms buiten ery's, wat kleurneerslag
kwantiteit:			1+	voldoende	zeer lage parasietendichtheid	lage parasitemie
geschiktheid voor RZ (kwaliteit):	ja	ja	nee	JA	nee, gezien lage parasietendichtheid	mn uitstrijk moeilijk
PCR						
opmerkingen:			dikke druppel slecht te beoordelen; veel achtergrond, ery's deels niet gelyseerd, in uitstrijk ook veel achtergrond.			

Kwaliteit van materiaal

Resultaten van de expert laboratoria

→ gearchiveerd in het MCB en besloten deel van de website van de NVP



Nederlandse Vereniging voor Parasitologie
Netherlands Society for Parasitology

Microscopie blijft noodzakelijk omdat

Malaria

- Richtlijnen voor malariadiagnostiek momenteel nog gebaseerd op microscopische bepaling van de parasitaire load.
 - Bij *P. falciparum* weerspiegelt de parasietendichtheid tot op zekere hoogte de klinische toestand van de patiënt.
 - Door het bepalen van de parasitaire load tijdens de behandeling is het mogelijk te controleren of de behandeling aanslaat / bepalen van eventuele resistentie tegen het gebruikte anti-malariamiddel.

Andere bloed en gastro-intestinale parasieten

- Een groot aantal laagfrequente en exotische ziekteverwekkers → standaardisatie middels panels niet mogelijk

Kwalitatieve scores (MAP 100% → 2)

Monster : C SAF gefixeerde feces.

Patiënt : Een 25-jarige student uit Finland heeft sinds een paar maanden klachten van moeheid en buikpijn met soms dunne ontlasting. De huisarts vraagt onderzoek op wormeieren en cysten aan.

Vraag : Onderzoek op darmparasieten.

Opmerkingen : Indien onderzoek niet in laboratorium wordt verricht, vul "doorgestuurd" als antwoord optie in.

Determinatie

Expert uitslag

Score

Uw uitslag

Diphyllobothrium latum

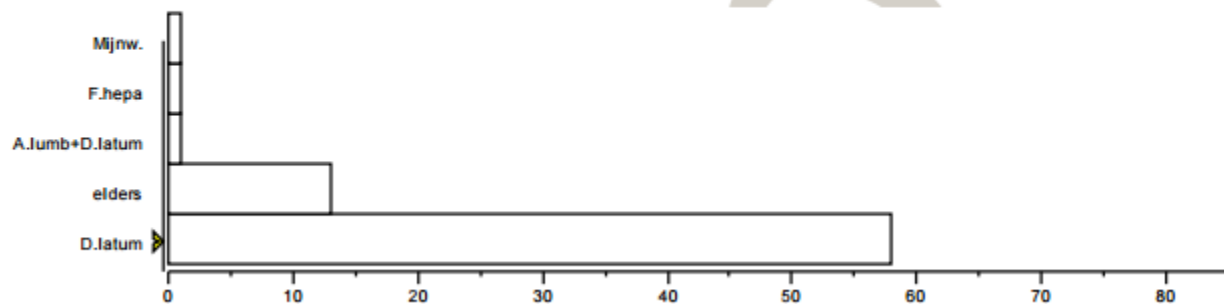
2

Diphyllobothrium latum



Totaalscore : 2

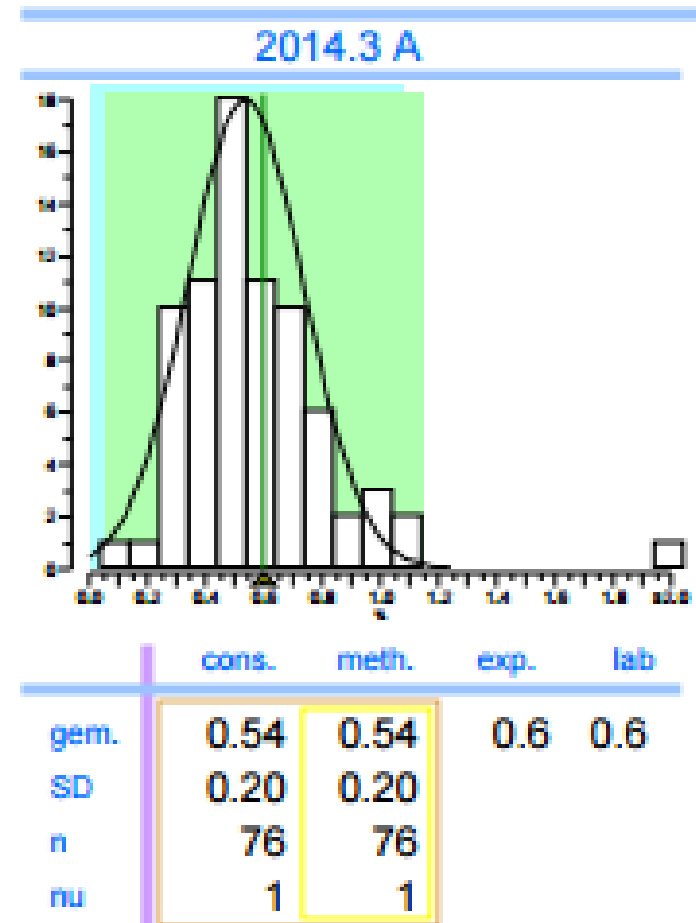
Histogram



Kwantitatieve score

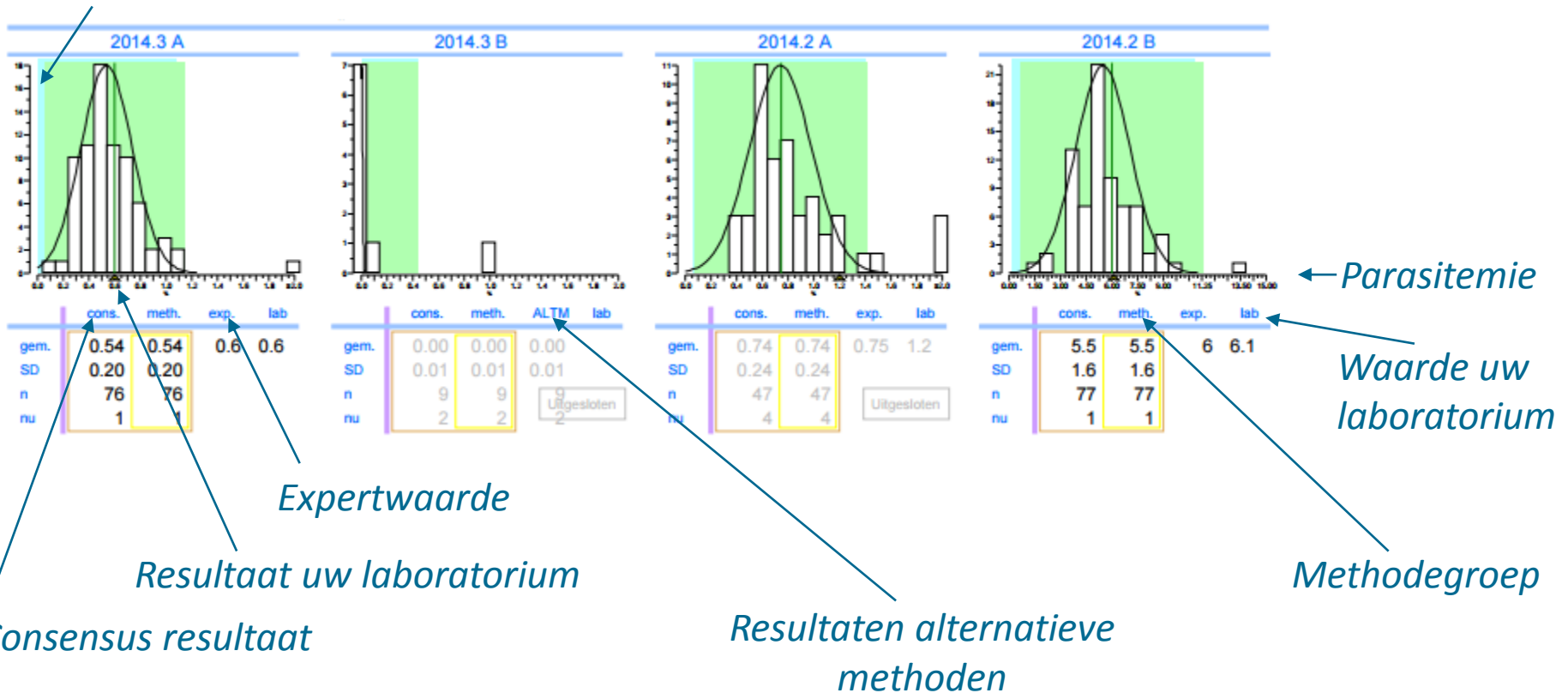
Expertwaarde malaria parasitemie

- De mediaan van de load vastgesteld door tellingen in de 6 centra
- De tellingen van de deelnemende perifere laboratoria dragen bij aan de statistische spreiding rondom de mediaan.
- 95% van de observaties dienen binnen 2 SD van de mediaan te liggen.



Malaria parasitemie – rapporten laatste 2 ronden

Aantal deelnemers



Malaria parasitemie - difference plot

Geeft resultaten weer van de laatste 3 jaar (startend vanaf 1-1-2013)

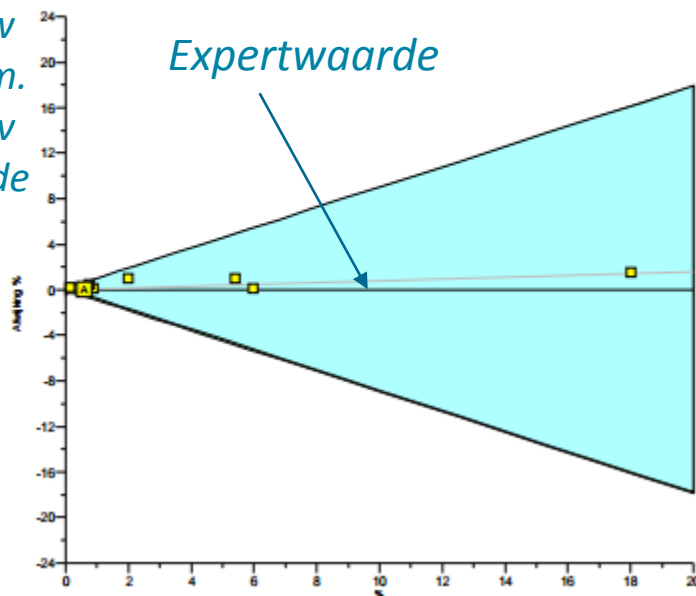
Sichting Kwaliteitsbewaking
Medische Laboratoriumdiagnostiek

Bloed/Darm parasieten 2014.3

P. falc. parasitemie

eenheid : %

Resultaat uw
laboratorium.
Afwijking tov
expertwaarde



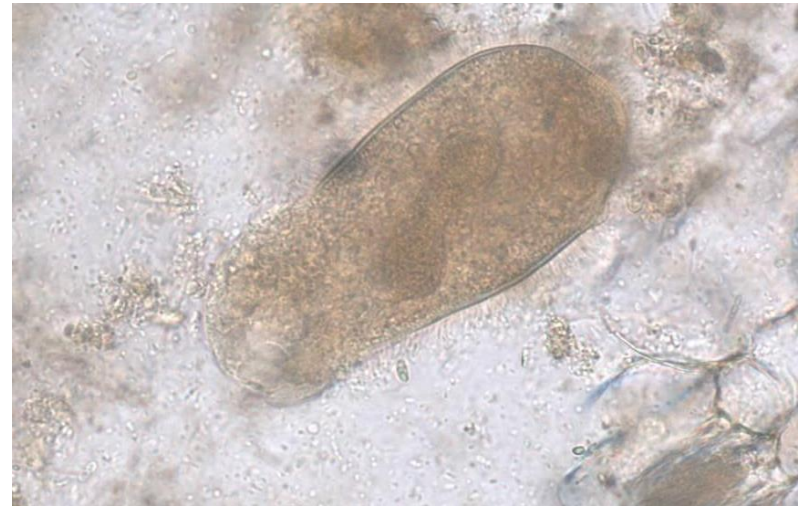
	2014.3	cumulatief
Juistheid	0.00%	+8.7%
Precisie		4.1%
Aantal	1	7
Uitbijters	0	0
Sigma-TE	6.0	6.0
Sigma-SA	6.0	6.0
Score pictogram		
Regressielijn		$0.0 + 1.080.x$
Consensusgroep	Overall	
Methode	Onbekend	

Blokjes A en B geven de resultaten van de materialen A en B van de laatste ronde weer

Educatieve monsters

(sporadisch voorkomende parasieten)

- Bv 2014-1 E Balantidium coli, tellen niet mee in puntentelling.
- Grootste darmprotozoa en enige ciliaat die humane infecties kan veroorzaken
- Cosmopoliet
- Varkens en apen
- Transmissie feco-oraal
- Asymptomatisch, zelden colitis



Figuur:
Grote trofozoïeten (50-200µm bij 40-70µm) met op hun celmembraan karakteristieke trilharen (cilia)

De expertwaarde

geeft tevens aan of de microscopische diagnostiek binnen een centrum een systematisch afwijking heeft.



De rondzendingen

- Materialen kunnen bijdragen aan interne scholing
- Materialen kunnen bijdrage aan toetsing in de individuele laboratoria
- Fotomateriaal van monsters te vinden op

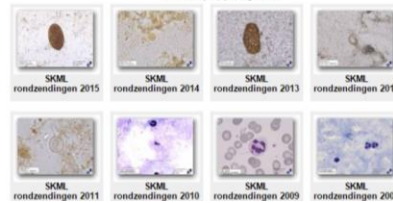
<http://www.parasitologie.nl/index.php?id=1652>



NVP Parasieten fotogalerie - SKML

Hier staan de foto's van de parasieten die gevonden zijn in de SKML rondzendingen.

De foto's zijn op jaar ingedeeld.



Overzicht resultaat rondzendingen 2014

Rondenr	Materiaalnr	Parasieten	Aantal max scores /aantal inzenders
2014-1	A	P. falciparum (18%)	79/79 (100%)
	B	P. falciparum (0,3%)	43/79 (54%) !
	C	Diphyllobothrium latum	58/61 (95%)
	D	Negatief	42/60 (70%)
	E	Balantidium coli	52/55 (95%) (educatief)
2014-2	A	P. falciparum (1,2%)	37/80 (46%) (geen score) !
	B	P. falciparum (6,0%)	80/80 (100%)
	C	Cyclospora cayetanensis	54/62 (87%)
	D	Echinococcus granulosus	49/63 (78%)
2014-3	A	P. falciparum (0,45%)	78/78 (100%)
	B	P. falciparum gametocyten	72/78 (92%)
	C	Schistosoma haematobium	54/60 (90%)
	D	S. mansoni & G. lamblia	47/60 (78%)
2014-4	A	P. vivax/ovale	75/80 (94%)
	B	P. malariae	77/79 (98%)
	C	H. nana	59/62 (95%)
	D	Entamoeba coli	43/61 (71%)

Conclusies 2014

BLOED

Opvallend veel afwijkende resultaten in de malaria diagnostiek (2014-1B en 2014-2A).

- relatief weinig trofozoieten van *P. falciparum*
- de casus was ook passend bij andere *Plasmodium* soorten.
- < 50% juist (2014-2A) → geen punten

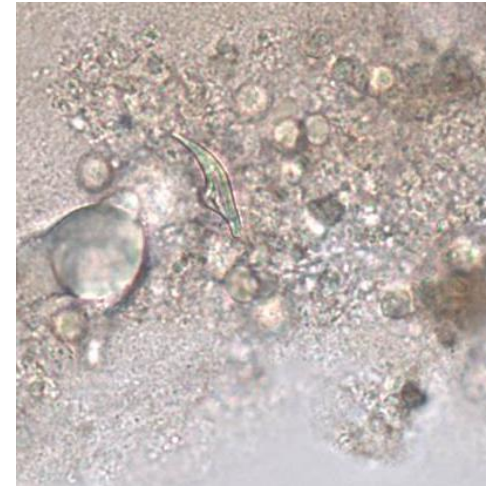
FECES

Darmparasieten scoren gemiddeld minder goed dan bloedpreparaten.

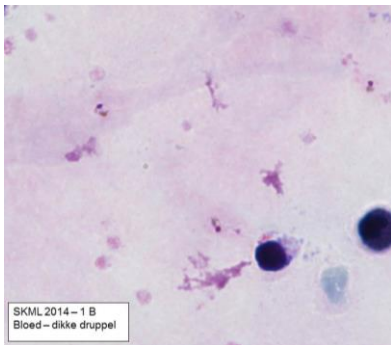
- Het negatieve materiaal (2014-1 D) → artefacten worden gescoord → 30% fout positieven.
- Determinatie van protozoaire parasieten lastig.

Aandacht voor

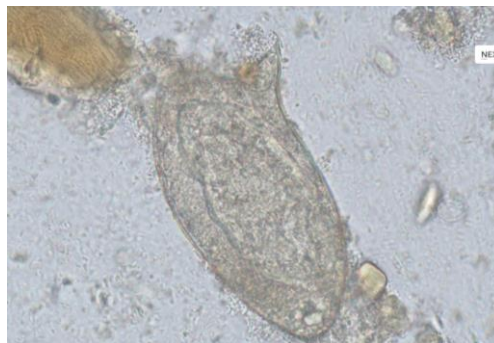
- Lage parasitemie plasmodium
- Microscopie van darm protozoen
- Microscopie van “*niet standard parasieten*”
- Artefacten



E. granulosus



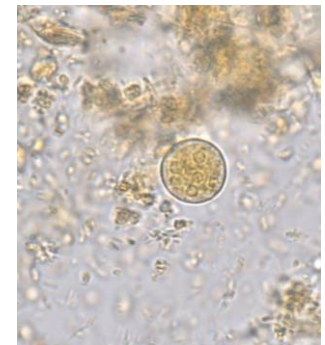
Pl. falciparum 0,3%



S. mansoni

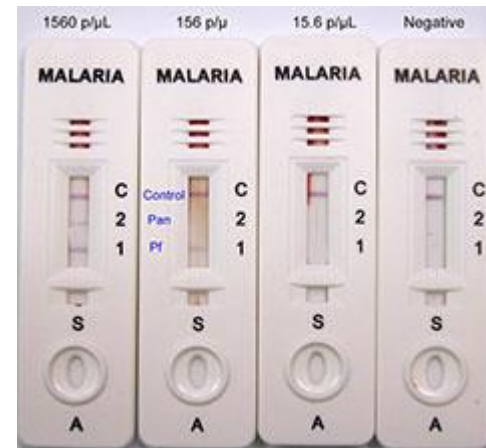
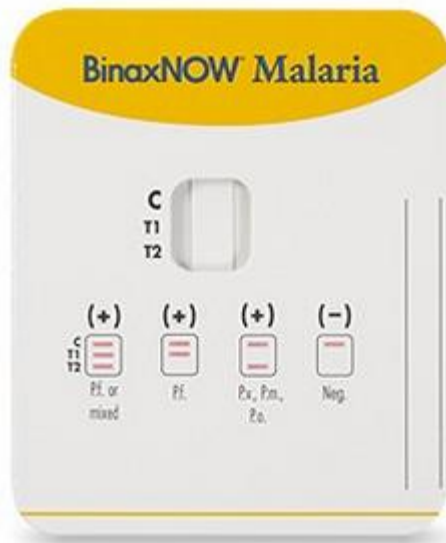


Artefact
(stuifmeelkorrel)



E. coli

Malaria antigeen test vanaf 2015



Opzet rondzending antigeen testen

SKML rapportage referentie materiaal

Nummer	Mal-1
Materiaal	
Hoeveelheid	
Aangeleverd door	

referent	HAARLEM	LUMC	HZH/EMC
datum ontvangst	7-jan	7-jan	
datum uitslag	7-jan	7-jan	
	pos/neg	pos/neg	pos/neg
HRP-2	neg	neg	neg
PF-LDH			
Aldolase	pos	pos	pos
Pan LDH			
Conclusie: PF, PF & P overig, P. overig	P. overig	P. overig	P. overig

Sneltest	Binax Now	Binax Now Malaria	ICT malaria dual
Firma	Emergo-Europe		ICT Diagnostics
Lot nr.	69450	66710	50140
Exp date	2016 03	aug-15	1-8-2015

Opmerkingen			
Geschikt voor RZ:	ja	ja	

- Rondzending van lysaat van bloedmateriaal
- Geen puntenscore in 2015
- Q-base ingewikkeld → initieel veel invoerfouten

Target antigens for commercially available RDTs:

Species	Antigen	HRP 2	pLDH	Aldolase
<i>P. falciparum</i> specific		√	√	
Pan-specific (all species)			√	√
<i>P. vivax</i> specific			√	

Resultaat eerste rondzending

Materiaal 2015.1.F

- *P. falciparum* (HRP-2 en PfLDH)
- In mindere mate antigenen van andere humane *Plasmodium* species (*Plasmodium* aldolase of pan-malaria LDH)

- 38/40 (95%) *P. falciparum* positief (juist)
- 35/40 (88%) pan-malaria positief (juist)

Materiaal 2015.1.G

- Alleen pan-malaria (*Plasmodium* aldolase of pan-malaria LDH)

- 16/20 (80%) *P.falciparum* negatief (juist)
- 37/40 (93%) pan-malaria positief (juist)

