



Εργαστηριακή διάγνωση της ελονοσίας

**Ε.Βασσάλου, Pharm D, MPH, MSc, Dipl.Trop. Med.,
Υπεύθυνη Εργαστηρίου Παρασιτολογίας και
Τροπικών Νόσων ΕΣΔΥ**

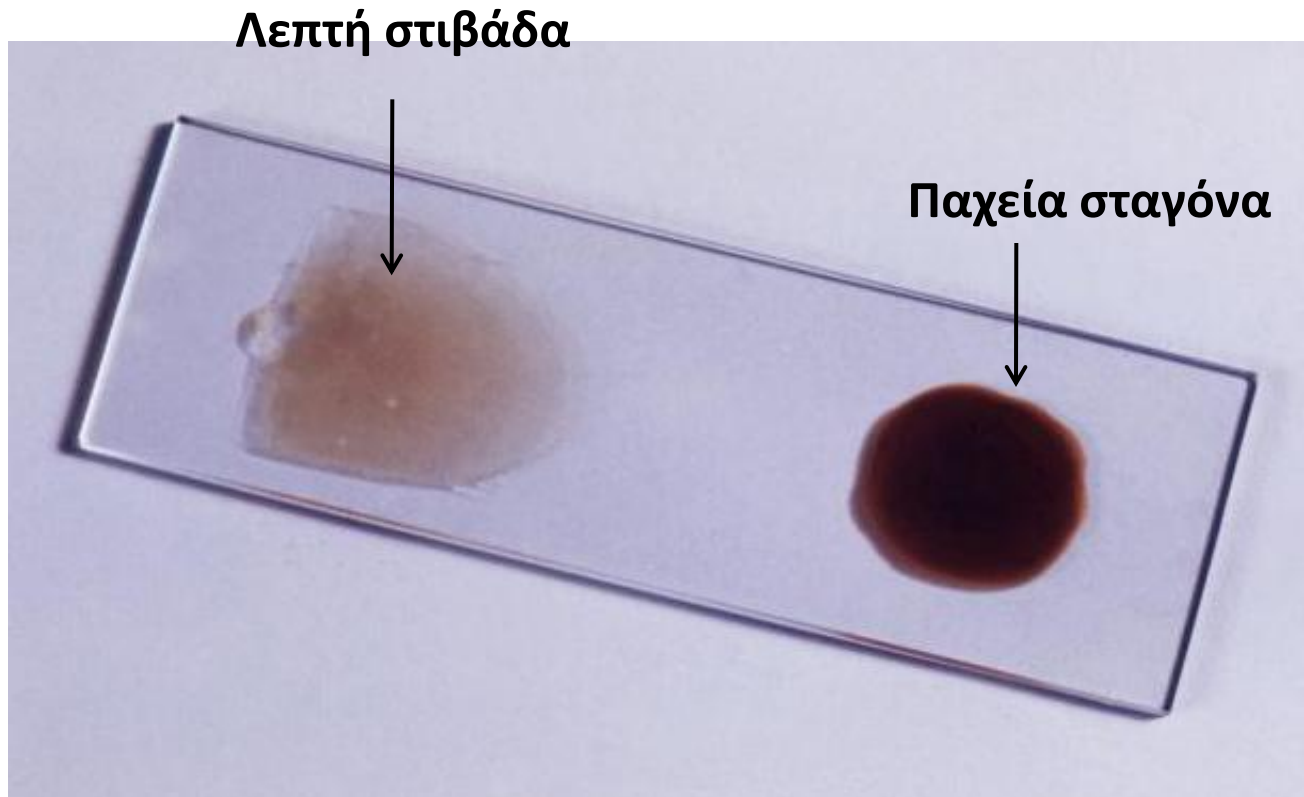
- Το πρόσφατο ταξίδι σε ενδημική περιοχή δεν είναι **πάντα** απαραίτητη προϋπόθεση για να τεθεί η υποψία ελονοσίας.
- Υπάρχουν περιστατικά, ακόμη και από *Plasmodium falciparum*, 3 ακόμη και 4 χρόνια μετά την επιστροφή από μια ενδημική περιοχή. Αυτό συμβαίνει συχνά με το *Plasmodium vivax*
- Δεν πρέπει να λησμονούνται οι περιπτώσεις ελονοσίας των αεροδρομίων ή μετά από μετάγγιση

Απαιτούμε κατ' αρχάς δείγμα αίματος επί πυρετού.

A. Μικροσκοπική εξέταση χρωματισμένων με Giemsa παρασκευασμάτων λεπτής στιβάδος ή παχείας σταγόνας.

1/2 ώρα ανά επίχρισμα σε καταδυτικό φακό (X100)

Αν και είναι πιο δύσκολο να διαβαστεί, η παχεία σταγόνα είναι πιο ευαίσθητη στην ανίχνευση παρασίτων της ελονοσίας, επειδή επιτρέπει την εξέταση μεγαλύτερης ποσότητας αίματος



(CDC - Public Health Image Library (PHIL), #5901)

- **Αξιολόγηση της παρασιταϊμίας, ιδιαίτερα από *Plasmodium falciparum***
- **Αναζήτηση των πλασμοδίων που προσβάλλουν τον άνθρωπο, αλλά και λοιπών παρασίτων του αίματος**
- **Έμμεσων αιματολογικών εκδηλώσεων της ελονοσίας (σχετική θρομβοπενία σε συνδυασμό με την παρουσία διεγερμένων λεμφοκυττάρων)**





♂ ♀

P. vivax



♀

P. malariae



♀ ♂

P. falciparum



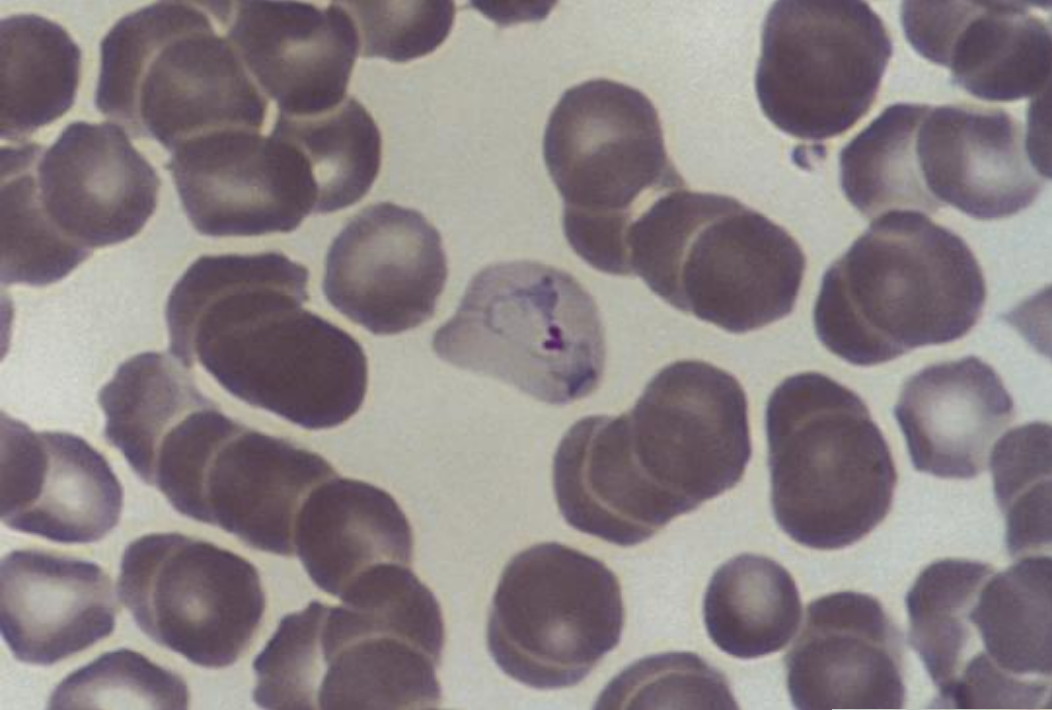
♀

P. ovale

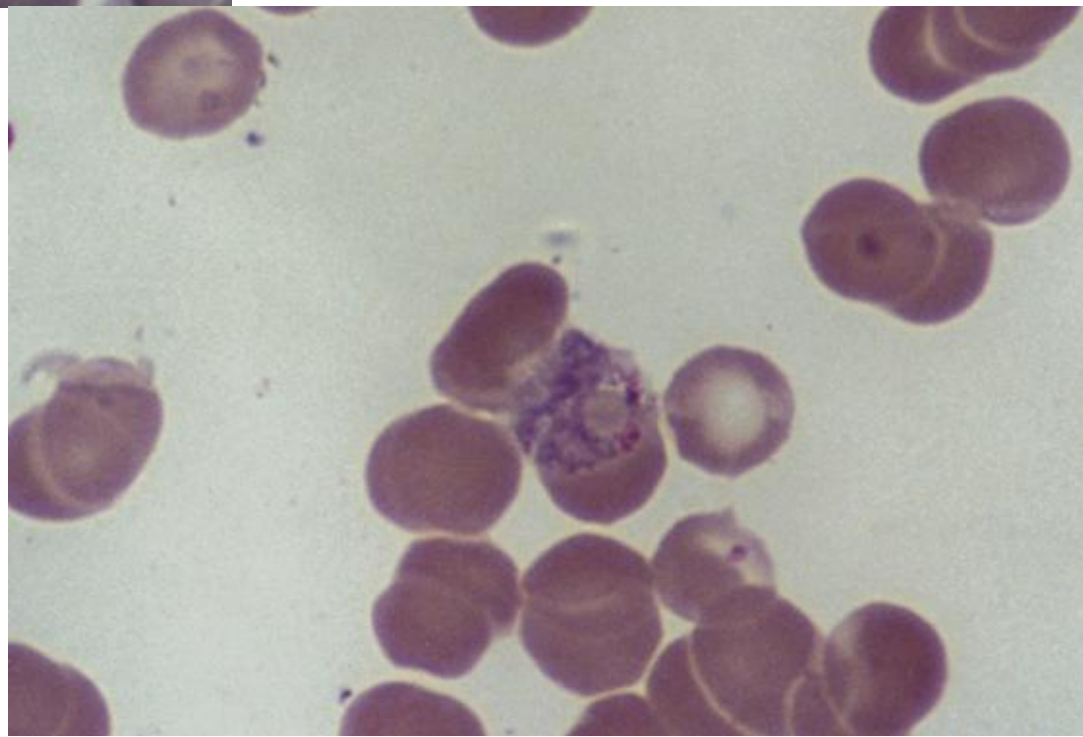
Συνήθη χαρακτηριστικά σε παρασιτούμενα από πλασμώδια ερυθρά

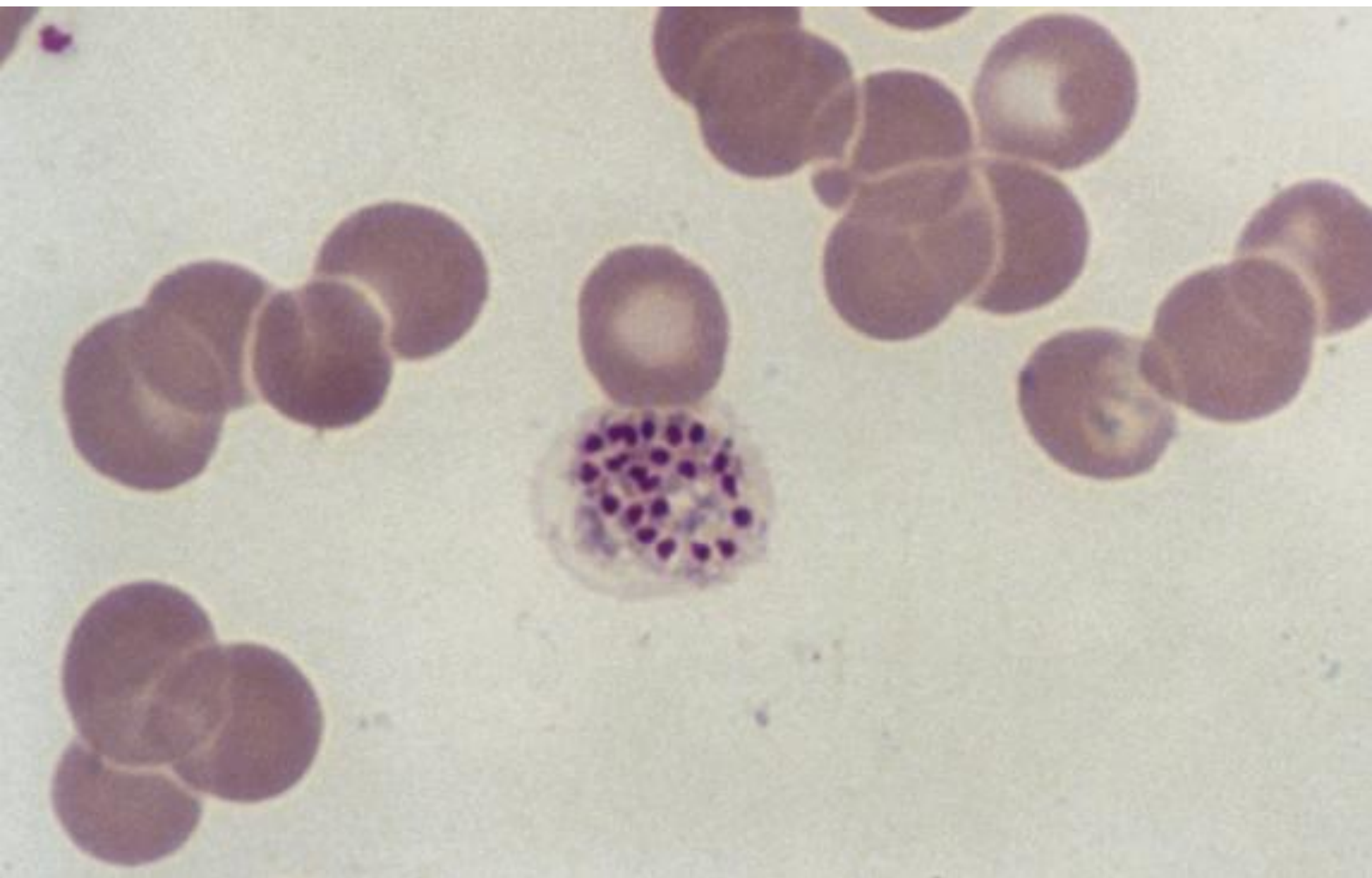
| | <i>P. falciparum</i> | <i>P. vivax</i> | <i>P. ovale</i> | <i>P. malariae</i> |
|--|----------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Ερυθρά μεγεθυσμένα | - | + | Ποικίλει | - |
| Ερυθρά μεγεθυσμένα + κοκκίωση Süffner | - | + | + | - |
| Ερυθρά κανονικά | + | - | Ποικίλει | + |
| Ερυθρά κανονικά + κοκκία Mauer | + | - | - | - |
| Ερυθρά ωσειδή (με οδοντωτή παρυφή) | - | - | + | - |
| Επικυττάριας μορφές πλασμωδίων | + | Σπάνια | - | - |
| Ταινιοειδείς μορφές | - | - | - | + |
| Πολλαπλή μόλυνση ερυθρών | + | Σπάνια | - | - |
| Γαμετοκύτταρα ημισεληνοειδή | + | - | - | - |
| Μεροζωΐδια στα ώριμα σχιστά * | 8-24 | 16-20 | 6-12 | 8-12 |
| Παρουσία όλων των σταδίων στο περιφερικό αίμα | -** | + | + | + |

- * *P. falciparum* : Σπανιότατα βρίσκονται στο περιφερικό αίμα
P. vivax : Τα μεροζωΐδια κατανέμονται ανώμαλα
P. malariae : Τα μεροζωΐδια κατανέμονται ομαλά (σαν μαργαρίτα)
- ** Βρίσκονται μόνο δακτυλιοειδείς μορφές και γαμετοκύτταρα.

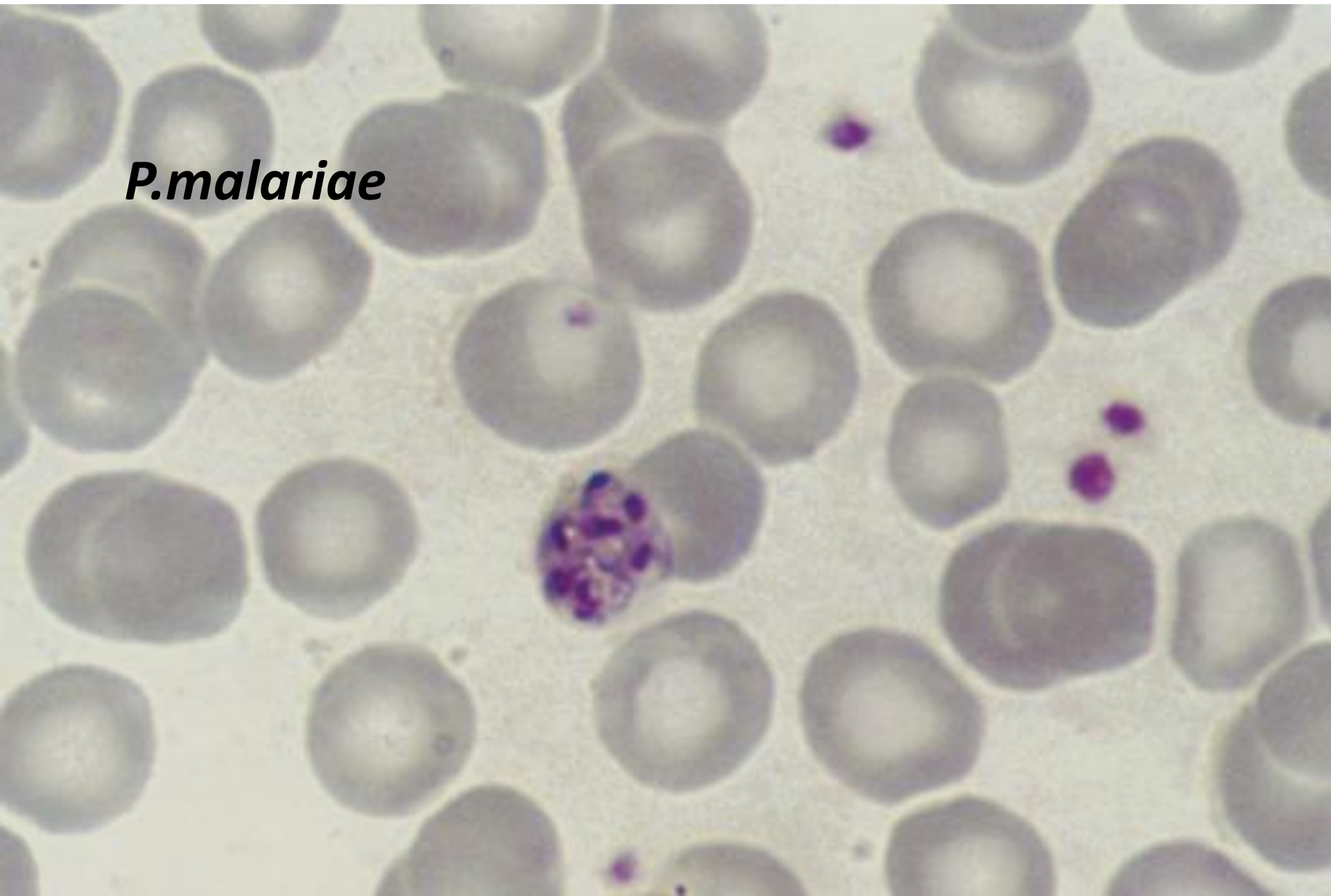


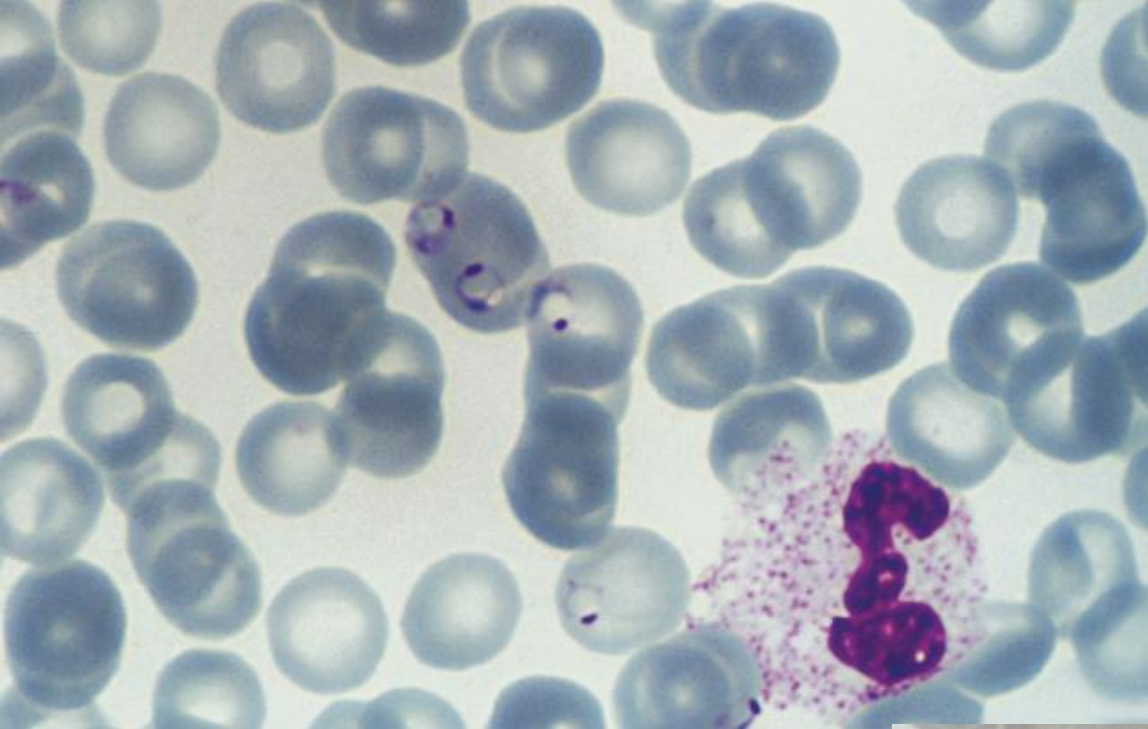
P.vivax



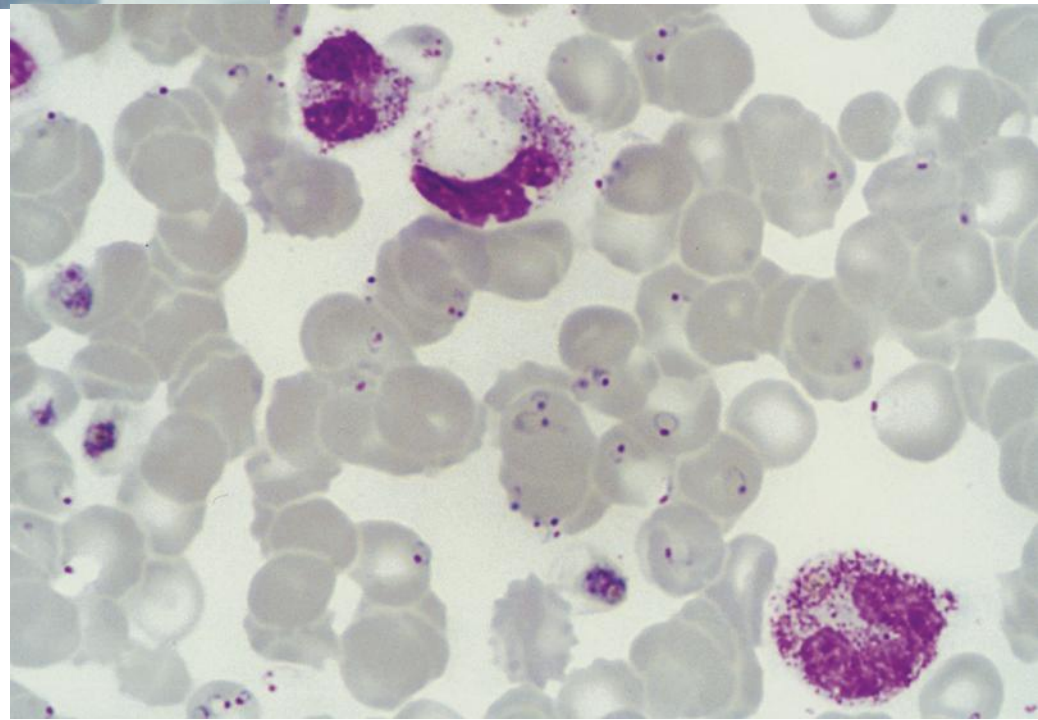


P.malariae

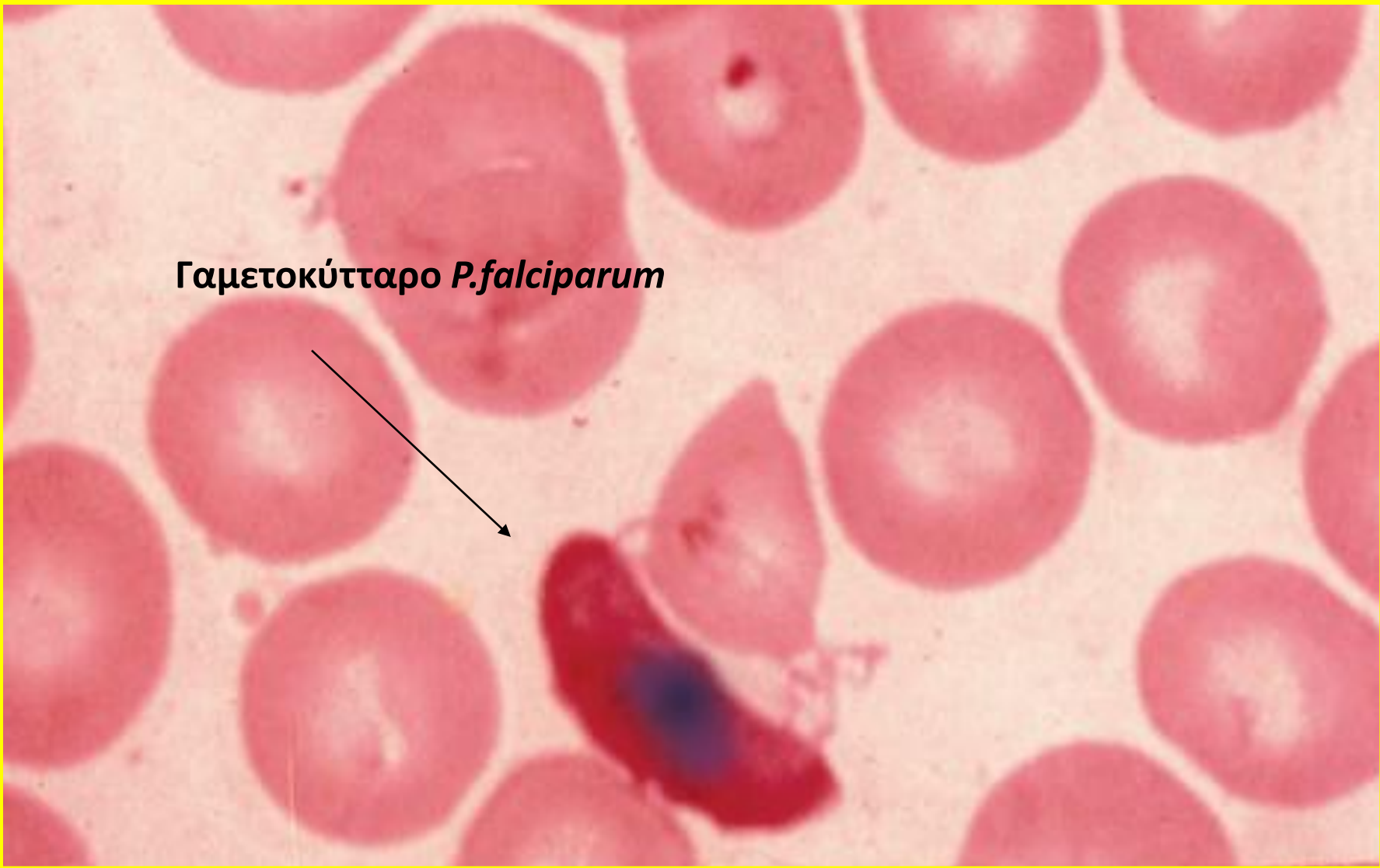
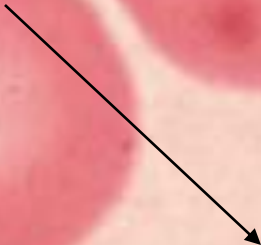




P.falciparum



Γαμετοκύτταρο *P.falciparum*



- Αν δεν επιτευχθεί η ανεύρεση μιας χαρακτηριστικής για το είδος μορφολογία (γαμετοκύτταρα του *Plasmodium falciparum*, αμοιβαδοειδής τροφοζωΐτης του *de Plasmodium vivax*, ζώνη ή ροζέττα του *Plasmodium malariae*), τότε η ταυτοποίηση του είδους μπορεί να γίνει μόνο εξ αποκλεισμού

Προσδιορισμός της παρασιταιμίας

Α) σε παρασκεύασμα λεπτής στιβάδας. Μετρώνται 1000 ερυθρά αιμοσφαίρια και συγχρόνως καταμετρώνται τα ερυθρά με ενδοερυθροκυτταρικά παράσιτα. Η σχέση εκφράζεται επί τοις %.

β) σε παρασκευάσματα παχείας σταγόνας, τα πλασμώδια υπολογίζονται σε σχέση με τα λευκά αιμοσφαίρια. Γίνεται μέτρηση 200 λευκών και συγχρόνως των πλασμωδίων στα αντίστοιχα οπτικά πεδία.

Αριθμός πλασμωδίων/μl:
$$\frac{\text{αριθμός πλασμωδίων} \times \text{αριθμό λευκών αίματος}}{\text{Αριθμός λευκών που μετρήθηκαν}}$$

Στο *P. vivax* είναι συνήθως 20.000 πλασμώδια/μl περίπου (< 50.000)

Στο *P. falciparum* φθάνει τις 500.000/μl

Στο *P. malariae* είναι περίπου 20.000/μl

Η σημασία του προσδιορισμού της παρασιταιμίας είναι σχετική: άτομα που προέρχονται από ενδημικές περιοχές και έχουν αναπτύξει προάσπιση μπορεί να φιλοξενούν πλασμώδια (ακόμη και 10.000/μl χωρίς να παρουσιάζουν συμπτώματα ελονοσίας, ενώ σε απουσία οιασδήποτε ειδικής ανοσίας, η παρουσία ακόμη και ελάχιστων παρασίτων στο αίμα συνεπάγεται και μια λοίμωξη οξεία, χρόνια ή σε επώαση

Διαγνωστικό πρόβλημα σε περιπτώσεις χαμηλής παρασιταιμίας

- 1 ή 2 παρασιτούμενα ερυθρά σε 1 ή 2 επιχρίσματα αίματος με παρουσία πχ νεαρών τροφοζωϊτών *Plasmodium vivax* (χωρίς κοκκίωση Schuffner) που δύσκολα ξεχωρίζουν από ώριμους τροφοζωϊτες *Plasmodium falciparum*. Σε αυτή τη περίπτωση θα πρέπει να γίνει αναζήτηση του αντιγόνου HRP2 του *Plasmodium falciparum* ή να προωθηθεί το δείγμα για PCR η οποία και θα επιτρέψει τη σίγουρη διάγνωση του είδους.
- **Εν αναμονή της οριστικής απάντησης στον ασθενή θα πρέπει να χορηγείται κάποιο ιδιοσκεύασμα που να είναι αποτελεσματικό και για τα δύο είδη.**

B. RDTs (Rapid Diagnostic Tests)

Negative result



P. vivax / *P. malariae* /
P. ovale



P. falciparum



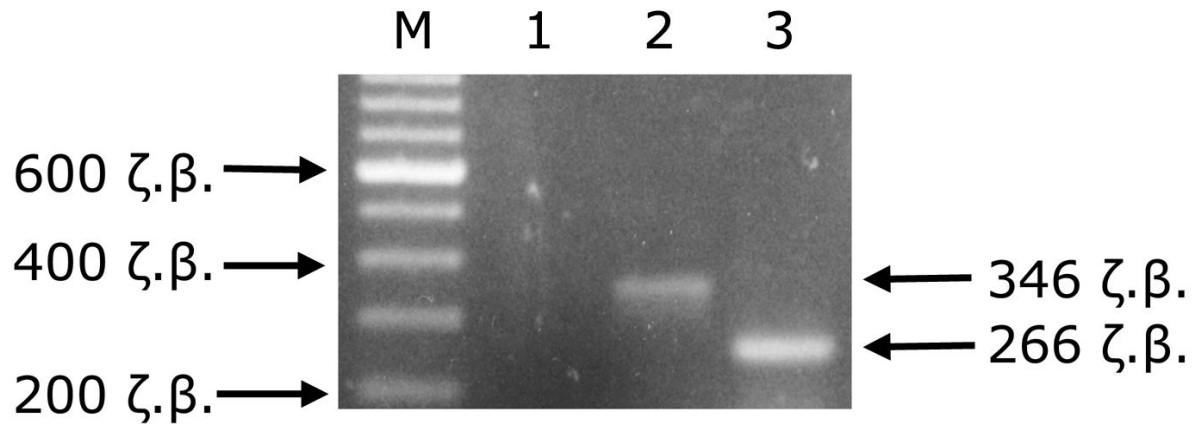
Ανοσοχρωματογραφία

Ανίχνευση αντιγόνου

HRP-2 (*P. falciparum*)

pLDH (λοιπά πλασμώδια)

Γ. PCR για ανίχνευση πλασμιδίων



:

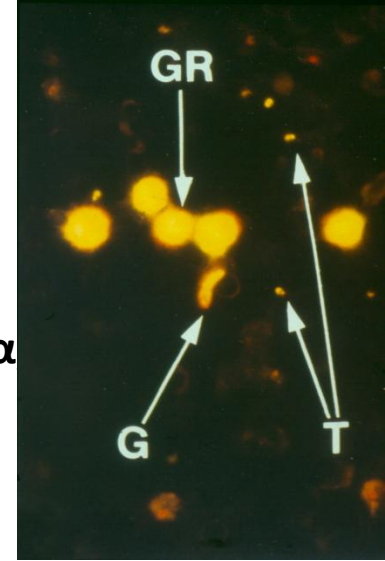
στήλη 2. *P.falciparum* (προϊόν 346 ζ.β.)

3. *P.vivax* (προϊόν 266 ζ.β.)

| | Παχεία σταγόνα | Επίχρισμα αίματος | Ανίχνευση διαλυτών αντιγόνων | PCR |
|---------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---|---|
| Απαιτούμενος χρόνος | 2h-2h 30 | 29-30 min | 5-10 min | 24h |
| Χρόνος ανάγνωσης | Μακρύς | Μακρύς | Στιγμιαίος | Στιγμιαίος |
| Ευχέρεια ανάγνωσης | Δύσκολη | Κάποτε δύσκολη | Εύκολη | Εύκολη |
| Διάγνωση είδους παρασίτου | Ναι | Ναι | <i>P.falciparum</i> ή <i>P.falciparum/P.vivax,P.malariae, P.ovale</i> | <i>P.falciparum / P.vivax</i> |
| Ειδικός εξοπλισμός | Πλακάκια και οπτικό μικροσκόπιο | Πλακάκια και οπτικό μικροσκόπιο | Όχι | Θερμοκυκλοποιητήρ, συσκευή ηλεκτροφόρησης |
| Κόστος | Χαμηλό | Χαμηλό | 8 Ευρώ/ δείγμα | 3 Ευρώ/δείγμα |
| Ευαισθησία | 10-20 παρασ/μl | 100-300παρασ/μl | 63-1290 παρασ/μl | |

ο ορολογικός έλεγχος έχει τρεις ενδείξεις

- Σε πυρετό αγνώστου αιτιολογίας μετά από ταξίδι σε ενδημική περιοχή: όταν ο ασθενής έχει λάβει μια ακαταστατη χημειοπροφύλαξη ή όταν η θεραπεία άρχισε πριν ληφθεί το δείγμα τότε η παρασιταϊμία μπορεί να μην γίνει αντιληπτή. Θετικός τίτλος αντισωμάτων συχνά επιτρέπει το προσδιορισμό της αιτίας του πυρετού , ενώ η απουσία αντισωμάτων αποκλείει την ελονοσία.
- Σε κέντρα αιμοδοσίας μη ενδημικών περιοχών. Οι αιμοδότες που ταξίδεψαν πρόσφατα σε ενδημικές περιοχές μπορεί να είναι φορείς παρασίτων χωρίς να παρουσιάζουν πυρετικές κρίσεις. Σε αυτή τη περίπτωση θα πρέπει να αποκλεισθεί μια ασυμπτωματική παρασιταϊμία ή μια λοίμωξη σε επώαση.
- Σε επιδημιολογικές μελέτες: ο μέσος όρος του τίτλου των αντισωμάτων σε ένα δείγμα του πληθυσμού επιτρέπει την αξιολόγηση της έντασης της επαφής με τα παράσιτα, που αποτελεί και το δείκτη της μετάδοσης της ελονοσίας σε μια περιοχή .



Οι γενικές εργαστηριακές εξετάσεις είναι απαραίτητες για να ελέγχεται η τυχόν εμφάνιση σοβαρών μορφών ελονοσίας

Αιμολυτική αναιμία: η αιμόλυση είναι παρούσα σε όλες τις μορφές της ελονοσίας, εξ ου και η αιμολυτική αναιμία (νορμόχρωμη ή υπόχρωμη, φαίνεται από την αιμοσφαιρίνη ($< 7 \text{ g/dl}$), τον αιματοκρίτη και τον αριθμό των ερυθρών), το ουροχολινογόνο στα ούρα και η μείωση της αιπτοσφαιρίνης και η αύξηση της χολερυθρίνης στο πλάσμα

Γλυκαιμία: η βαριά ελονοσία από *P. falciparum* προκαλεί υπογλυκαιμία, που την επιβαρύνει η υπογλυκαιμική δράση της κινίνης ($< 0,40 \text{ g/l}$).

Ηπατική λειτουργία: αν και χωρίς κλινικά σημεία, παρατηρείται αύξηση της LDH και της SGPT. Η σχέση αλβουμίνης/σφαιρίνης στον ορό πέφτει εξ αιτίας της υπερπαραγωγής αντισωμάτων. Η χοληστερόλη πέφτει και τα τριγλυκερίδια ανεβαίνουν.

Νεφρική λειτουργία: ελέγχονται η ουρία ($> 0,60 \text{ g/l}$) και η κρεατινίνη ($> 30 \text{ mg/l}$). Συνήθως το πρόβλημα εμφανίζεται στα χρόνια περιστατικά. Το *P. malariae* ενοχοποιείται και για ένα νεφρωτικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από υψηλή λευκωματουρία που συνοδεύεται από υπολευκωματιναιμία ($< 30 \text{ g/L}$)