

ΠΑΡΑΣΙΤΑ ΝΕΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Ν. Βακάλης
Εθνική Σχολή
Δημόσιας Υγείας



Parasitologists lost?

Guy Barnish, William Crewe and R. David Theakston

Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, UK, L3 5QA

In March 1898, Joseph Chamberlain, Secretary of State for the Colonies, wrote to the General Medical Council and the leading medical schools of the UK pointing out 'the importance of ensuring that all medical officers selected for appointments in the Tropics should enter on their careers with the expert knowledge requisite for dealing with such diseases that are prevalent in tropical climates, and that it

It is of great concern that the teaching of the need for, and the skills of, basic diagnostic parasitology seem to be under threat. In the past, there have always been enough parasitologists available to teach this important subject to medical and paramedical students who either come from the Third World to obtain appropriate experience in treating tropical diseases, or have originated in the developed countries and wish to spend time working with and for the



ΕΞΕΛΙΞΗ
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ

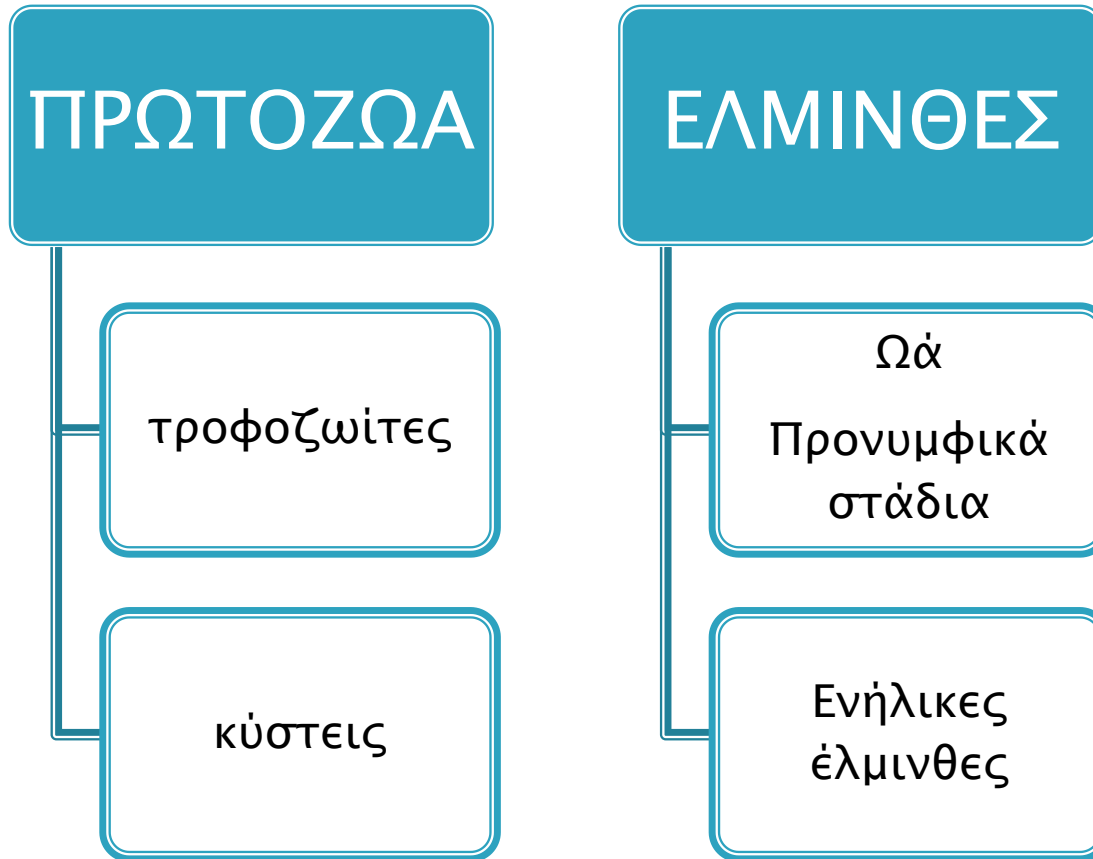
ΣΧΕΣΗ ΝΕΩΝ
ΜΕΘΟΔΩΝ ΜΕ ΤΗ
ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ
ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ

ΤΙ ΧΡΕΙΑΖΕΤΑΙ ΝΑ ΓΙΝΕΙ

ΘΕΜΑΤΑ ΠΟΥ ΑΠΑΣΧΟΛΟΥΝ

- ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ
- Συμβατική Παρασιτολογική εξέταση
- Μέθοδοι Μοριακής Βιολογίας
- Ταχείες μέθοδοι
- Οροδιαγνωστική
- ΠΟΙΟΙ ΚΑΙ ΠΩΣ ΑΣΧΟΛΟΥΝΤΑΙ
- Νοσοκομεία και εξειδικευμένα εργαστήρια
- Μικρές Μονάδες Υγείας
- Ιδιωτικά εργαστήρια

ΔΕΙΓΜΑΤΑ: ΚΟΠΡΑΝΑ, ΑΙΜΑ, ΙΣΤΟΙ, ΑΛΛΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΥΓΡΑ



ΘΑ ΑΣΧΟΛΗΘΟΥΜΕ ΜΕ ΤΑ ΚΥΡΙΟΤΕΡΑ ΠΑΡΑΣΙΤΑ ΠΟΥ ΜΑΣ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΥΝ .

Πίνακας 2 Συνήθη ερωτήματα σχετικά με τα χρησιμοποιούμενα μονιμοποιητικά / συντηρητικά διαλύματα κοπράνων.

	10% Φορμαλίνη	PVA	SAF	MIF
1. Τι μορφές παρασίτων μονιμοποιεί;	Κύστεις Ωάρια Προνύμφες	Όλες	Τροφοζώιτες Κύστεις Ωάρια	Όλες
2. Τι δεν συντηρεί;	Τροφοζώιτες	Προνύμφες Ωάρια ;	Προνύμφες	
3. Από το εναιώρημα κοπράνων-μονιμοποιητικού διαλύματος μπορούμε να δούμε νωπό παρασκεύασμα;	ΝΑΙ (κυρίως μετά από εμπλουτισμό)	ΟΧΙ	ΝΑΙ (Άμεσο ή μετά από εμπλουτισμό)	ΝΑΙ (Άμεσο ή μετά από εμπλουτισμό)
4. Μπορούν να ακολουθήσουν μέθοδοι εμπλουτισμού;	ΝΑΙ (φυγοκέντρηση – επίπλευση)	ΝΑΙ φυγοκέντρηση	ΝΑΙ φυγοκέντρηση	ΝΑΙ Φυγοκέντρηση
5. Μπορούμε να κάνουμε μόνιμα χρωματισμένα παρασκευάσματα με τρίχρωμη χρώση ή I-H* Πόσο καλή απόδοση έχουν οι χρωστικές;	ΟΧΙ**	ΝΑΙ Τρίχρωμη: Πολύ καλή I – H : Πολύ καλή	ΝΑΙ Τρίχρωμη: Μέτρια I – H : Πολύ καλή	ΝΑΙ Τρίχρωμη: Πολύ καλή I – H : Καλή

* I – H : Σιδηρούχος αιματοξυλίνη

** εξαιρούνται οι ειδικές χρώσεις για κρυπτοσποριδίου, μικροσποριδίου και κυκλόσπορα.

ΠΑΡΑΣΙΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

ΣΥΝΟΠΤΙΚΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΕΝΕΡΓΕΙΩΝ ΠΟΥ ΓΙΝΟΝΤΑΙ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΡΟΣΦΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΜΕΝΑ ΣΕ ΡVA ΚΑΙ ΦΟΡΜΟΛΗ 10%

Πρόσφατο δείγμα

Άμεση εξέταση παρασκευασμάτων, σε φυσιολογικό ορό και διάλυμα ιωδίου

Μέρος του πρόσφατου δείγματος φυλάσσεται στην κατάψυξη για εφαρμογή **ανοσολογικών μεθόδων ή τεχνικών μοριακής βιολογίας**

Δείγμα κοπράνων σε φορμαλίνη 10%

Εμπλουτισμός

Άμεση εξέταση

•Άμεσος ανοσοφθορισμός (λάμβλιες-κρυπτοσπορίδια)*
•Τροποποιημένη τρίχρωμη [trichrome blue] (μικροσπορίδια)*

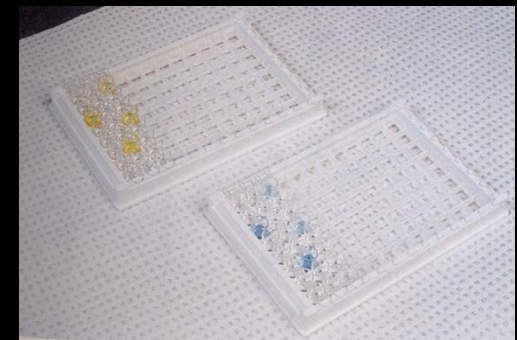
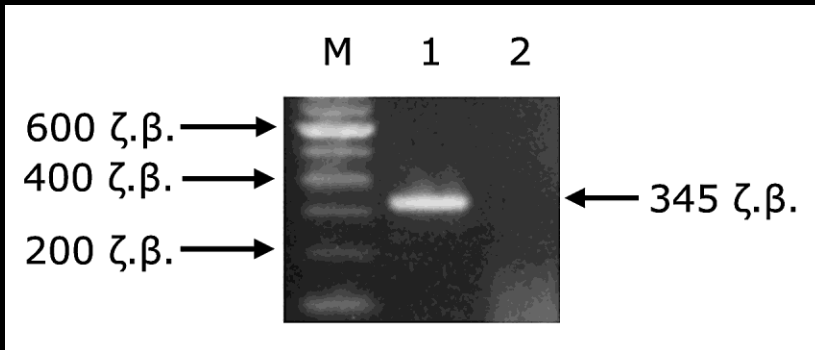
•Νωπό

(πρωτόζωα και έλμινθες)
•Τροποποιημένη οξεάντοχη χρώση (κρυπτοσπορίδια-ισόσπορα-κυκλόσπορα)
•Άλλες ειδικές μέθοδοι πχ. Χρώση σαφρανίνης (κυκλόσπορα)*
•Άμεσος ανοσοφθορισμός (λάμβλιες-κρυπτοσπορίδια)*

Δείγμα κοπράνων σε ΡVA

Τρίχρωμη χρώση (πρωτόζωα)

Η εργαστηριακή προσέγγιση θα γίνει με
μικροσκοπική αναζήτηση παρασίτων



Οροδιαγνωστική

Μεθόδους Μοριακής Βιολογίας

Απεικονιστικές
μεθόδους



Συχνότητας παρασίτων σε διάρροιες

- Giardia
- Entamoeba histolytica
- Strongyloides
- Ascaris
- Hookworm
- Tapeworm
- Trichuris -Enterobius
- Cryptosporidium-Cyclospora ..

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΡΩΤΟΖΩΝ

ΠΙΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΠΑΘΟΓΟΝΑ

Entamoeba histolytica

Giardia lamblia

Cryptosporidium hominis (C parvum)

ΣΠΑΝΙΑ ΠΑΘΟΓΟΝΑ Η ΜΕ ΜΙΚΡΗ ΛΟΙΜΟΓΟΝΟ ΔΡΑΣΗ

Blastocystis hominis, Cyclospora cayetanensis

Balantidium coli, Enterocytozoon bieneusi

Dientamoeba fragilis

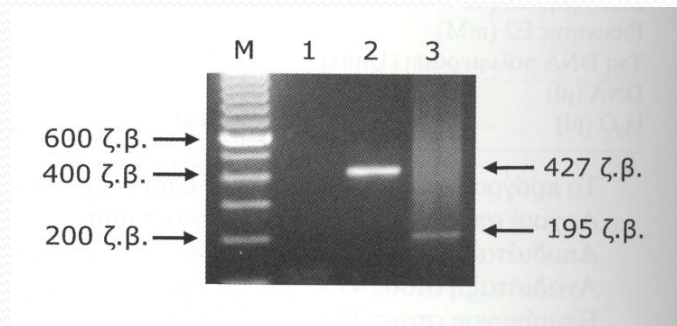
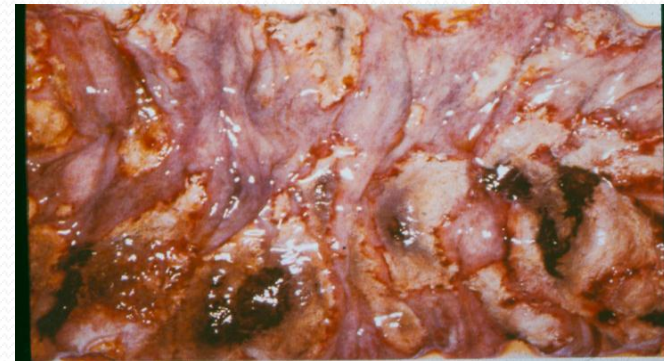
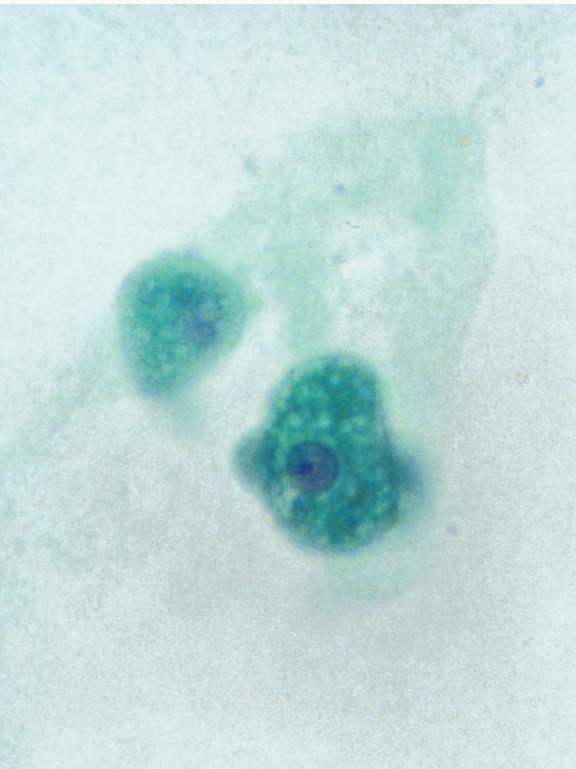
ΜΗ ΠΑΘΟΓΟΝΑ

Entamoeba dispar, Endolimax nana,

Iodamoeba butschlii, Chilomastic mesnili

ΜΕΡΙΚΑ ΠΑΡΑΣΙΤΑ ΤΟΥ ΠΕΠΤΙΚΟΥ

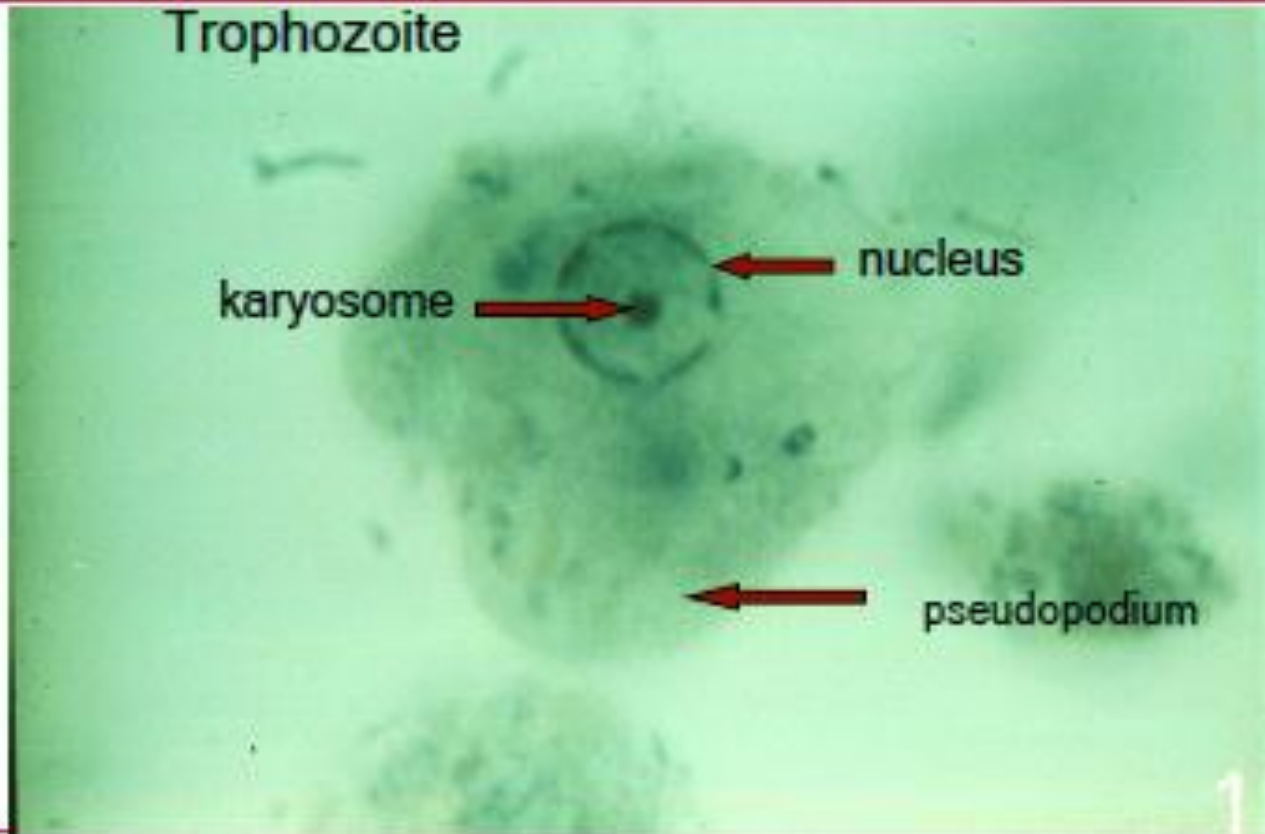
Entamoeba histolytica

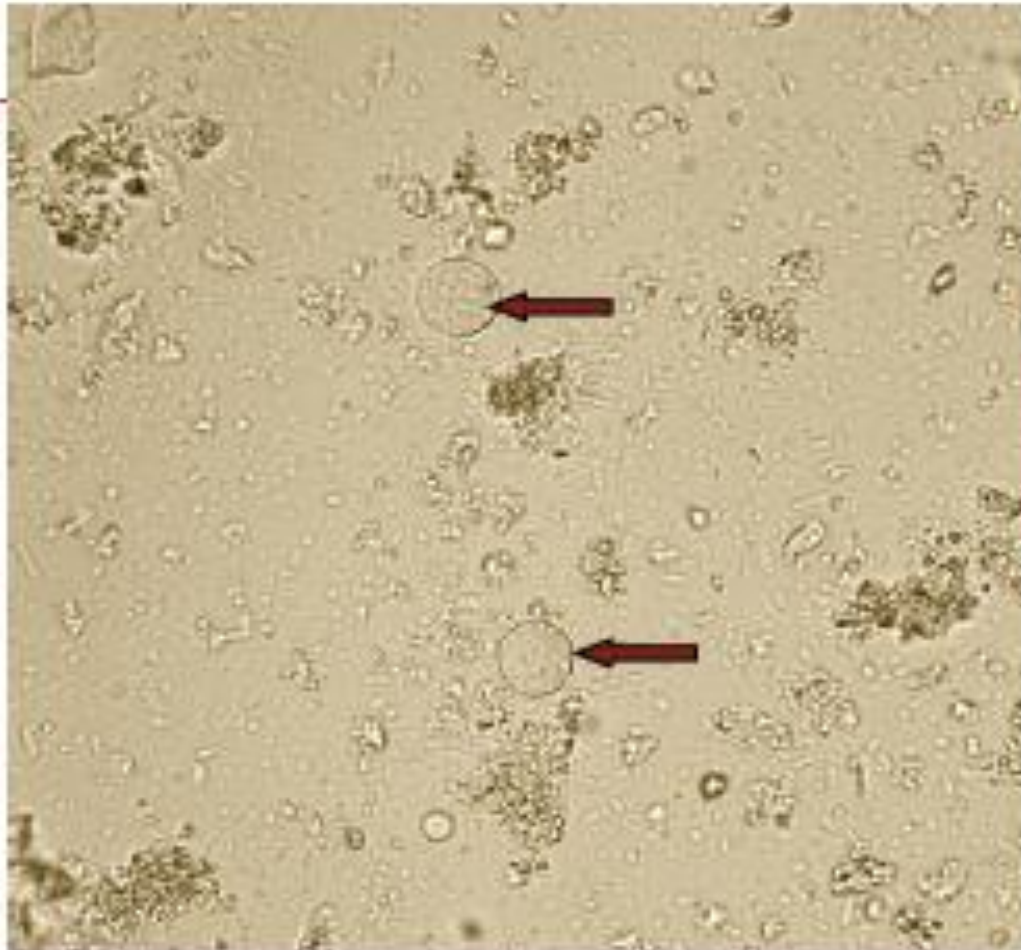


Πρόβλημα : η διάκριση *E. histolytica* και *E. dispar*

Stained trophozoite of *Entamoeba histolytica*

Trophozoite

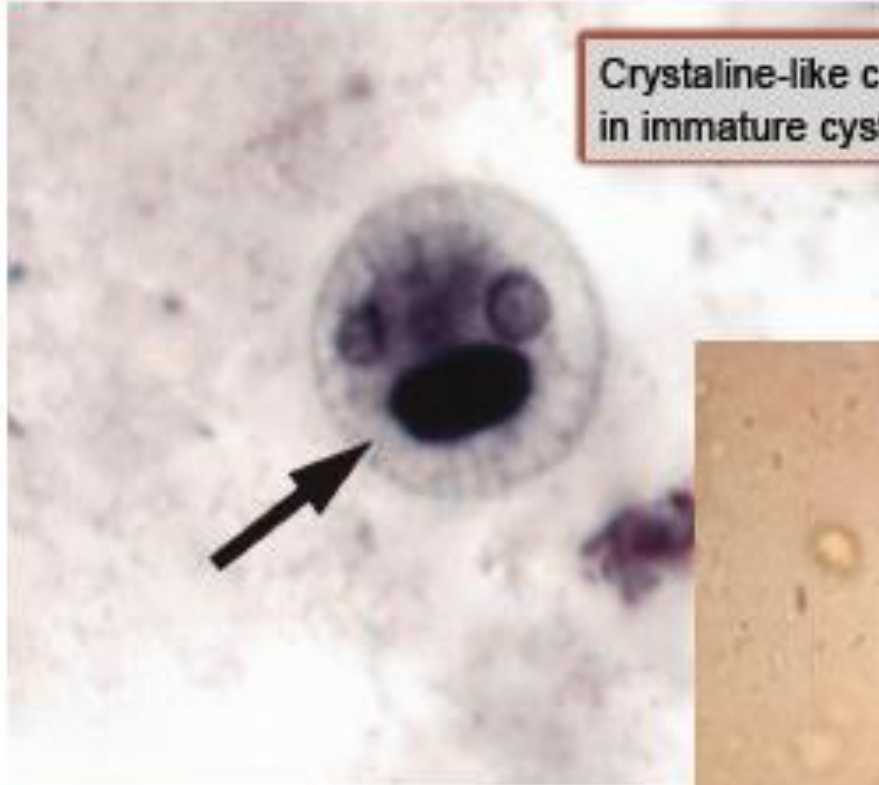




Amoebic cysts
under
x 40 objective

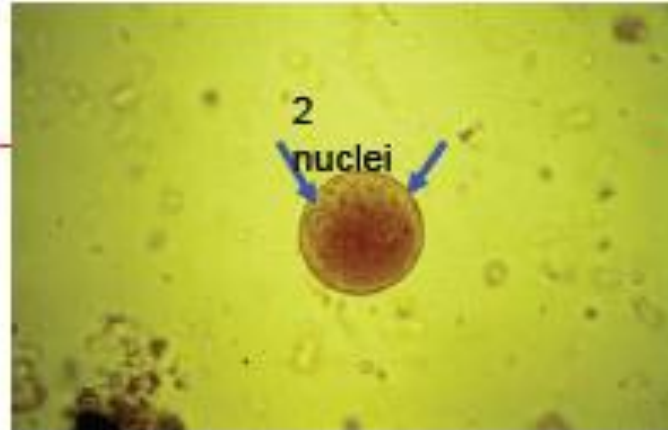
E. histolytica cyst with a chromatoidal bar

Crystalline-like condensation of ribosomes in immature cysts

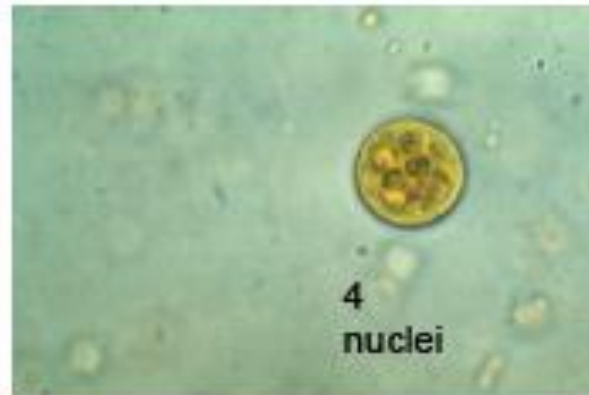


SEM of *E. histolytica* cysts



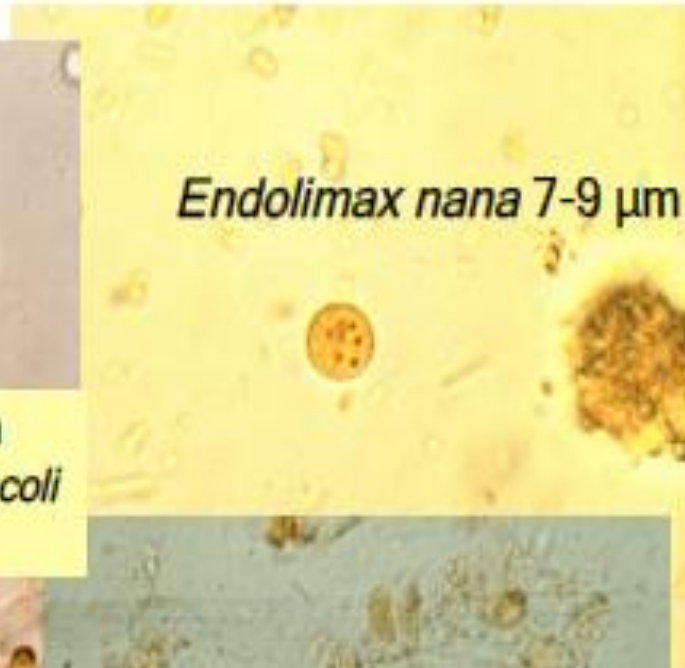


**Amoebic cysts of 10-15 μm
in iodine smears:
E. histolytica?**

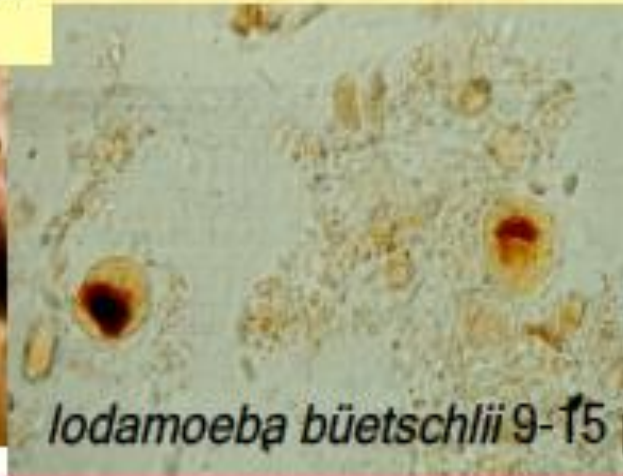
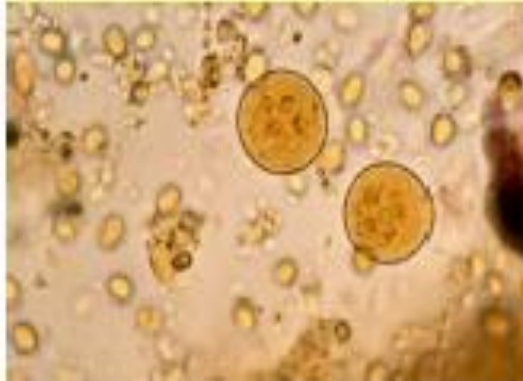




Entamoeba coli 15-25 μm
(sometimes written as *E. coli*
- just to confuse you!)



Endolimax nana 7-9 μm



Iodamoeba büetschlii 9-15 μm

• ΠΟΙΟΣ ΕΙΝΑΙ ΠΙΘΑΝΩΤΕΡΟ ΝΑ
ΜΕΤΑΔΩΣΕΙ
ΤΗΝ ΠΑΡΑΣΙΤΩΣΗ ΣΕ ΑΛΛΟΥΣ?

• ΕΝΑΣ ΑΣΘΕΝΗΣ ΜΕ **ΑΜΟΙΒΑΔΙΚΗ
ΔΥΣΕΝΤΕΡΙΑ**

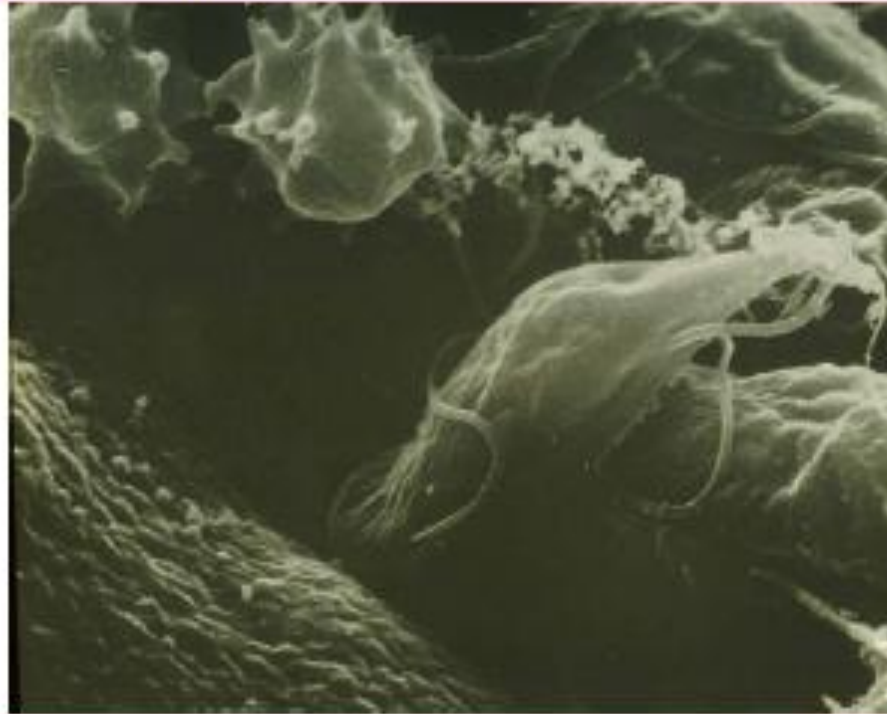
Ή

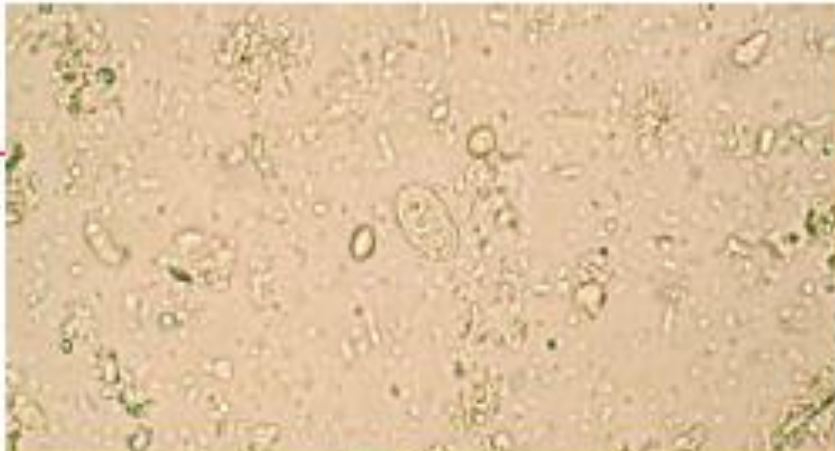
ΕΝΑ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟ ΑΤΟΜΟ

Giardia lamblia



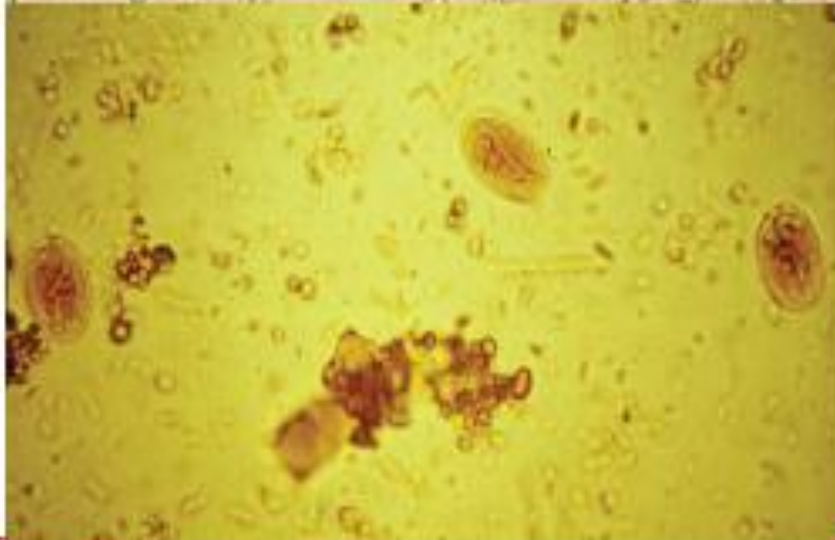
Scanning electron micrograph of *Giardia* trophozoites attached to the intestine wall



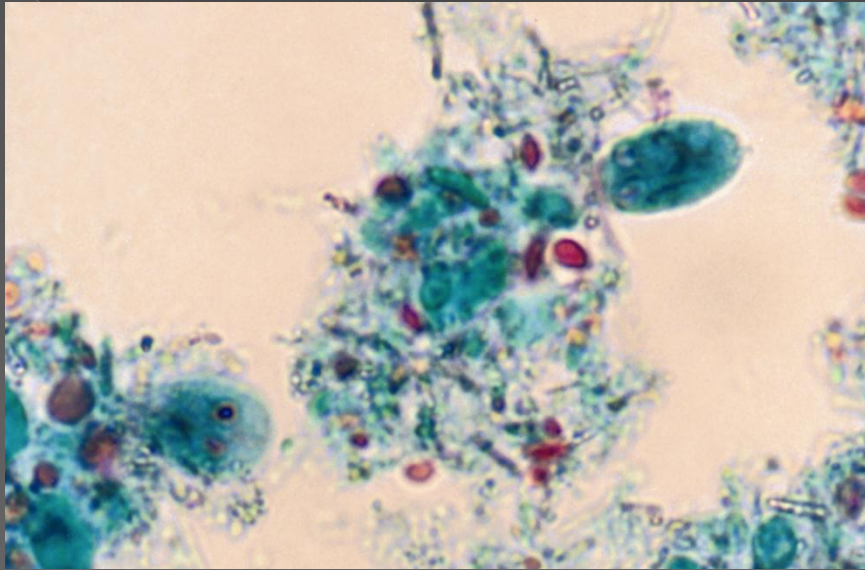


Giardia cysts
under x 40
objective,
10-14 μm

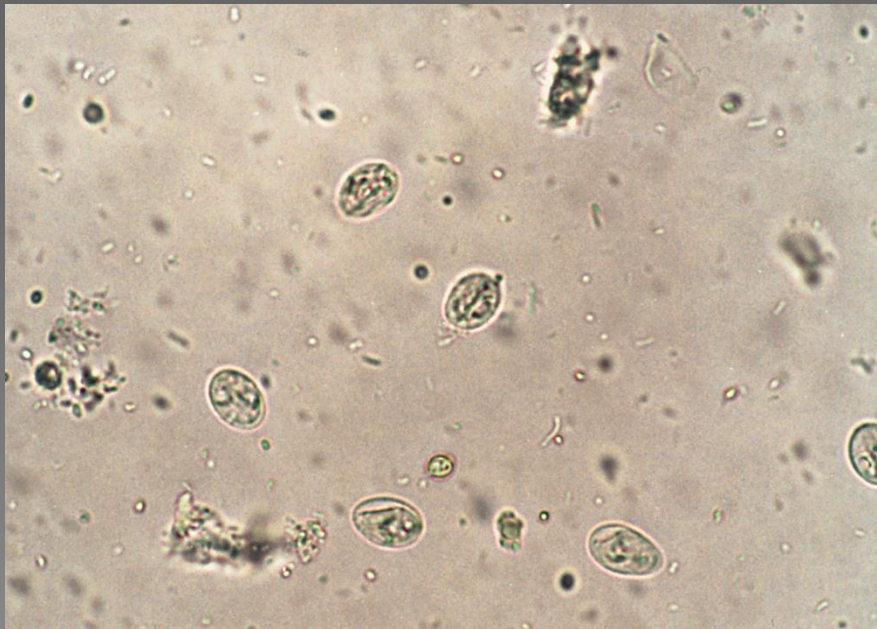
Saline



Iodine

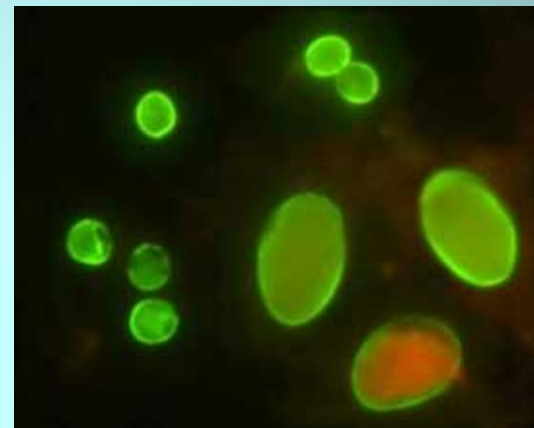
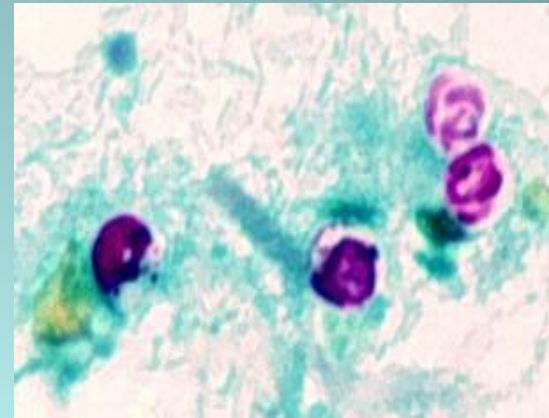
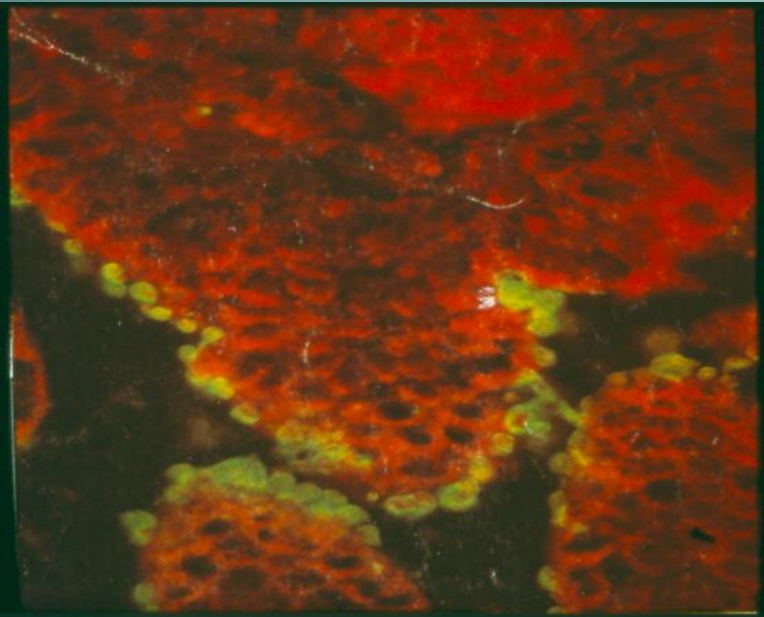


**Κύστεις και τροφοζώιτες *G. lamblia*
με τρίχρωμη χρώση**



**Κύστεις *G. lamblia* σε άμεσο νωπό
παρασκεύασμα μετά από
επίπλευση**

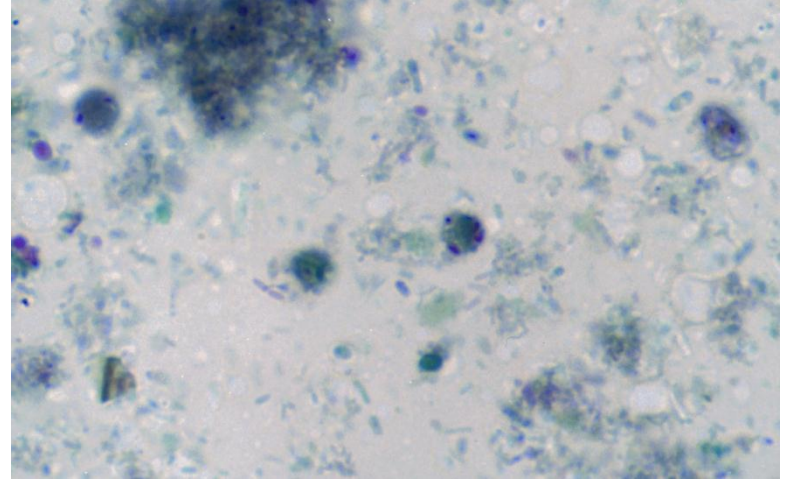
Cryptosporidium



DF Κύστεις *G.lamblia* & *Crypto* →

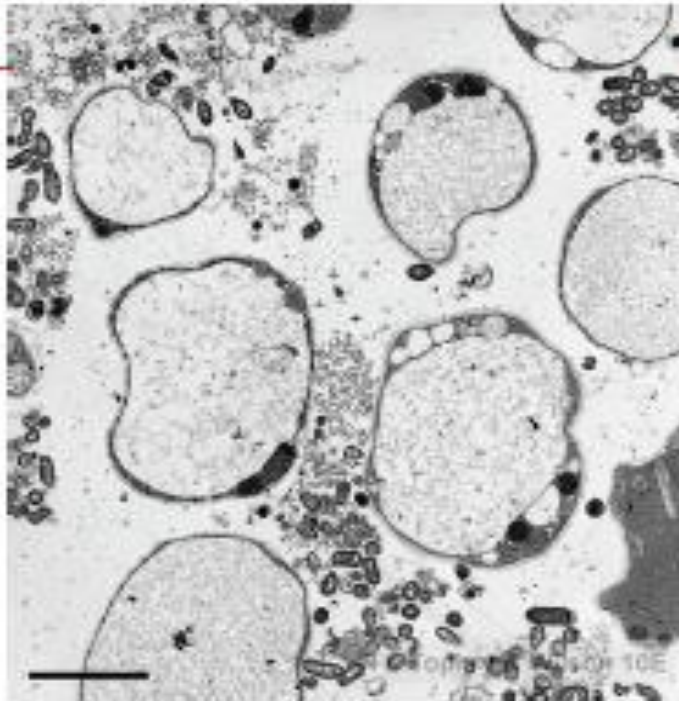
Συχνά βρίσκονται παράσιτα όπως

Blastocystis hominiis



Που όμως χρήζει ειδικής αξιολόγησης*

(παράμετροι που σχετίζονται με γονοτύπους και μορφές σε καλλιεργητικά υλικά)



Transmission
electron
micrograph of
vacuolar forms
of *Blastocystis*

Πιο σπάνια μπορεί να βρούμε

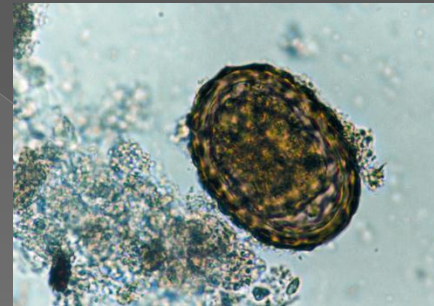
Schistosoma mansoni (κόπρانا)

Εκδηλώνεται
με πυρετό,
ηπατοσπληνική διόγκωση,
κνίδωση,
λευκοκυττάρωση, ηωσινοφιλία

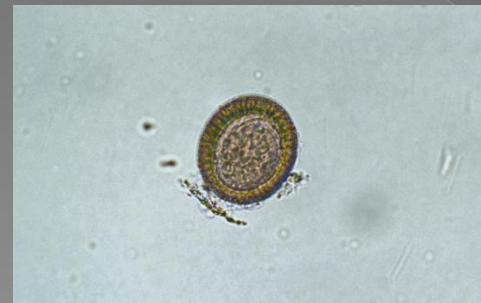


Περιστασιακά (σε κοιλιακά άλγη, διάρροιες, γαστρεντερίτιδες αλλά και σύνδρομο υπερλοιμώξης)

◉ Νηματώδεις



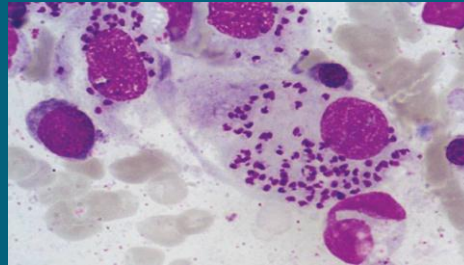
• Κεστώδεις



Δείγματα από άλλα βιολογικά υγρά ή ιστούς (συνέχεια)

Μυελός – Δερματικές Βλάβες :

Leishmania sp



Dirofilaria repens



Ούρα: *Schistosoma haematobium*



ΕΝΥ : *Angiostrongylus cantonensis*



Η ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΚΛΟΓΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ ΠΑΡΑΣΙΤΑ

Χρειάζεται να ενημερώνομε για τη λοιμογόνο
δράση του παρασίτου

Το πρόβλημα της ελονοσίας

- Μία επώδυνη εμπειρία για τη χώρα μας
- Ο ανθελονοσιακός αγώνας ήταν ιδιαίτερα δύσκολος
- Η επίσημη αποδοχή της εκρίζωσης το 1974
- Έκτοτε καταγράφονται εισαγόμενα κρούσματα
- Αλλά....

Η Ελλάδα μπορεί να περιχαρακωθεί ?

- Φαίνεται πως όχι.
- Τα εισαγόμενα κρούσματα ετησίως κυμαίνονται από 20 έως 50.
- Παρατηρείται ενίοτε μαζική εισαγωγή μεταναστών ,κυρίως παράνομων
- Δεν μπορεί να αγνοηθεί η διεθνής πραγματικότητα

Να θυμηθούμε

Τα είδη των πλασμωδίων που προσβάλλουν τον άνθρωπο είναι 4: *Plasmodium falciparum*, *Pl. vivax*, *Pl. malariae* και *Pl. ovale*.

ΠΙΟ ΣΥΝΗΘΗ είναι το *Pl. falciparum* και *Pl. vivax*

ΠΙΟ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟ είναι το *Pl. falciparum*

Άτομα που εκτίθενται συνεχώς σε λοίμωξη από το πλασμώδιο αναπτύσσουν ανοσία.

Η ανοσία είναι ειδική για το στέλεχος του πλασμωδίου και μειώνεται γρήγορα όταν το άτομο εγκαταλείπει την ενδημική για ελονοσία περιοχή.

ΚΡΟΨΥΣΜΑΤΑ ΕΛΟΝΟΣΪΑΣ 2011

⊙ ΕΛΛΗΝΕΣ 33

⊙ ΑΛΛΟΔΑΠΟΙ 30

⊙ Λακωνία 27

⊙ Πακισταν 21

⊙ Εύβοια 2

⊙ Μαρόκο 1

⊙ Ανατ.Αττική 2

⊙ Αφγανισταν 2

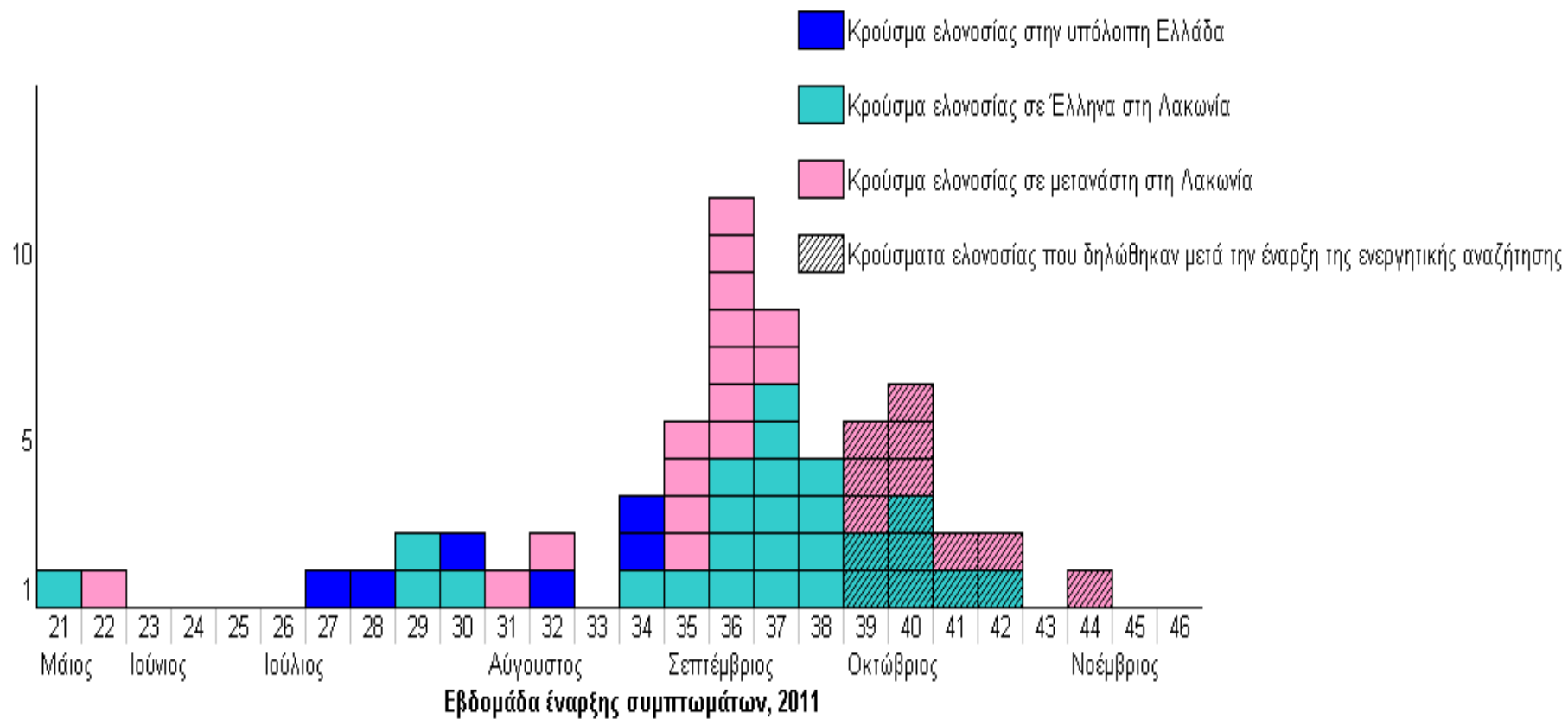
⊙ Λάρισα 1

⊙ Πολωνία 1

⊙ Βοιωτία 1

⊙ Ρουμανία 3
(P+2)

Αριθμός κρουσμάτων



- **ΤΙ ΓΙΝΕΤΑΙ ΣΤΗ ΡΟΥΤΙΝΑ**

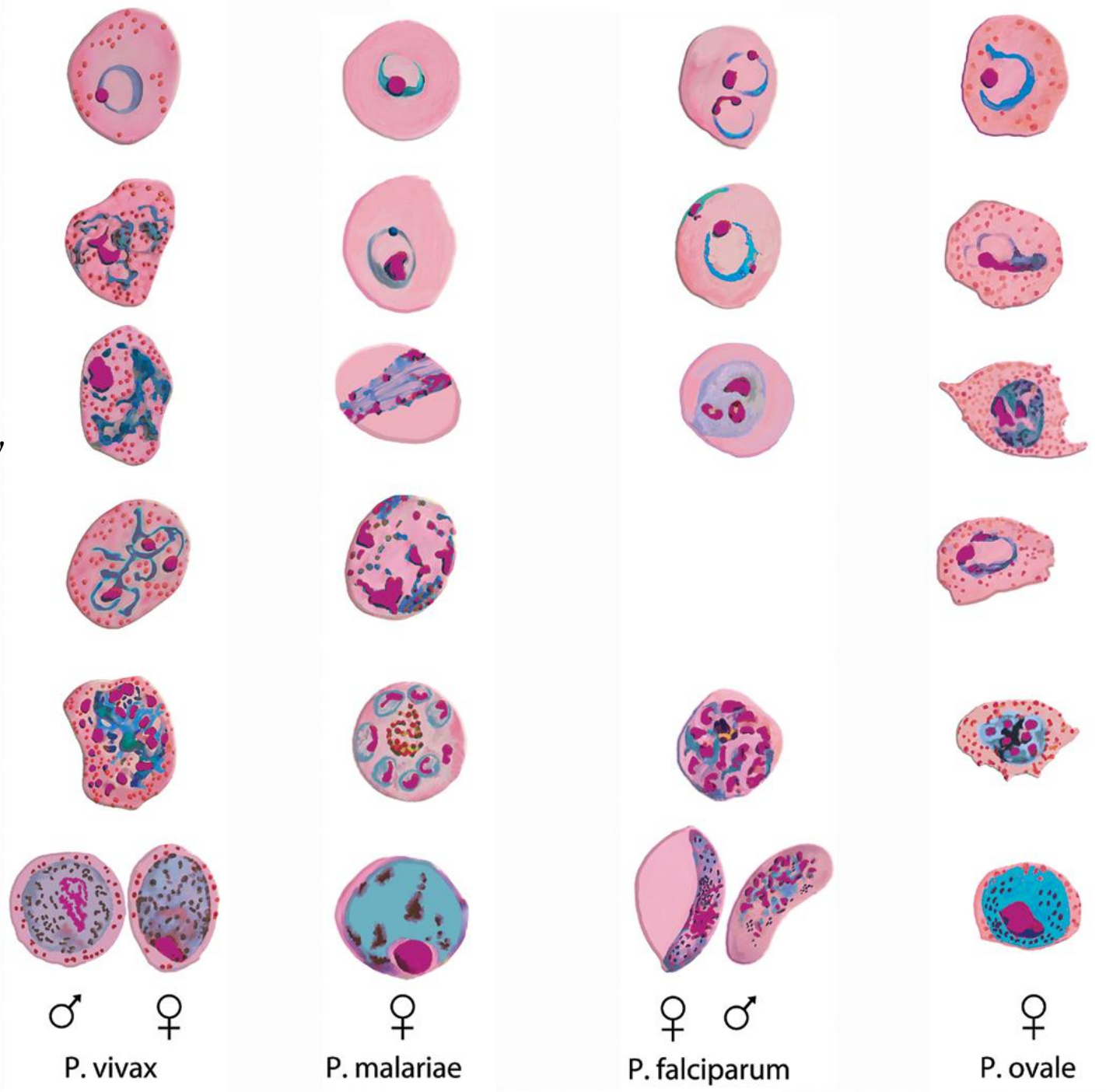


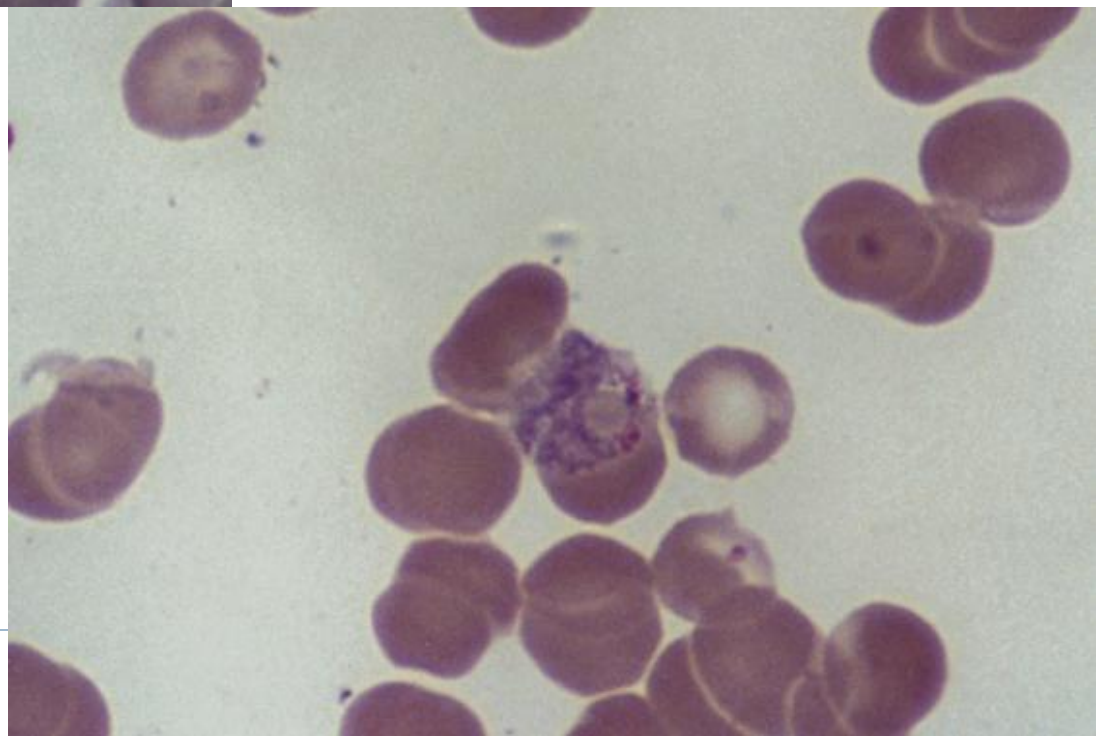
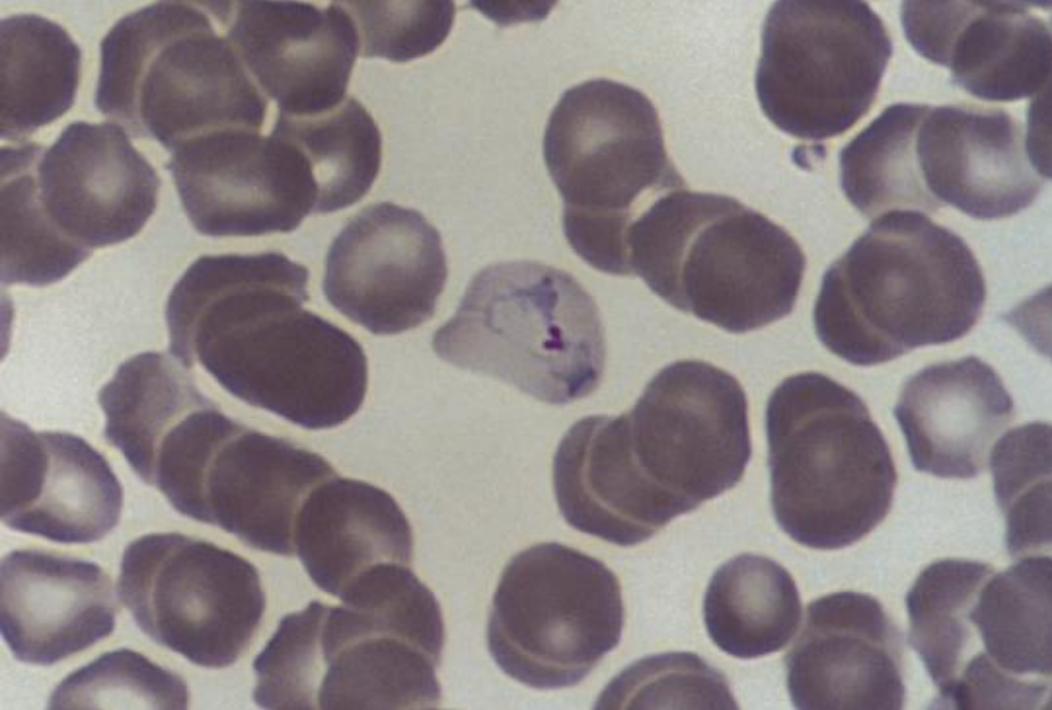
- Θα ζητηθεί εξέταση για πλασμώδια «Laveran» σε περίπτωση πυρετού αγνώστου αιτιολογίας.
- Μέθοδος εκλογής η Άμεση μικροσκοπική εξέταση παρασκευάσματος αίματος σε παχεία σταγόνα (ανίχνευση) και λεπτή στιβάδα (ταυτοποίηση)

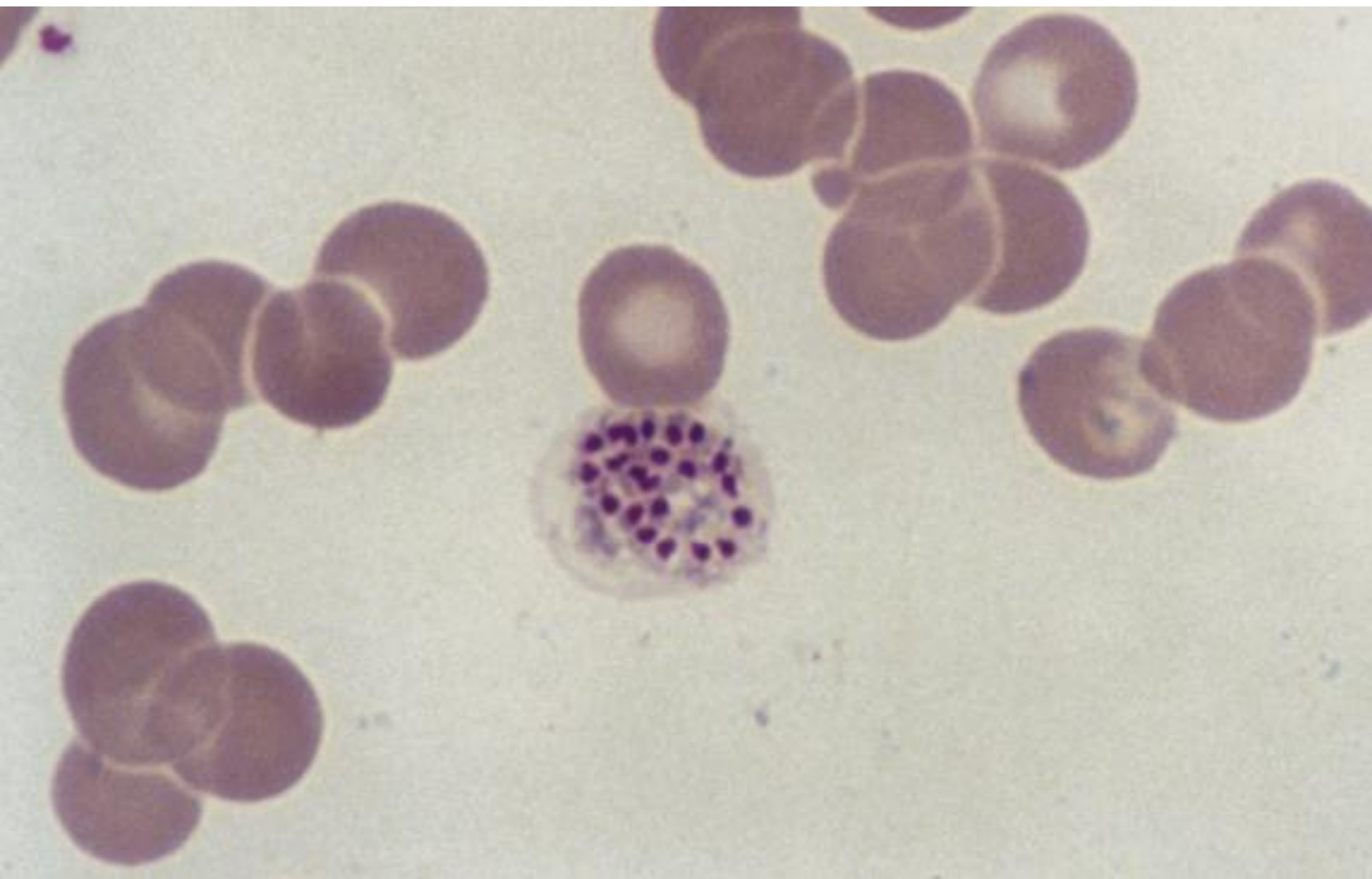
Άλλες διαγνωστικές προσεγγίσεις

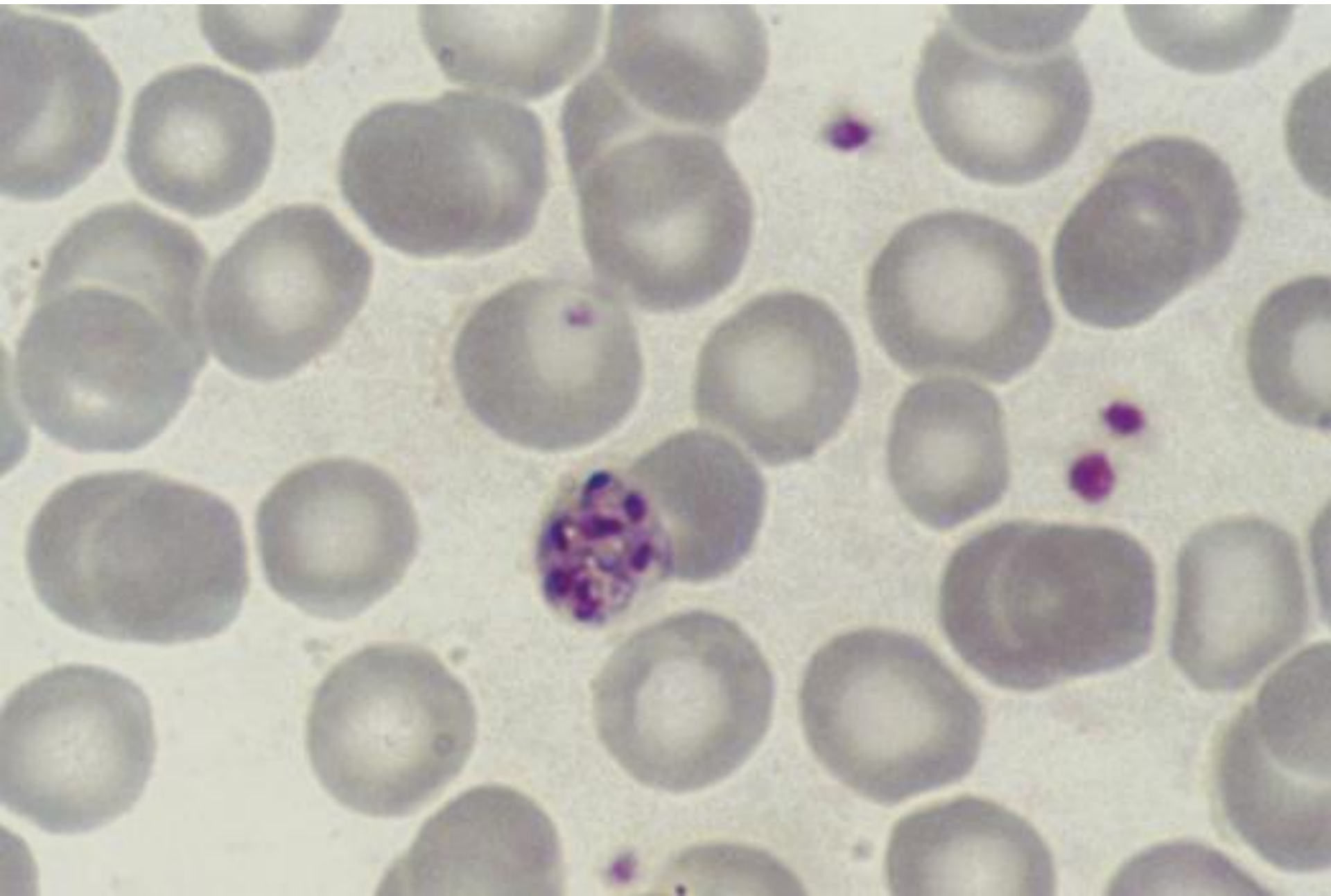
- **Ανίχνευση αντιγόνου
(ανοσοχρωματογραφία)**
- **PCR**
- **Αναζήτηση αντισωμάτων (;)**

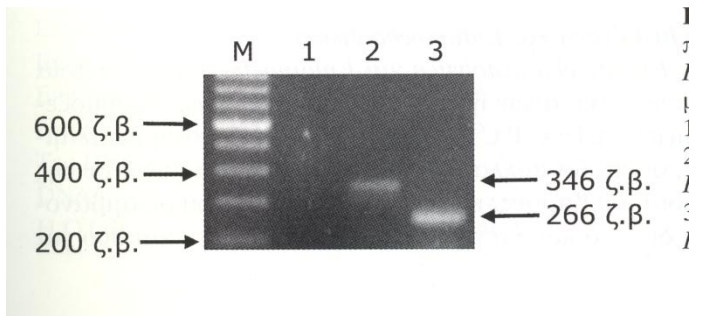
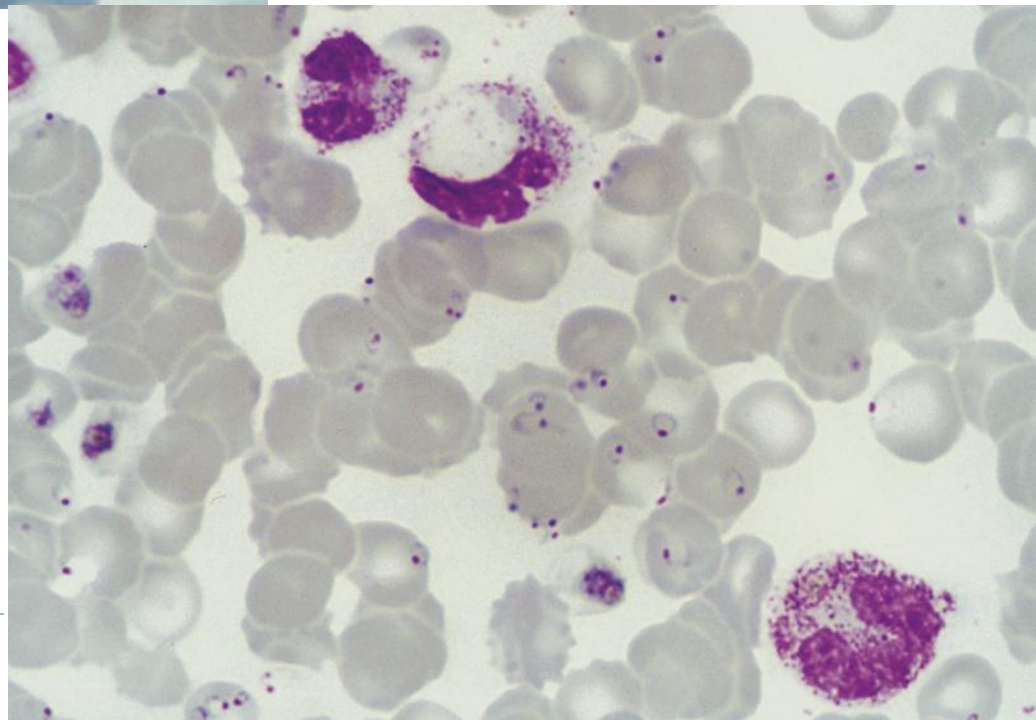
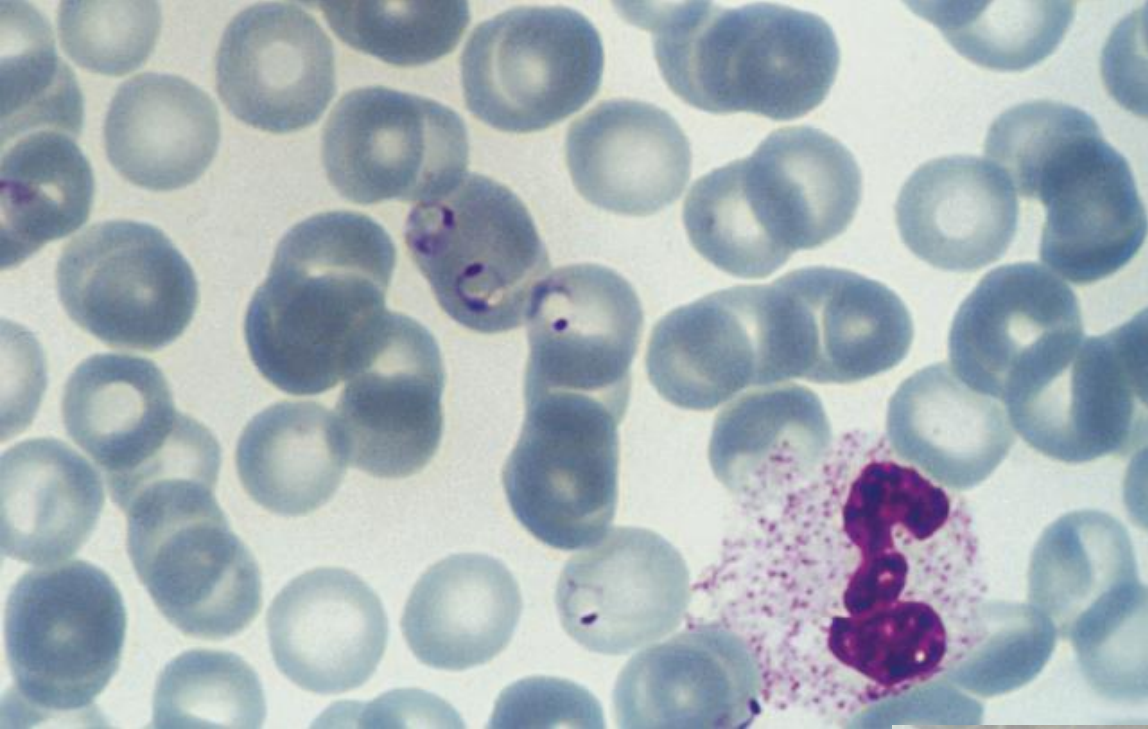
Στάδια
πλασμοδίων



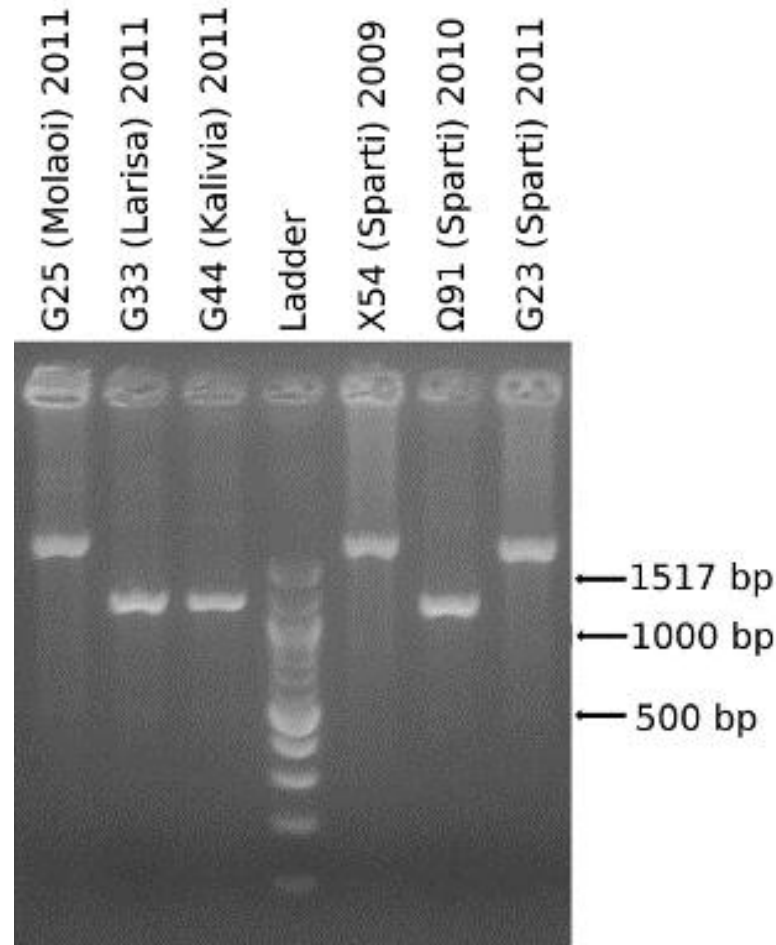








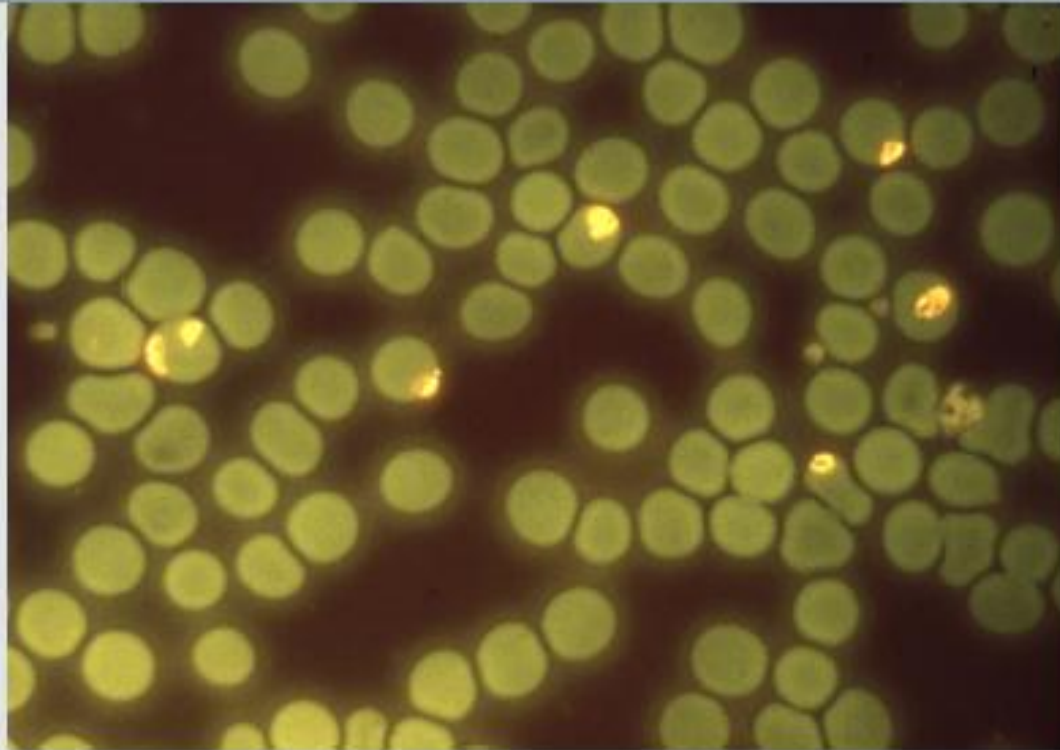
Plasmodium genotyping...



▶ Polymorfism at the membrane surface protein

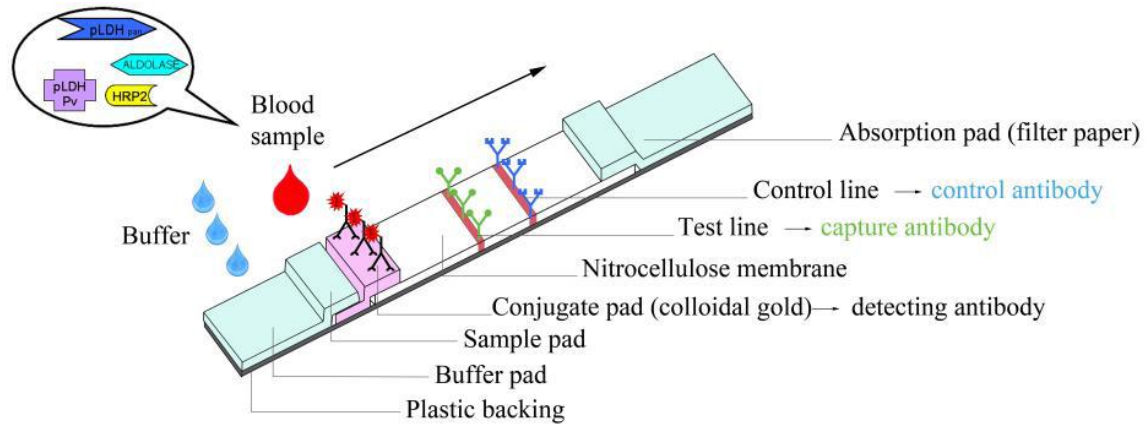
Plasmodium vivax

Thin / Thick smears: ACRIDINE (staining)



→ Fluorescent microscope





Malaria laboratory diagnosis: Summary



Parasite density / μ l	% of infected RBC	Parasites / microscopic field	
		Thin film	Thick film
50.000	1%	2 / 1 field	50 / 1 field
5.000	0,1%	1 / 4 fields	5 / 1 field
500	0,01%	1 / 40 fields	5 / 10 fields
100	0,002%	1 / 200 fields	1 / 10 fields
10	0,02%	1 / 2000 fields	2 / 100 fields

RDT
Pv > 90 %

RDT
Pf > 95%

PCR up to 0.004 parasites/ μ l

Microscopy up to 2-5 parasites/ μ l ... IN REFERENCE.. IN ROUTINE ?

Place for RDTs... as adjunct to microscopy and PCR

Exclusion power is not high enough to rely on Malaria RDT as the only diagnostic test for ruling out malaria

nature



KILLER BLOW

Can a billion dollars defeat malaria?

STAR FORMATION

How massive stars get massive

MULTIPLE SCLEROSIS

Proteomic scan for drug targets

EVOLVING COOPERATION

Cheats that prosper



NATUREJOBS
Role models



A blue-tinted landscape featuring a mountain range in the background and several palm trees in the foreground. The sky is a deep blue, and the mountains are silhouetted against it. The palm trees are dark and stand out against the lighter blue background.

► Ευχαριστώ