

Kwantificeren parasietendichtheid malaria

Ing. Truus Derks

Presentatie SKML-dag 6 maart 2008

► Waarom tellen?

- **Tellen is alleen van belang in geval van *P.falciparum***

❶ Bij *P.falciparum* weerspiegelt de parasietendichtheid tot op zekere hoogte de klinische toestand van de patiënt.

Hoge dichtheden zijn vaker geassocieerd met ernstige malaria: een parasietendichtheid van > 5% is, ongeacht de klinische toestand levensbedreigend, maar ook een lage dichtheid sluit ernstige malaria – met mogelijk fataal beloop - niet uit!

❷ Door het aantal parasieten te tellen vóór en tijdens de behandeling is het mogelijk te controleren of de behandeling aanslaat en of er eventueel resistentie bestaat tegen het gebruikte anti-malariamiddel.

Opmerkingen:

- **Tellingen zijn slechts benaderingen!**

❶ door de aannames van gemiddelde aantallen rode of witte bloedcellen (RBC: $4 \times 10^6/\mu\text{l}$; WBC $6-8 \times 10^3/\mu\text{l}$)

❷ de dichtheden kunnen van dag tot dag sterk wisselen: het kan zijn dat de cyclus synchron loopt (de oudere trofozoieten en schizonten zitten vast in de capillairen).

Let ook op malariapigment in WBC's*¹)

❸ de patiënt kan ook ernstige malaria hebben, samen met een lage parasitaemie door home-treatment.

❹ 24 uur na de start van de therapie wordt vaak een toename van het aantal parasieten gezien! De opbouw van de intra-erythrocytaire spiegel van het anti-malariamiddel neemt tijd in beslag!

❺ De gametocyten en trofozoieten moeten afzonderlijk worden vermeld!

Ook na succesvolle behandeling kunnen er nog gametocyten in het bloed blijven circuleren.

❻ De aanwezigheid van oudere vormen (oudere trofozoieten en schizonten) moet afzonderlijk worden weergegeven: dit kan wijzen op een ernstige situatie.

► Tellen van malariaparasieten:

Twee manieren:

❶ Bij hoge dichtheden wordt de parasitemie uitgedrukt in het percentage geïnfecteerde erythrocyten. Er wordt geteld in de uitstrijk.

❷ In geval van een lage parasitemie wordt het aantal parasieten per 200 (of 500) WBC's in de dikke druppel geteld.

Praktijk in Nederland:

- De meeste Nederlandse laboratoria tellen **uitsluitend** in het uitstrijkpreparaat.
- Lage parasitemiën worden opgegeven als $< 0.1\%$

SKML-rondzendingen 2007

ronde 2007-2:

A: marge: 0.2 – 0.6 61/85 goed; 17 ↑; 3 ↓.

B: marge: 0.2 - 0.7 64/85 goed; 12 ↑; 4 ↓.

ronde 2007-3:

A: marge: < 0.1 56/58 goed; 1 x 0.003; 1 x < 1 .

B: marge: < 0.1 71/73 goed

ronde 2007-4:

A: marge: 0.3 – 1.3 80/86 goed; 3 ↑; 1 ↓.

B: marge: 0.1 – 0.7 74/82 goed; 1 ↑; 5 ↓.

Conclusie: bij zeer lage waarden veel correcte tellingen vanwege de < 0.1
bij waarden hoger dan 0,1 % veel tellingen te hoog/te laag

► Tellen van geparasiteerde RBC in het uitstrijkje

- Geteld wordt het aantal geïnfecteerde ery's per **10.000 RBC**
- Het resultaat wordt uitgedrukt in procenten (per 100).

❶ Tel het gemiddeld aantal RBC's per gezichtsveld (=X)

- Er bestaan oculair-rasters die het gezichtsveld in vlakken verdelen wat het tellen van het aantal RBC's per gezichtsveld vereenvoudigd!
- Let op:
Het aantal RBC's per gezichtsveld is niet bij alle microscopen gelijk maar afhankelijk van de oppervlakte van het gezichtsveld. Op het oculair staan aanduidingen voor de oculaire vergroting (A) en voor het gezichtsveld (B) (AxB).
- Begin pas met tellen van de geparasiteerde RBC's en de gezichtsvelden wanneer je de eerste geïnfecteerde RBC hebt gevonden.

❷ Tel het aantal **geparasiteerde RBC's** (= N) (óók als een RBC meerdere trofozoieten bevat!) en het aantal gezichtsvelden (Y) Het percentage geparasiteerde RBC's (N) in Y gezichtsvelden (X x Y = 10.000 RBC's) is dan:

$$N : 10.000 \times 100\% = \dots\dots\%$$

Wat kan er mis gaan?

- Er wordt een te klein aantal RBC's geteld
- De schatting van het aantal RBC's per gezichtsveld klopt niet.
- Artefacten worden meegeteld?
- ?
- Omrekening van telling in de dikke druppel naar percentage?

► Tellen van malaria-parasieten in de dikke druppel

- In de dikke druppel wordt het aantal parasieten geteld in relatie tot 200 of 500 WBC's.

Zoek een parasiet en begin met tellen van:

- het aantal parasieten (N)
- het aantal WBC's (200 of 500)

Tel in geval van een **hoge** parasietendichtheid het aantal malariaparasieten ten opzicht van 200 witte bloedcellen (> 10 parasieten per 200 WBC)

Tel in geval van een **lage** parasietendichtheid het aantal malariaparasieten ten opzicht van 500 witte bloedcellen (< 10 parasieten per 200 WBC)

- Stel het aantal WBC's per μl bloed is 6000:
dan kunnen we het aantal parasieten per μl berekenen:
aantal parasieten per μl is:
☞ **aantal getelde parasieten x 6000 gedeeld door aantal WBC's (200 of 500)**
Weet je het aantal per μl dan kun je dat omrekenen naar %!

Opmerking:

het aantal parasieten in de dikke druppel is altijd lager dan het aantal geparasiteerde RBC in de uitstrijk (zie *²)

Literatuur:

*¹) Lyke, K.E., D.A. Diallo e.a. 2003. Association of interleukocytic *Plasmodium falciparum* malaria pigment with disease severity, clinical manifestations, and prognosis in severe malaria. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 69: 253-259

*²) O'Meara *et al.* *Malaria Journal* 2006 5:118 doi:10.1186/1475-2875-5-118