



## Medizinische Parasitologie - 3. Studienjahr | Laborkurs Parasitologie 2024 (Teil 1)

Szenario 1: Fieber im Januar

Szenario 2: Schwangerschaft/Toxoplasma

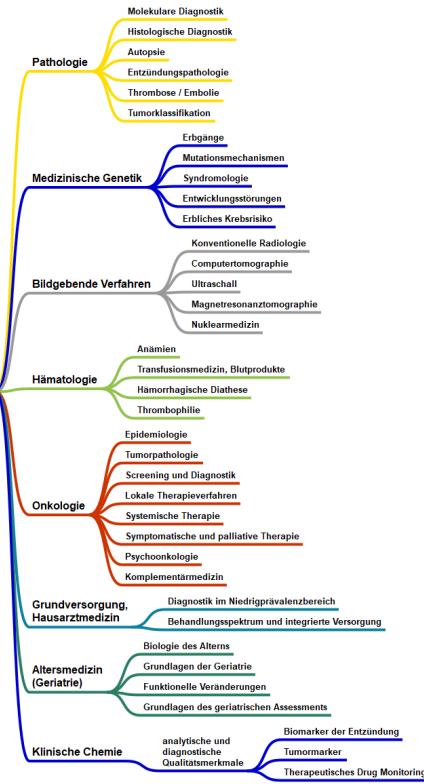
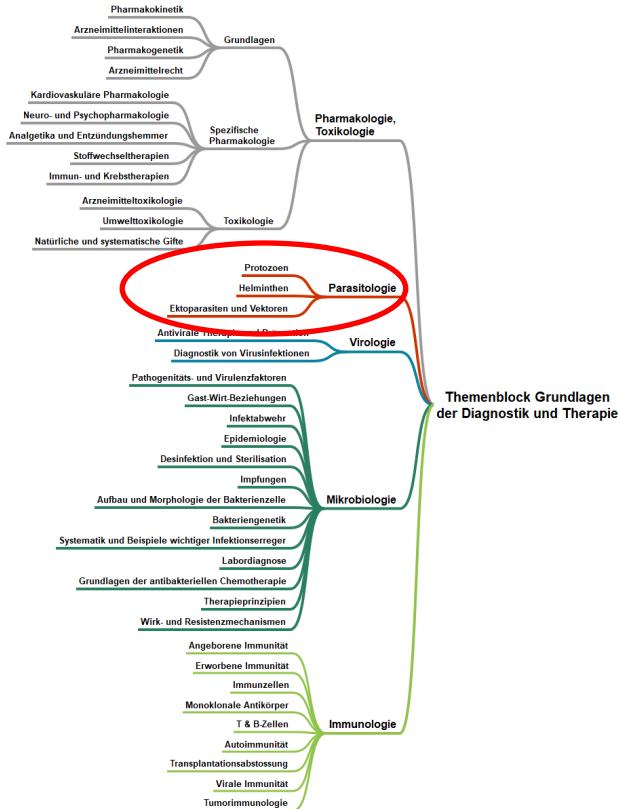
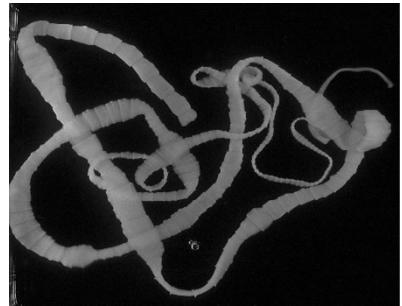
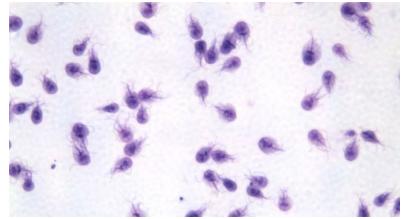
Szenario 3: Durchfall

Szenario 4: Eosinophilie

Szenario 5: Raumforderung

Szenario 6: 'Bonus-Track'

# Mindmap



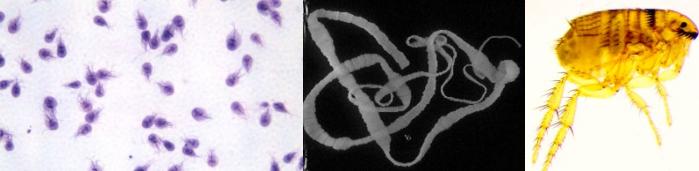
---

# **Laborkurs Parasitologie**

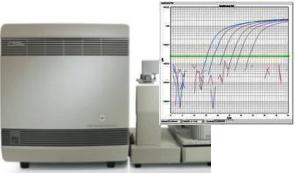
## **Lernziele**

1. Sie können die Grundzüge der Methoden zum Nachweis von Parasiten beschreiben.
2. Sie können Vor- und Nachteile der Methoden erklären.
3. Sie können die Aussagekraft der Methoden beurteilen.

# Parasitologische Methoden



Disziplin	Nachweis	Wichtige Methoden	Untersuchungsmaterial
Mikroskopie	Parasiten/Parasitenstadien Eier, Larven, Zysten, Oozysten	SAFC, Flotation, Sedimentation, Baermann-Trichter, Färbungen, Filtrationen, Wet Mount	Stuhl, Blut, Gewebe
	Parasitenidentifikation	Morphologische Identifizierung	Parasiten/Parasitenteile
Immundiagnostik	Antikörper	ELISA, IFAT, Westernblot	Serum/Plasma
	Antigen	ELISA, Immunchromatographie (Schnelltests)	Blut, Stuhl, Abstrich,..
Molekulardiagnostik	DNA	PCR, qPCR, LAMP, Sequenzierung, ...	Stuhl, Blut, Gewebe



## Szenario: Fieber im Januar

- Freitag, 17. 1. 2030, 17.45 h, 1°C, Schneefall  
Sprechstunde, Allgemeinmedizin
  - Der letzte Patient für heute:  
Mann, 33 Jahre, Schweizer,  
Diabetiker, Hausstaubmilben-Allergie
- Aktuell: Schnupfen, Kopfschmerzen,  
Gliederschmerzen, Fieber



### Was machen Sie?

Über Weihnachten in den Tropen

# Malaria - Klinik

<b>Initialsymptome</b>	Kopfschmerzen Myalgien Unwohlsein Abgeschlagenheit Frösteln	„Grippe“
------------------------	---	----------

## Typischer Malariaanfall (oft gegen Abend) ↗

Temperaturanstieg bis ca. 39°C

Schüttelfrost ca. 10 Min - 1 h

**Fieberschub** bis > 40°C,  
Dauer: 2-6 h

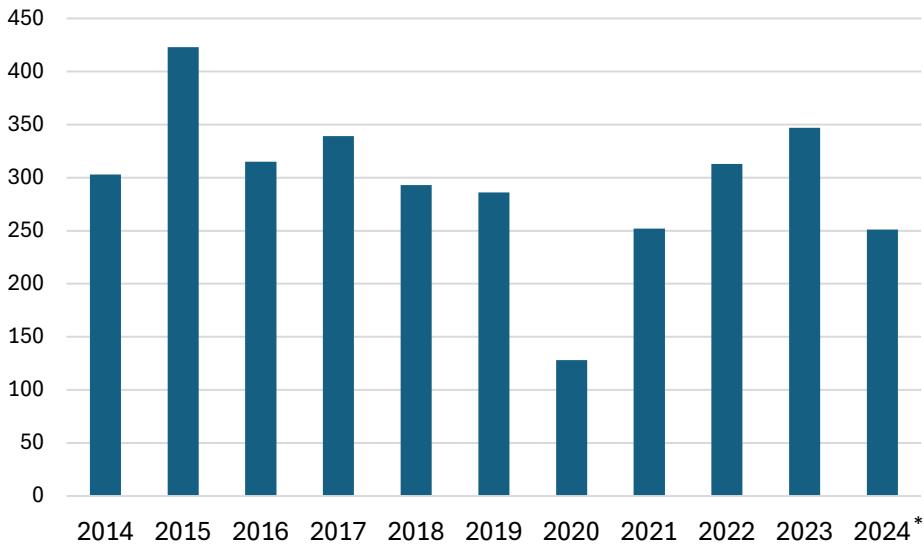
Schweissausbruch Dauer: ca. 2 h

CAVE

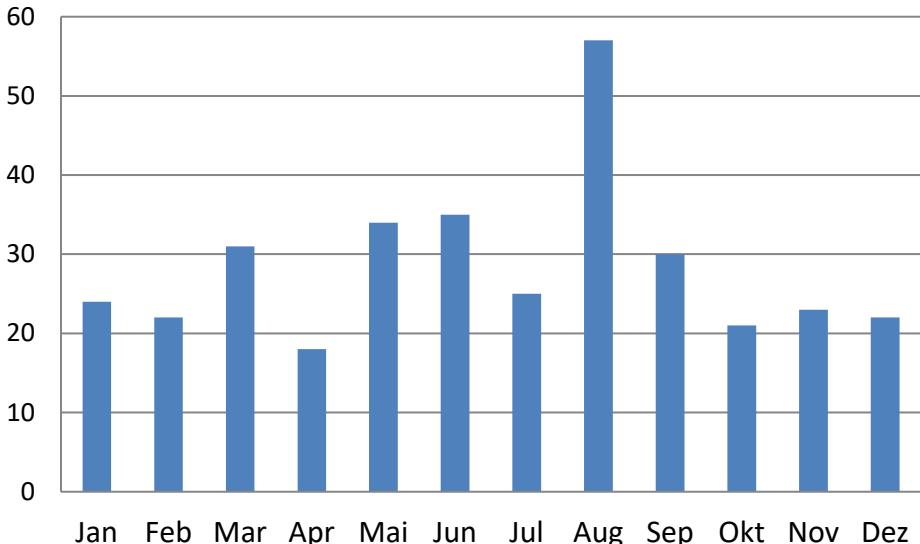


# CH - Malariafälle (BAG)

Fallmeldungen pro Jahr



Fallmeldungen 2017 pro Monat



# Malaria: Diagnostik

- Wer?

Wichtig

**Fieber nach Tropenaufenthalt = Malaria**

(bis zum Beweis des Gegenteils)

**90% innerhalb von 3 Monaten** und

**99% innerhalb eines Jahres** nach Rückkehr aus einem Endemiegebiet

- Wann?

Sofort, ev. mehrfach untersuchen

- Wie?

**Methode(n) der Wahl:**

**Mikroskopie ?, Antikörpernachweis ?,  
Antigennachweis ?, DNA-Nachweis?**

# Malaria: Diagnostik

- **Wer?**

**Fieber nach Tropenaufenthalt = Malaria**

(bis zum Beweis des Gegenteils)

**90% innerhalb von 3 Monaten** und

**99% innerhalb eines Jahres** nach Rückkehr aus einem Endemiegebiet

- **Wann?**

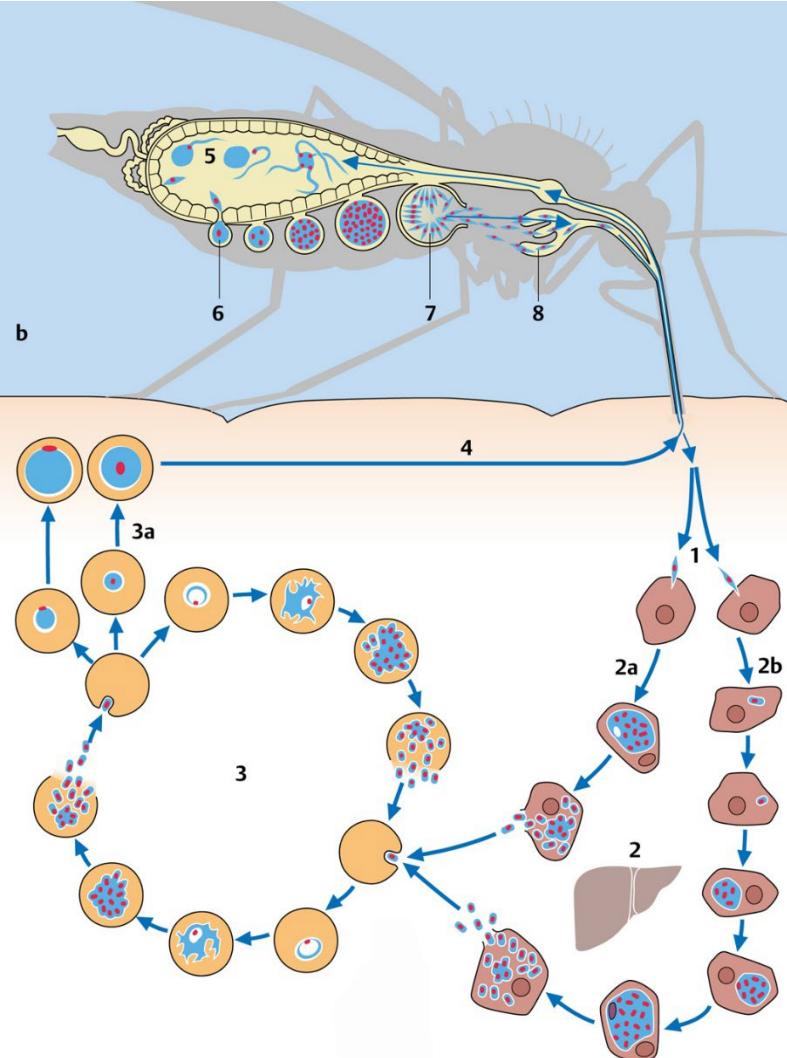
Sofort, ev. mehrfach untersuchen

- **Wie?**

**Methode(n) der Wahl:**

- **Mikroskopischer Nachweis von Plasmodien in gefärbten Blutausstrichen und dicken Tropfen (Giemsa-Färbung)**
- **DNA-Nachweis**
- Kapillarblut oder venöses Blut (EDTA)

**Wichtig**



**1** Sporozoiten via Blut in Leber

**Leber/Hepatozyten (asexuell)**

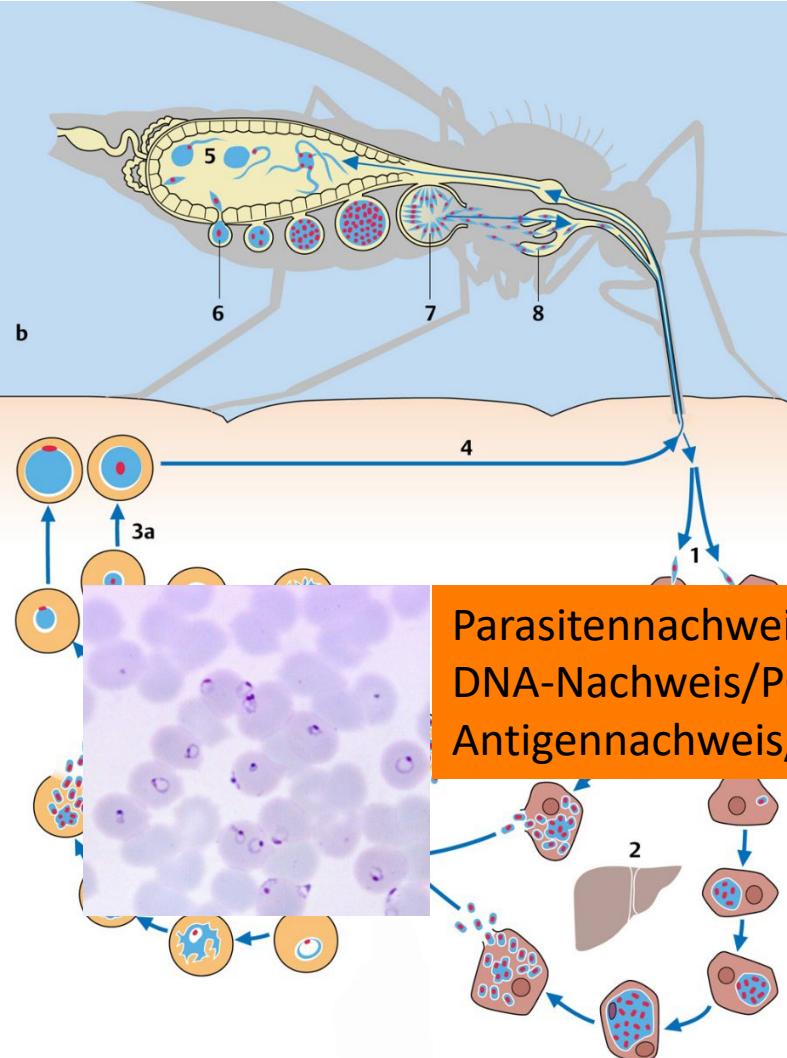
- 2a** Gewebebeschizonten und Schizogonie → **Merozoiten**
- 2b** **Hypnozoiten nur P. vivax und P. ovale → Merozoiten**

**RBCs (asexuell)**

- 3** Schizogonie  
Merozoiten → Trophozoit → Schizonten → Merozoiten
- 3a** Entwicklung sexueller Stadien → Gametocyten

**Mückendarm (sexuell):**

- 5** Befruchtung → Ookinete
- 6** Ookinete dringt durch Darmwand → Sporozoiten
- 7/8** Sporozoiten wandern in Speicheldrüse



1 Sporozoiten via Blut in Leber

**Leber/Hepatozyten (asexuell)**

2a Gewebebeschizonten und Schizogonie → **Merozoiten**

2b **Hypnozoiten nur P. vivax und P. ovale → Merozoiten**

**RBCs (asexuell)**

3 Schizogonie

ten → Merozoiten  
ocyten

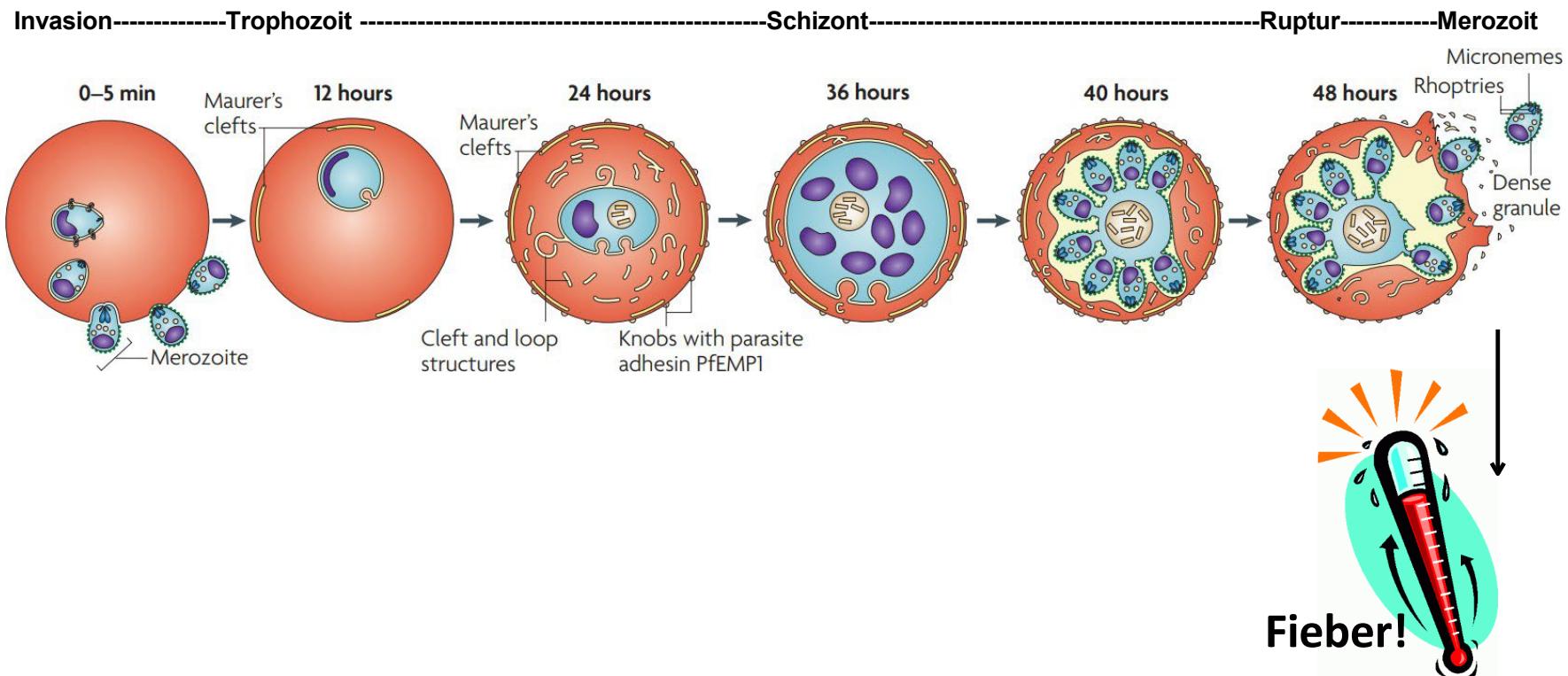
5 Befruchtung → Ookinete

6 Ookinete dringt durch Darmwand → Sporoziten

7/8 Sporoziten wandern in Speicheldrüse

# *Plasmodium falciparum* - Replikation in den Erythrozyten

Maier et al. 2009, *Nat. Rev. Microbiol.*, 7(5), 341-54



# Giemsa Färbung

**Färbung von Blutausstrichen, dicken Tropfen, Tupf- bzw. Ausstrichpräparaten von festen oder flüssigen Gewebeproben zur Darstellung von intra- und extrazellulären Parasitenstadien.**

**Fixierung**

Methanol (Aceton- und Wasser-frei)

Azur-Eosin-Methylenblau-Lösung, **pH 6,8-7,2**

**Resultat**

Zellkerne

rot bis violett

Zytoplasma

blassblau bis blassviolett

Erythrozyten

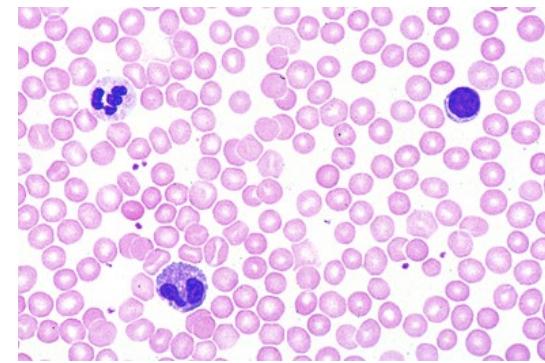
blassrot bis blassblau

Pro Probe immer mehrere Ausstriche und dicke Tropfen herstellen!

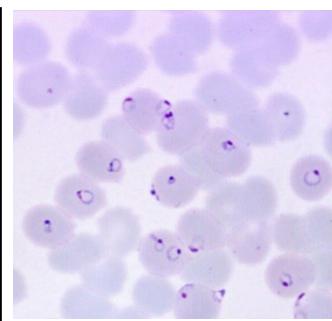
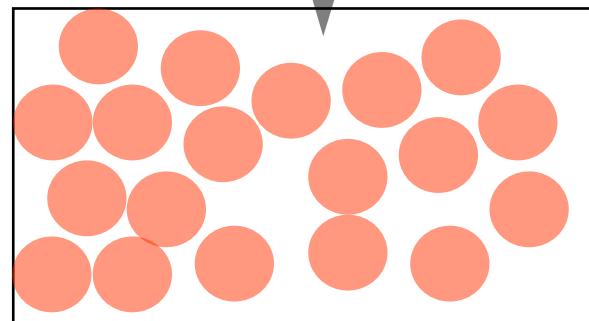
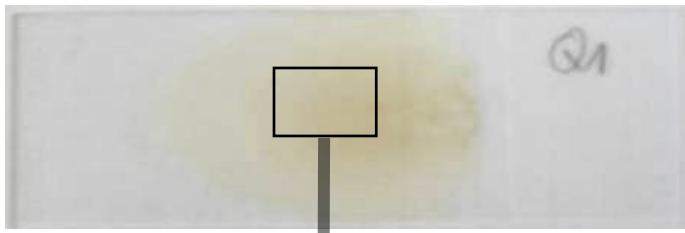
Färbung stark pH-abhängig

Durchführung

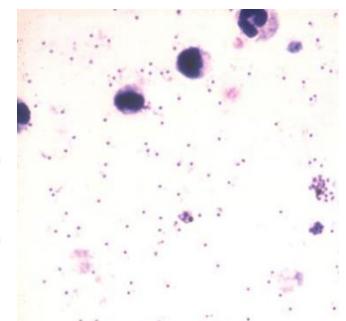
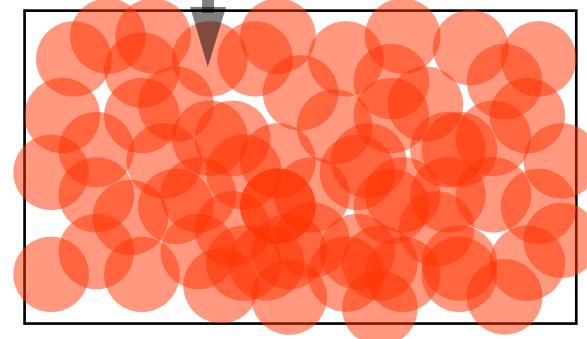
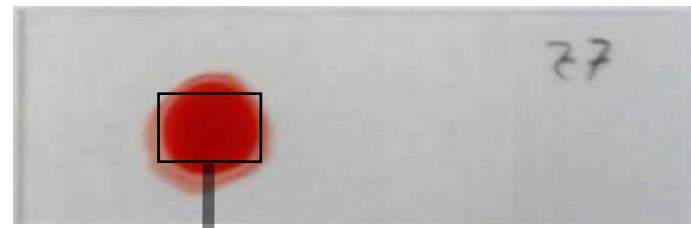
- Ausstriche, dicke Tropfen und Tupfpräparate herstellen
- OT's vor der Weiterverarbeitung sehr gut trocknen lassen!
- Trockene OT's in Küvette mit Methanol stellen und 20 Sekunden bei Raumtemperatur fixieren
- (ACHTUNG dicke Tropfen dürfen nicht fixiert werden)
- OT's trocknen lassen
- OT's in Färbeküvette mit Giemsa-Färbelösung stellen und während 45 Minuten bei RT färben
- OT's mit entsalztem Wasser spülen: Ausstriche fliessendes Wasser Dicke Tropfen in einem Becherglas
- OT's trocknen lassen



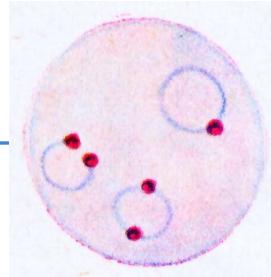
# Giemsafärbung: Ausstrich, dicker Tropfen



**Monolayer** aus Blutzellen  
→ Fixierung/Färbung



**Mehrere Schichten** aus Blutzellen  
→ Färbung ohne Fixierung  
→ Zellen werden lysiert  
→ Konzentrationseffekt



## Erreger und Formen der Malaria

Spezies	Erkrankung	Fieberschübe	Letalität
<i>Plasmodium falciparum</i>	Malaria tropica	unregelmässig	hoch
<i>Plasmodium vivax</i>	Malaria tertiana	48h	niedrig
<i>Plasmodium ovale</i>	Malaria tertiana	48h	niedrig
<i>Plasmodium malariae</i>	Malaria quartana	72h	niedrig
<i>Plasmodium knowlesi</i>		24h/?	(?)

Korrekte Diagnose:

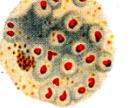
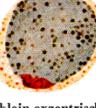
z. Bsp.

→ Art und Parasitämie (falls *P. falciparum*) ←

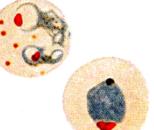
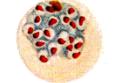
*Plasmodium falciparum*, Parasitämie: 3.5%

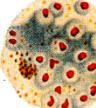
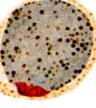
Parasitämie: Anteil infizierter Erythrozyten (in Prozent).

	<b>Infizierter Erythrocyt</b>	<b>Junger Trophozoit Ringform</b>	<b>Halberwachsener Trophozoit</b>	<b>Reifer Schizont</b>	<b>Makrogametocyt reif</b>	<b>Mikrogametocyt reif</b>	<b>Dauer des asexuellen Cyclus</b>	<b>Stadien im peripheren Blut</b>
<b>Plasmodium vivax</b>	Größer als normal Deformiert Multiple Infektion nicht selten Oft Schüffner-Täpfelung, erst vom halbwachsenen Trophozoiten an	Plasmaring schmal Vakuole groß  1–2 Kerne	Pseudopodien Vakuole groß  Pigment gelbbraun	12–24 Merozoiten  1–2 Pigmentklumpen peripher oder zentral	Rundlich bis ovoid  Kern klein, exzentrisch, dunkelrot Plasma homogen blau ohne Vakuolen Pigment reichlich, zerstreut	Rundlich bis ovoid  Kern größer als bei Makrogametocyt, exzentrisch oder zentral, diffus, hellrot Plasma hellblau bis rosa Pigment feinkörniger als bei Makrogametocyt, zerstreut	48 Std.	alle
<b>Plasmodium malariae</b>	Normal oder kleiner als normal Multiple Infektion selten (Ziemann'sche Fleckung selten)	Plasmaring breit Vakuole mittelgroß  1–2 Kerne	Keine Pseudopodien Rundlich oder Bandform Vakuolen klein oder fehlend  Pigment dunkelbraun	6–12, meist 8 oder 10 Merozoiten oft in Rosette  Pigment meist zentral	Aehnlich vivax, aber kleiner	Aehnlich vivax, aber kleiner  72 Std.	alle	
<b>Plasmodium ovale</b>	Etwas größer als normal, oft oval mit ausgefransten oder unregelmäßigen Rändern Schüffner'sche Täpfelung ausgeprägter als bei vivax, schon bei jungen Trophozoiten	Aehnlich falciparum aber Plasmaring breiter und intensiver gefärbt  1–2 Kerne	Rundlich, meist ohne Pseudopodien Vakuolen klein oder fehlend  Pigment hellbraun unauffällig	8 Merozoiten  Pigment meist zentral	Aehnlich vivax, sehr selten in ovalen Erythrocyten	Aehnlich vivax, sehr selten in ovalen Erythrocyten  48 Std.	alle	
<b>Plasmodium falciparum</b>	Größe und Form normal Multiple Infektion häufiger als bei vivax und malariae Maurer'sche Fleckung selten	Plasmaring schmal Vakuole klein  Kerne klein Doppelkerne häufig	Vakuolen klein oder fehlend  Pigment zerstreut hellbraun oder in schwarzbraunen Klumpen	8–24 Merozoiten, manchmal mehr, sehr variabel  Pigment meist peripher	Sichel förmig  Kern zentral, kompakt, dunkelrot Plasma homogen blau bis violett Pigment um Kern konzentriert	Schwach sickelförmig, breiter und kürzer als Makrogametocyt  Kern größer als bei Makrogametocyt, diffus; hellrot gefärbte, lockere Chromatinbrocken und Fäden Plasma hellviolet bis rosa, immer rotstichiger als bei Makrogametocyt, Pigment zerstreut  48 Std.	In der Regel Ringformen und Gametocyten, übrige Stadien selten, außer in schweren Fällen	

	<b>Infizierter Erythrocyt</b>	<b>Junger Trophozoit Ringform</b>	<b>Halberwachsener Trophozoit</b>	<b>Reifer Schizont</b>	<b>Makrogametocyt reif</b>	<b>Mikrogametocyt reif</b>	<b>Dauer des asexuellen Cyclus</b>	<b>Stadien im peripheren Blut</b>
<b>Plasmodium vivax</b>	<p>Größer als normal Deformiert Multiple Infektion nicht selten Oft Schüffner-Täpfelung, erst vom halbwachsenen Trophozoiten an</p>	<p>Plasmaring schmal Vakuole groß</p>  <p>1–2 Kerne</p>	<p>Pseudopodien Vakuole groß</p>  <p>Pigment gelbbraun</p>	<p>12–24 Merozoiten</p>  <p>1–2 Pigmentklumpen peripher oder zentral</p>	<p>Rundlich bis ovoid</p>  <p>Kern klein, exzentrisch, dunkelrot Plasma homogen blau ohne Vakuolen Pigment reichlich, zerstreut</p>	<p>Rundlich bis ovoid</p>  <p>Kern größer als bei Makrogametocyt, exzentrisch oder zentral, diffus, hellrot Plasma hellblau bis rosa Pigment feinkörniger als bei Makrogametocyt, zerstreut</p>	48 Std.	alle

**Gametozyten eindeutig einzuordnen**

	<b>Plasmodium falciparum</b>	<b>Plasmaring schmal Vakuole klein</b>	<b>Vakuolen klein oder fehlend</b>	<b>8–24 Merozoiten, manchmal mehr, sehr variabel</b>	<b>Sichelförmig</b>	<b>Schwach sichelförmig, breiter und kürzer als Makrogametocyt</b>	<b>48 Std.</b>	<b>In der Regel Ringformen und Gametozyten, übrige Stadien selten, außer in schweren Fällen</b>
	<p>Größe und Form normal Multiple Infektion häufiger als bei vivax und malariae Maurer'sche Fleckung selten</p>	<p>Plasmaring schmal Vakuole klein</p>  <p>Kerne klein Doppelkerne häufig</p>	<p>Vakuolen klein oder fehlend</p>  <p>Pigment zerstreut hellbraun oder in schwarzbraunen Klumpen</p>	<p>8–24 Merozoiten, manchmal mehr, sehr variabel</p>  <p>Pigment meist peripher</p>	<p>Sichelförmig</p>  <p>Kern zentral, kompakt, dunkelrot Plasma homogen blau bis violett Pigment um Kern konzentriert</p>	<p>Schwach sichelförmig, breiter und kürzer als Makrogametocyt</p>  <p>Kern größer als bei Makrogametocyt, diffus; hellrot gefärbte, lockere Chromatinbrocken und Fäden Plasma hellviolett bis rosa, immer rotstichiger als bei Makrogametocyt. Pigment zerstreut</p>		

	<b>Infizierter Erythrocyt</b>	<b>Junger Trophozoit Ringform</b>	<b>Halberwachsener Trophozoit</b>	<b>Reifer Schizont</b>	<b>Makrogametocyt reif</b>	<b>Mikrogametocyt reif</b>	<b>Dauer des asexuellen Cyclus</b>	<b>Stadien im peripheren Blut</b>
<b>Plasmodium vivax</b>	<p>Größer als normal Deformiert Multiple Infektion nicht selten Oft Schüffner-Täpfelung, erst vom halbwachsenen Trophozoiten an</p>  <p>1–2 Kerne</p>	<p>Plasmaring schmal Vakuole groß</p>  <p>Pigment gelbbraun</p>	<p>Pseudopodien Vakuole groß</p>  <p>12–24 Merozoiten</p>	<p>1–2 Pigmentklumpen peripher oder zentral</p> 	<p>Rundlich bis ovoid</p>  <p>Kern klein, exzentrisch, dunkelrot Plasma homogen blau ohne Vakuolen Pigment reichlich, zerstreut</p>	<p>Rundlich bis ovoid</p>  <p>Kern größer als bei Makrogametocyt, exzentrisch oder zentral, diffus, hellrot Plasma hellblau bis rosa Pigment feinkörniger als bei Makrogametocyt, zerstreut</p>	48 Std.	alle

häufig\*

sehr häufig\*

selten\*

rel. häufig\*

rel. häufig\*

\*Häufigkeit der Stadien im Ausstrich

### Kleben in Kapillaren an den Gefäßwänden "Knobs"

**CAVE!**



	<b>sehr häufig*</b>	<b>(s. selten*)</b>	<b>(s. selten*)</b>	<b>selten*</b>	<b>selten*</b>	
<b>Plasmodium falciparum</b>	<p>Größe und Form normal Multiple Infektion häufiger als bei vivax und malariae Maurer'sche Fleckung selten</p>  <p>Kerne klein Doppelkerne häufig</p>	<p>Plasmaring schmal Vakuole klein</p>  <p>Vakuolen klein oder fehlend</p>  <p>Pigment zerstreut hellbraun oder in schwarzbraunen Klumpen</p>	<p>8–24 Merozoiten, manchmal mehr, sehr variabel</p>  <p>Pigment meist peripher</p>	<p>Sichelförmig</p>  <p>Kern zentral, kompakt, dunkelrot Plasma homogen blau bis violett Pigment um Kern konzentriert</p>	<p>Schwach sichelförmig, breiter und kürzer als Makrogametocyt</p>  <p>Kern größer als bei Makrogametocyt, diffus; hellrot gefärbte, lockere Chromatinbrocken und Fäden Plasma hellviolet bis rosa, immer rotstichiger als bei Makrogametocyt, Pigment zerstreut</p>	<p>48 Std.</p> <p>In der Regel Ringformen und Gametocyten, übrige Stadien selten, außer in schweren Fällen</p>

# Malaria: Diagnostische Kriterien

Stadium und Merkmal		<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>
Erythrozyten	Grösse	Unverändert	Vergrössert
	Form	Unverändert	Oft deformiert,
	Tüpfelung	Selten: Fleckung	Schüffner'sche Tüpfelung
	Mehrfachinfektionen	Relativ häufig	Selten
Ringformen	Im Ausstrich	Ja	Ja
	Grösse	Klein	Klein
	Plasmasaum	Schmal	Prominent
	Doppelkerne	Relativ häufig	Selten
	Accolé	Relativ häufig	-
Trophozoit	Im Ausstrich	Sehr selten	Ja
	Form	(variabel)	Stark verästelt, amöboid, ,verzweigte' Vakuole
Schizonten	Im Ausstrich	Sehr selten	Ja
	Anzahl Merozoiten	(8 - >24, variabel)	12-24
Gametozyten	Im Ausstrich	Selten	Ja
	Form	Banane	Rund

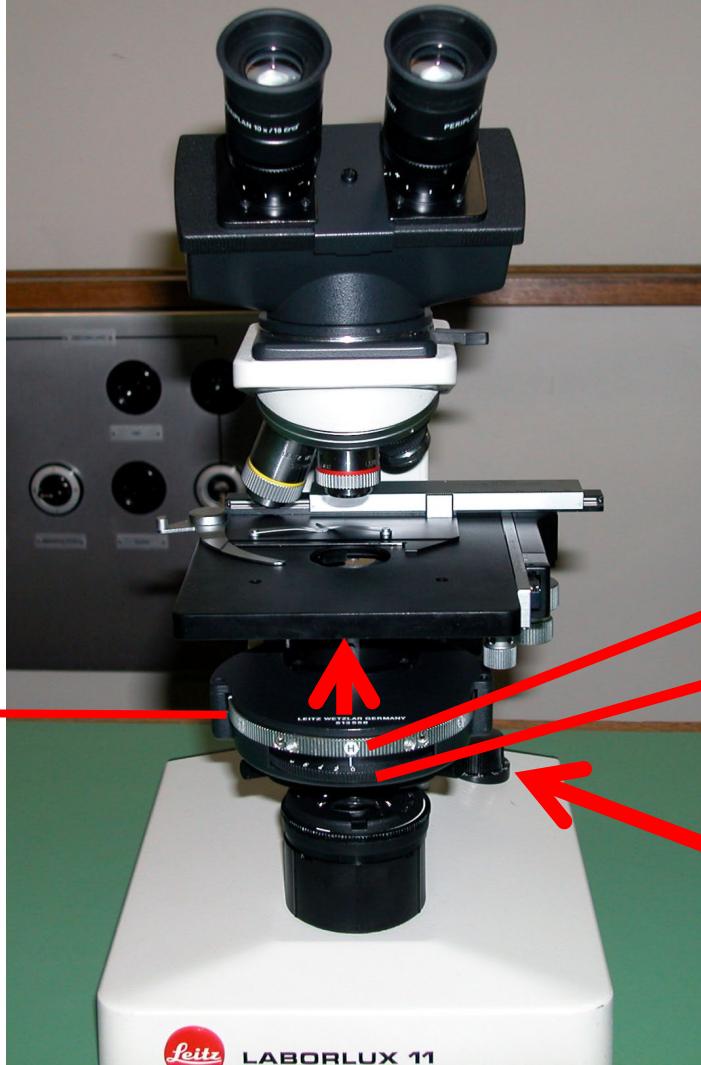
Objektive:

4x (rot)

10x (gelb, Schicht suchen )

40x (blau)

**100x Oel (weiss)**



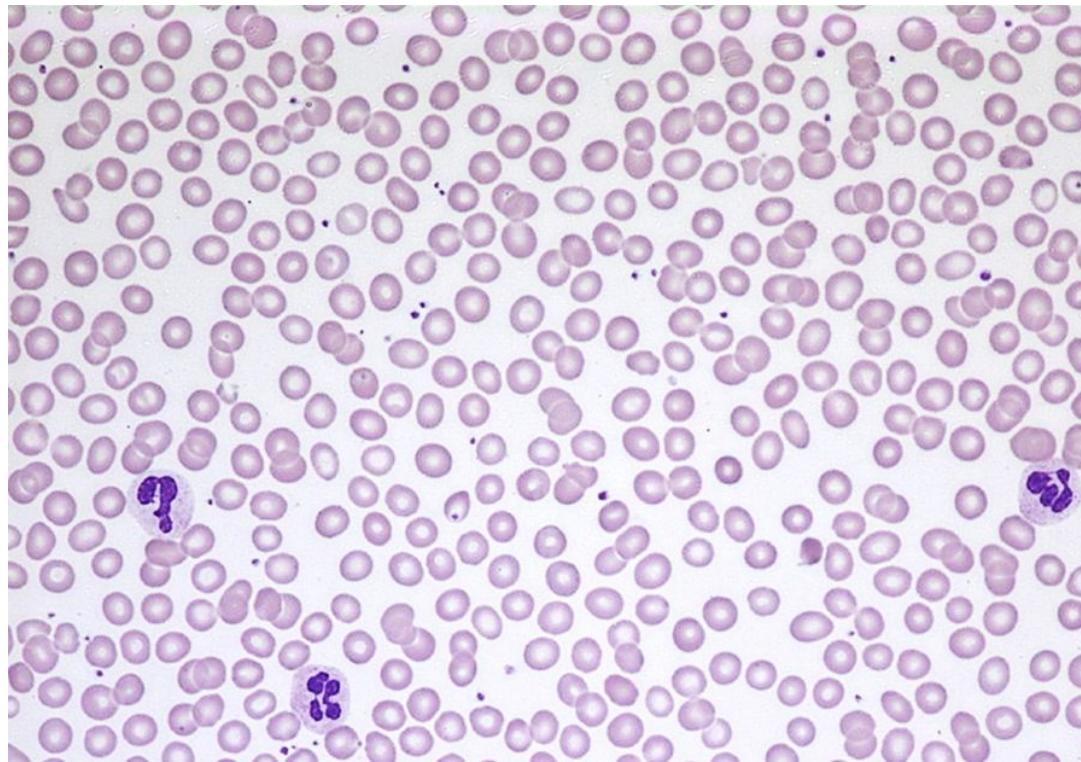
Kondensor  
ganz nach  
oben

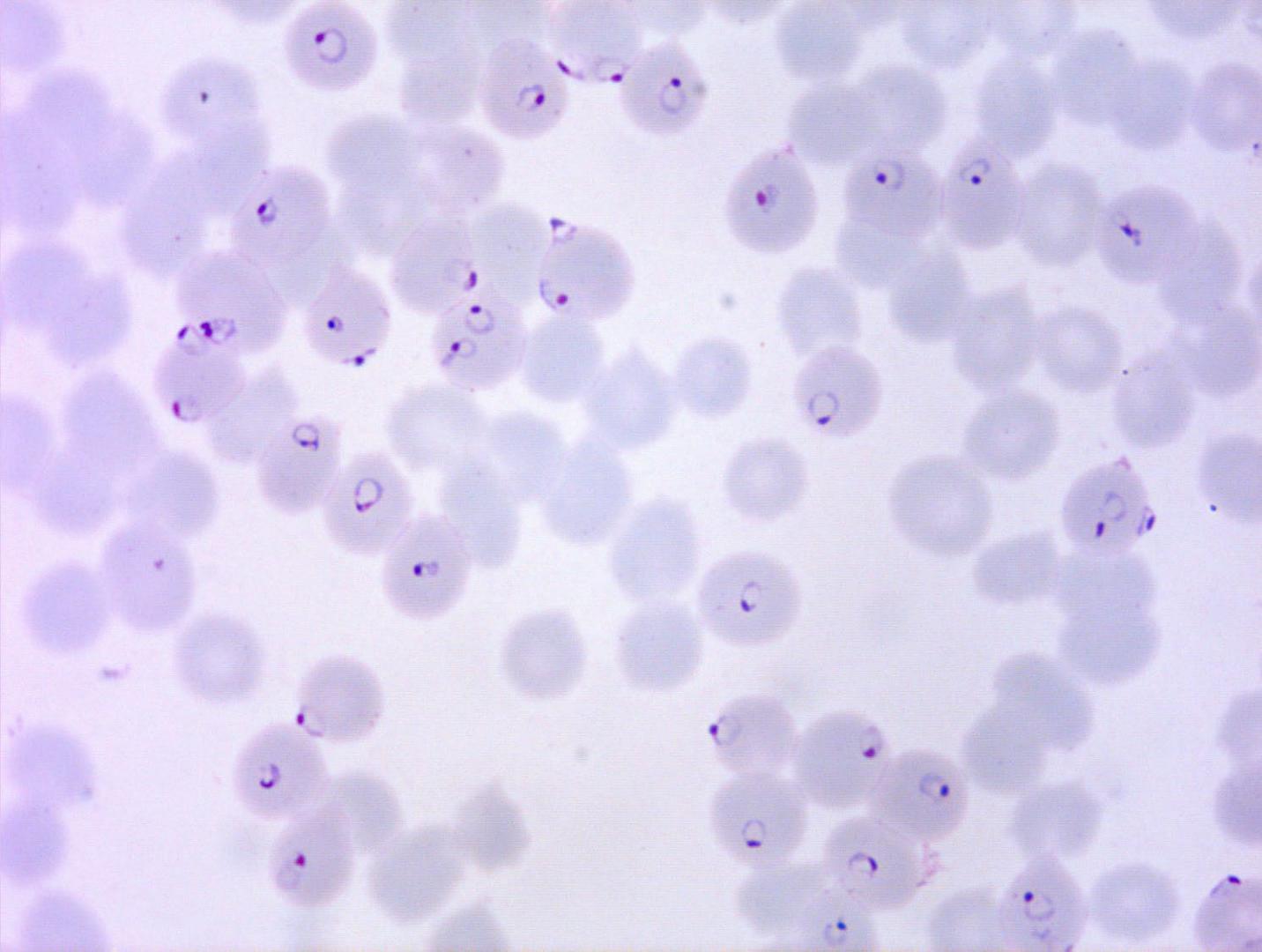
Kondenserring  
Position H

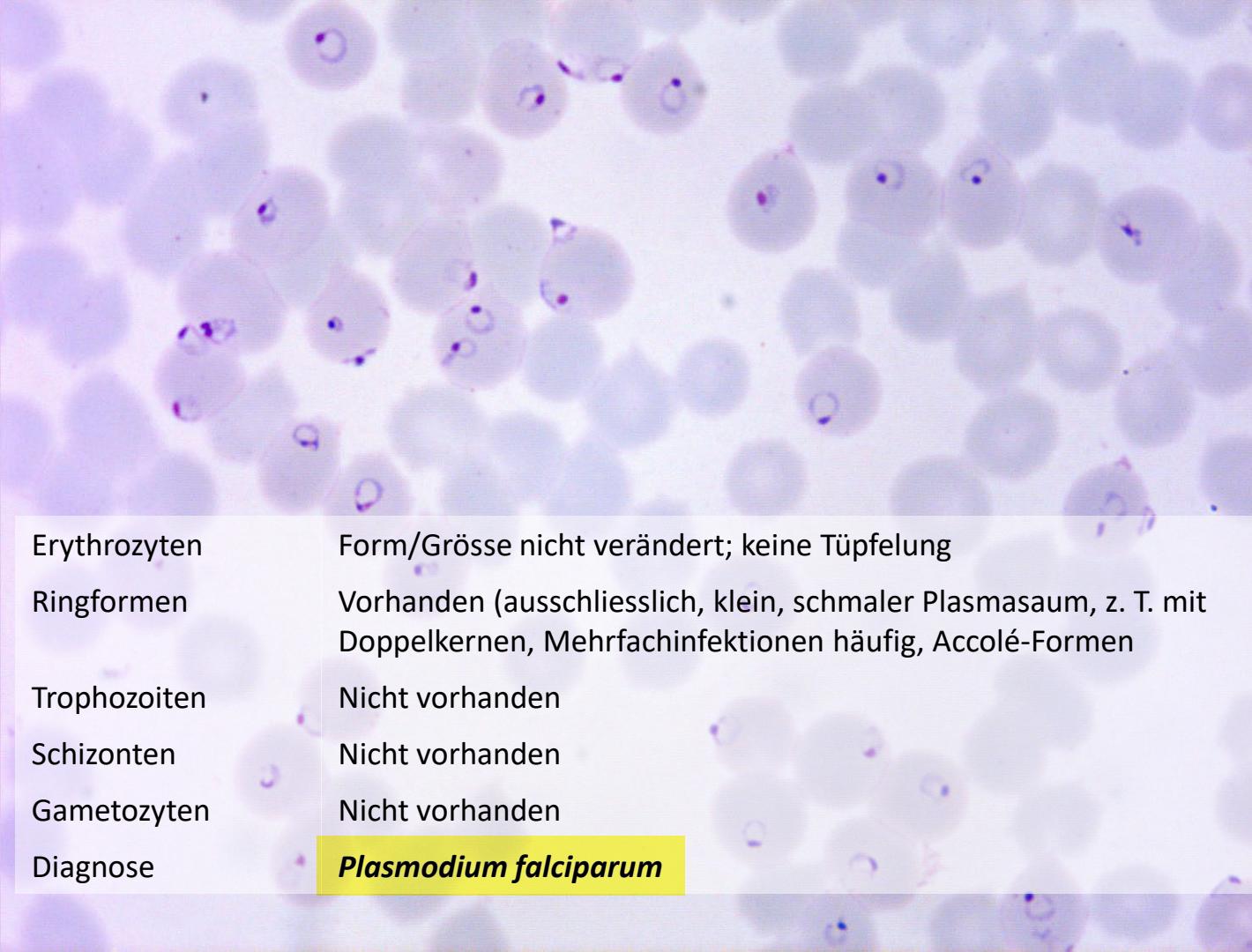
Blende öffnen

Lichtstärke  
regulieren

# Blutausstrich, Giemsa-Färbung





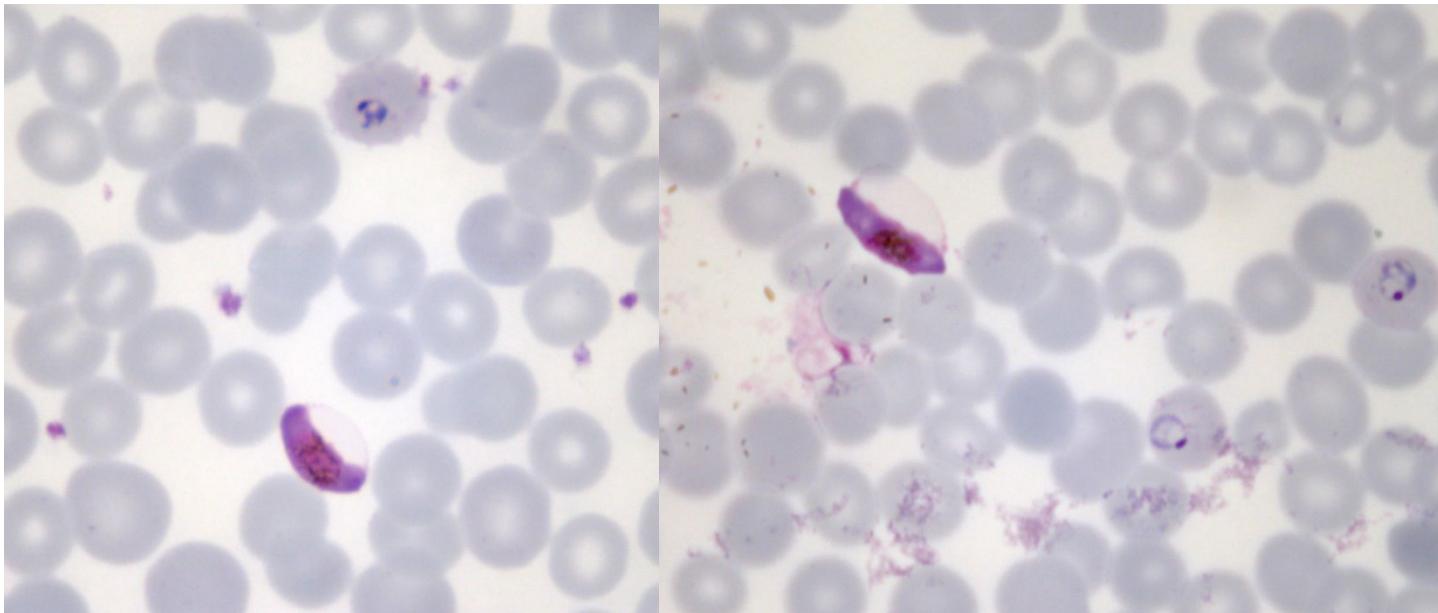


Erythrozyten	Form/Grösse nicht verändert; keine Tüpfelung
Ringformen	Vorhanden (ausschliesslich, klein, schmaler Plasmasaum, z. T. mit Doppelkernen, Mehrfachinfektionen häufig, Accolé-Formen
Trophozoitenten	Nicht vorhanden
Schizonten	Nicht vorhanden
Gametozyten	Nicht vorhanden
Diagnose	<b><i>Plasmodium falciparum</i></b>

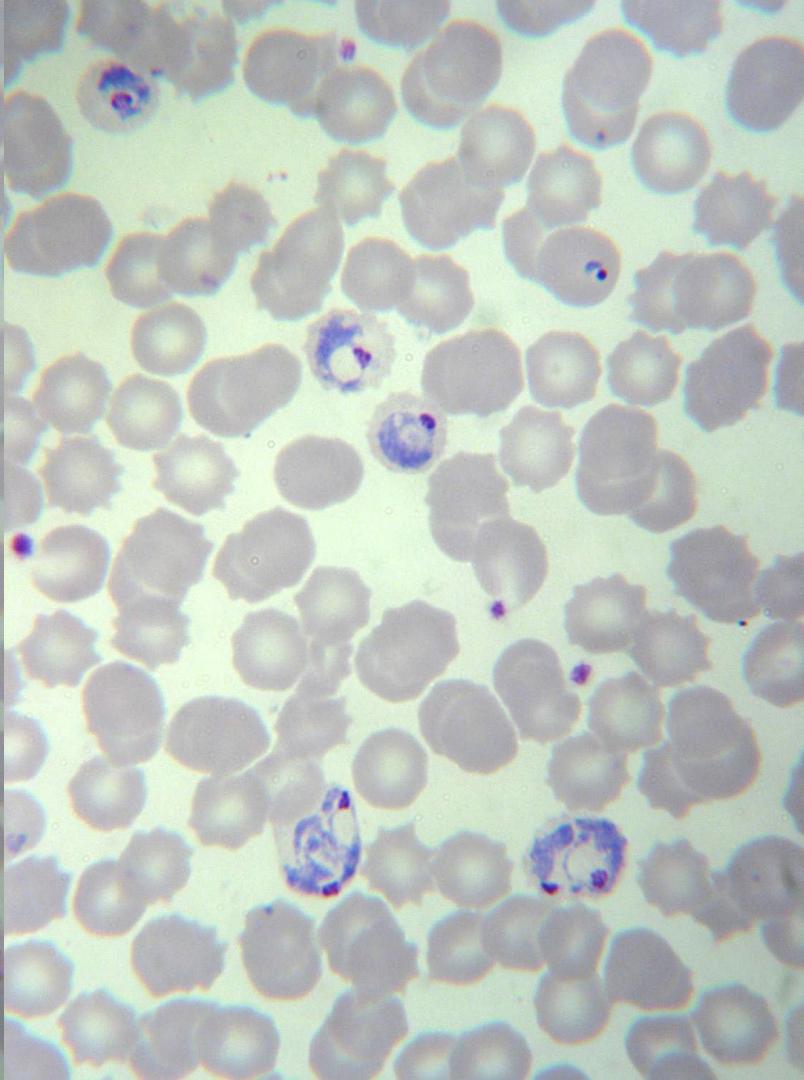
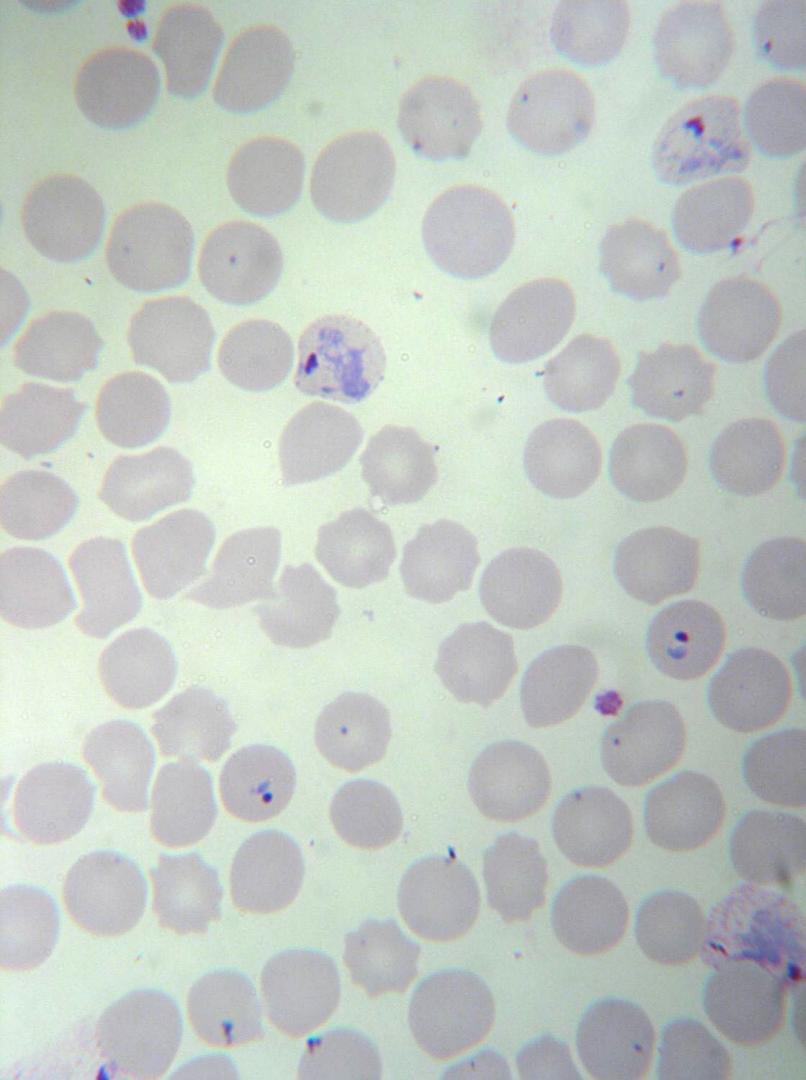
**Parasitämie**  
1000 Erys  
oder  
10 Gesichtsfelder auswerten.  
  
Hier:  $320/1250 \text{ Erys} = 25\%$   
(‘Normale’ Parasitämien  
häufig im Promillebereich)

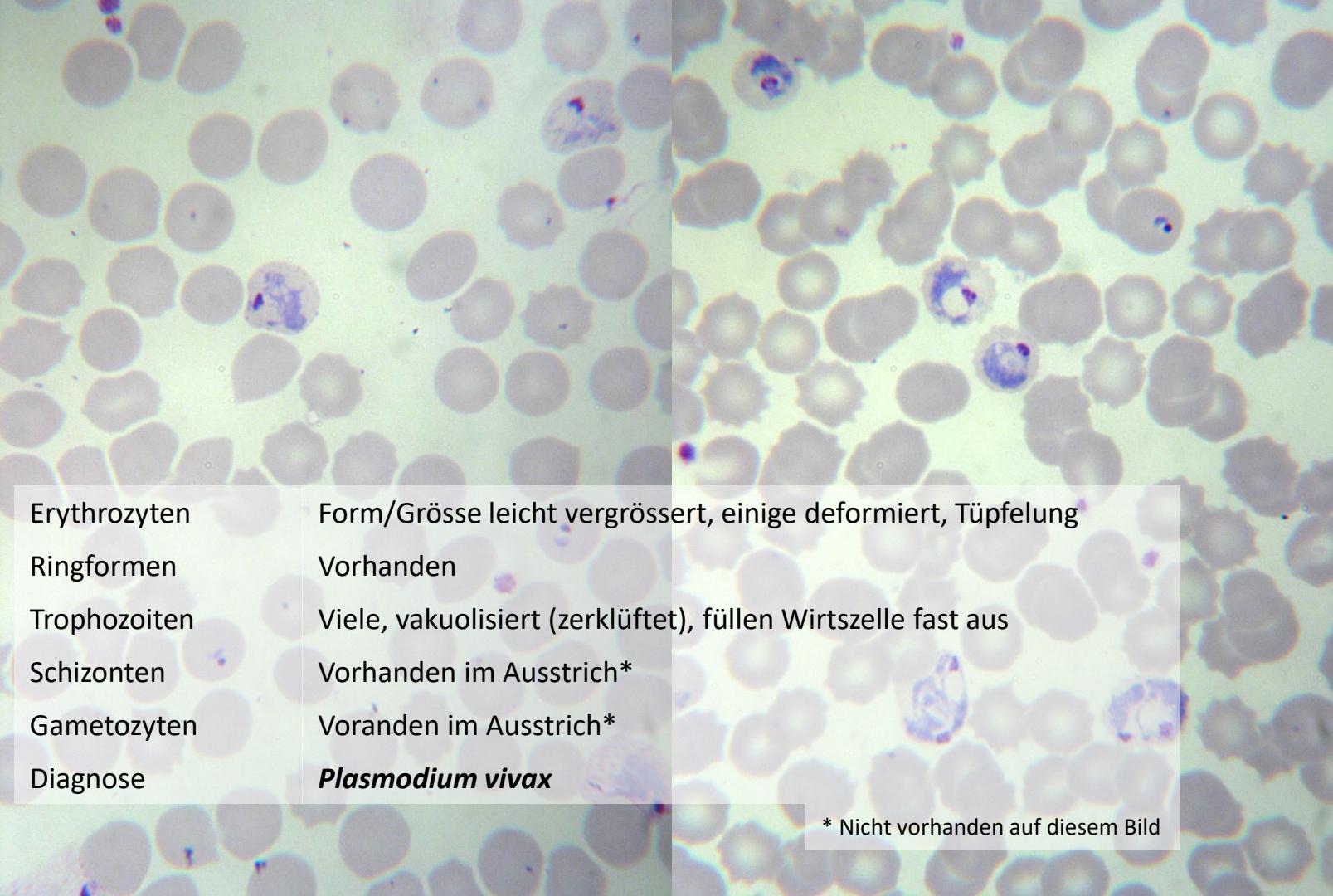
## Gametocyten von *Plasmodium falciparum*

---



Der Nachweis von bananenförmigen Plasmodium-Gametocyten ist beweisend für eine Infektion mit *Plasmodium falciparum*

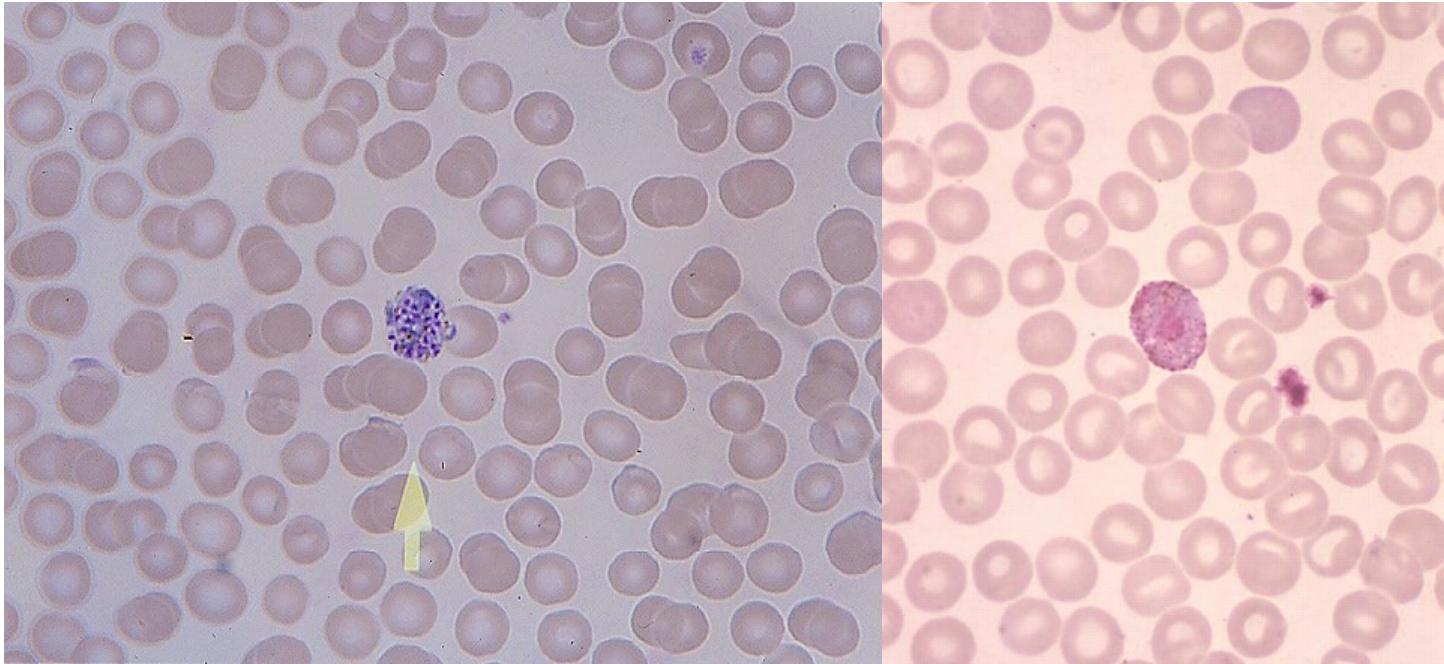


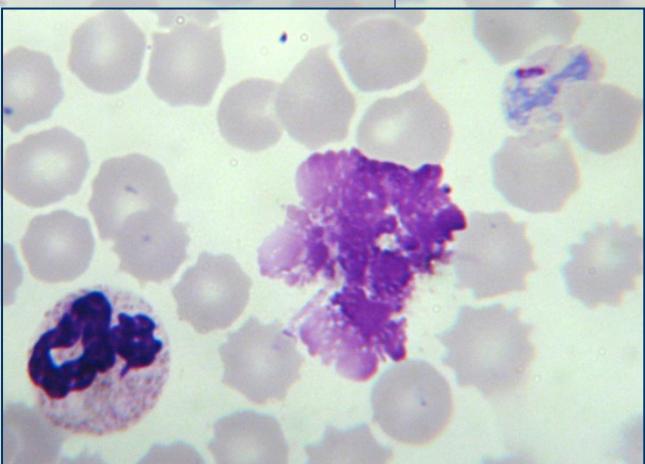


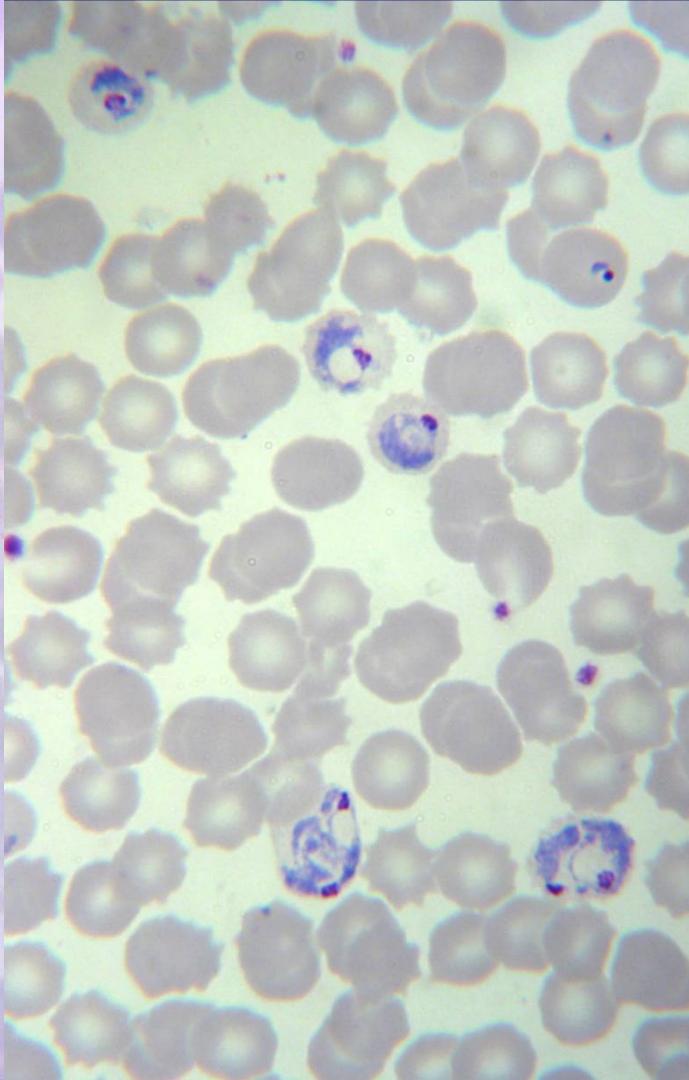
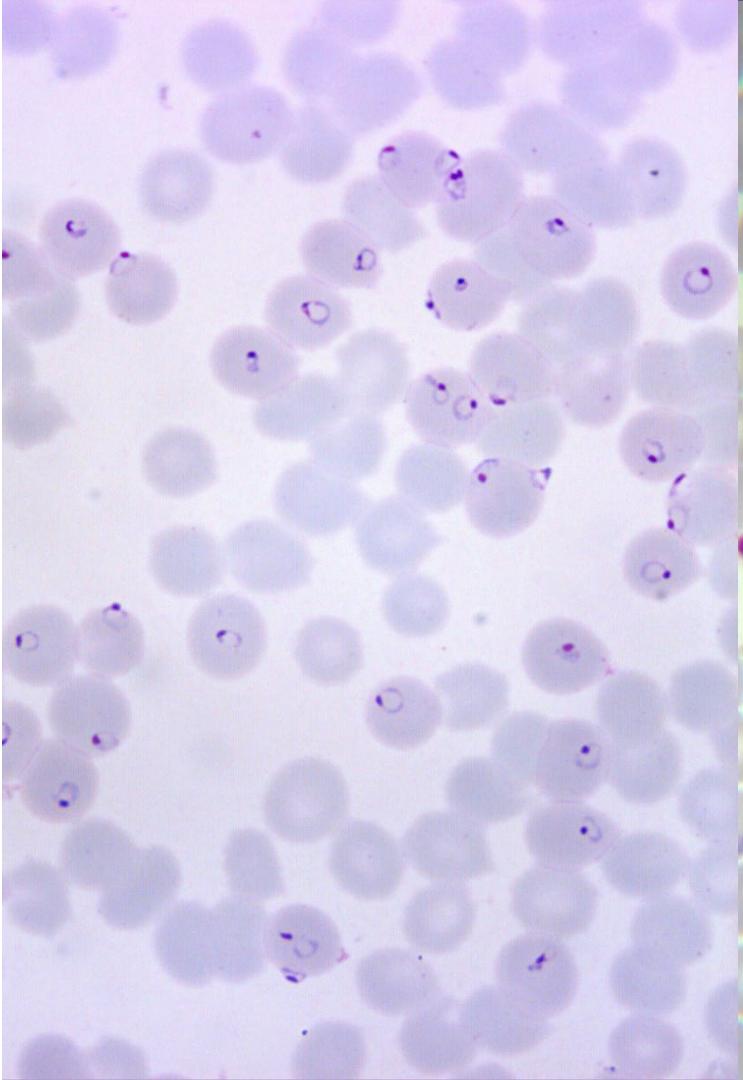
Erythrozyten	Form/Grösse leicht vergrössert, einige deformiert, Tüpfelung
Ringformen	Vorhanden
Trophozoiten	Viele, vakuolisiert (zerklüftet), füllen Wirtszelle fast aus
Schizonten	Vorhanden im Ausstrich*
Gametozyten	Vorandren im Ausstrich*
Diagnose	<b><i>Plasmodium vivax</i></b>

\* Nicht vorhanden auf diesem Bild

## *Plasmodium vivax*: Schizont, Gametozyt

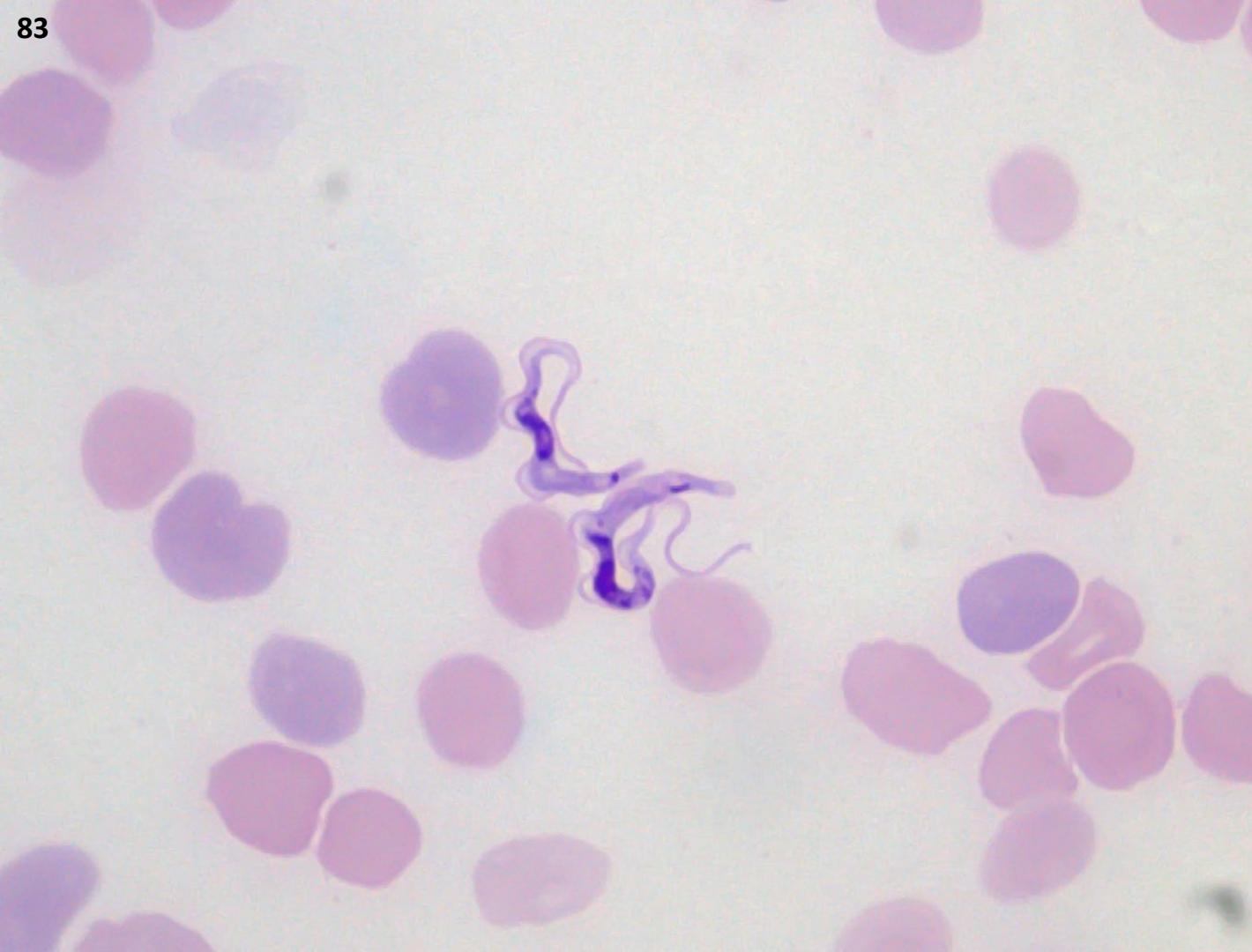




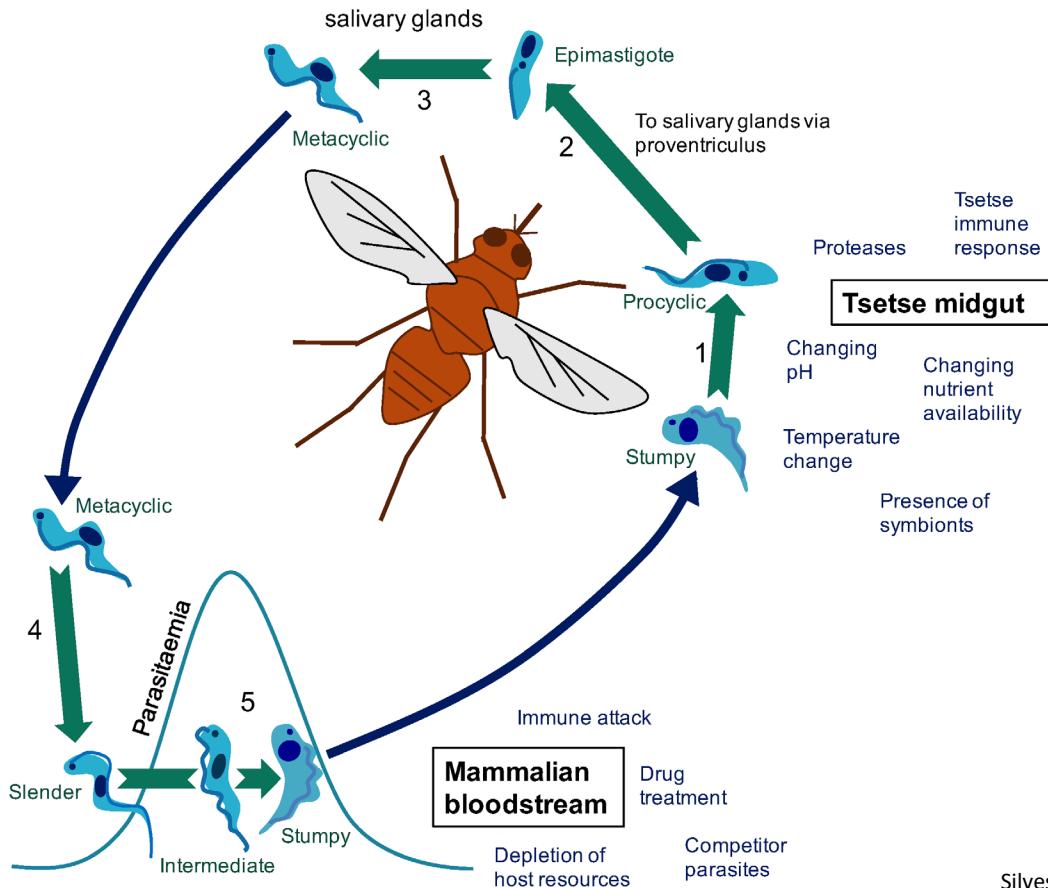
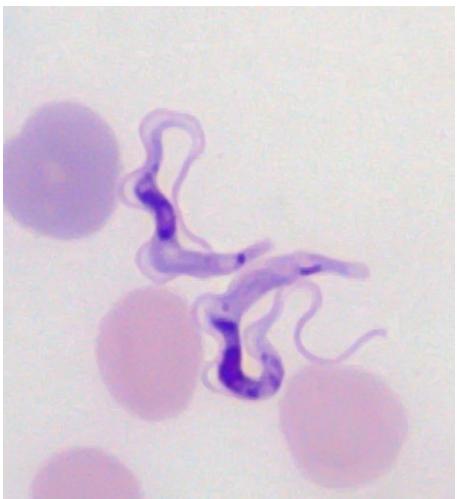




83



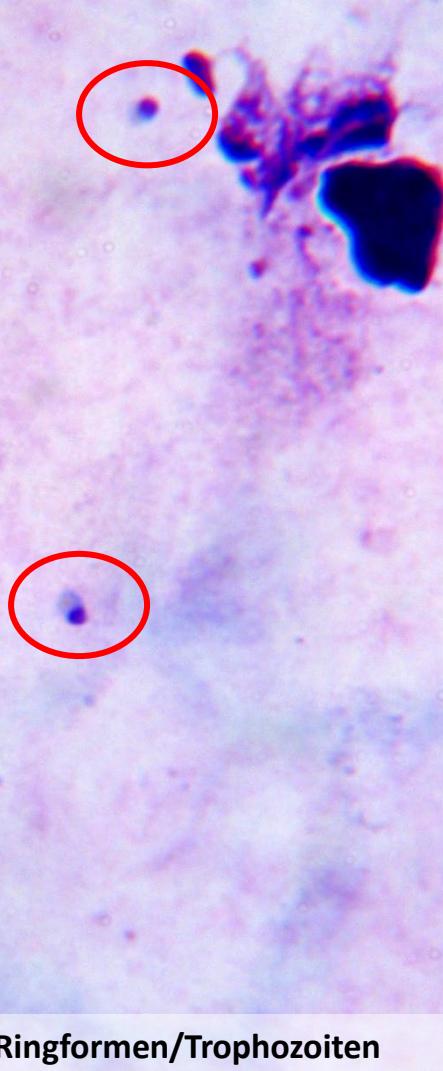
# Trypanosoma



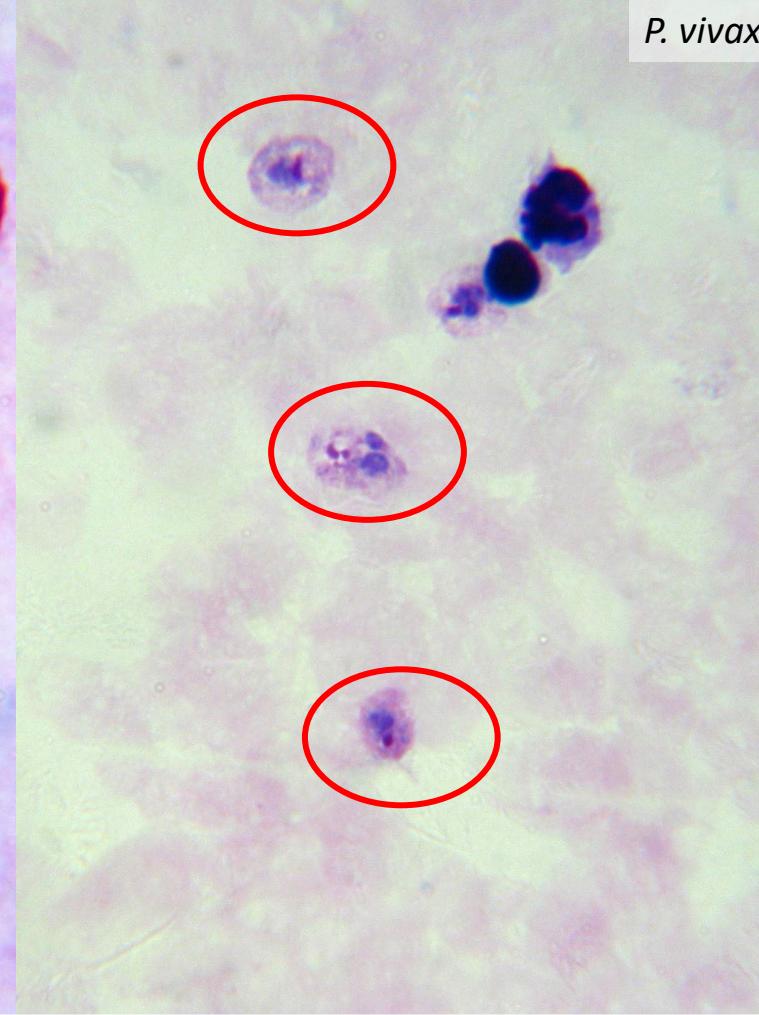
# Trypanosoma – Schlafkrankheit

	<i>T. brucei gambiense</i>	<i>T. b. rhodesiense</i>
Verbreitung	W-/Z-Afrika	E-/SE-Afrika
Übertragung	<b>Tsetsefliegen</b>	<b>Tsetsefliegen</b>
	<i>G. palpalis</i> -Grupp	<i>G. morsitans</i> -Gruppe
Reservoir	Feuchtbiotope Schwein, Rind Hund	Savannenbiotope Antilopen, Rind, Schaf, Ziege Löwe, Hyäne, Hund, ...
<b>Stadium 1</b> (hämolymphatische Phase)	Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Gelenk- und Muskelschmerzen, Lymphadenopathie, Anämie	
<b>Stadium 2</b> (meningoencephalitische Phase)	Meningoencephalitis, epileptiforme Krämpfe, Somnolenz, Apathie, Koma	
Parasitämie	ehler niedrig	hoch
Verlauf	ehler chronisch	ehler akut
ZNS-Infektion	4-6 Monate p.i.	nach wenigen Wochen
Dauer	Monate - Jahre	wenige Monate

*P. falciparum*

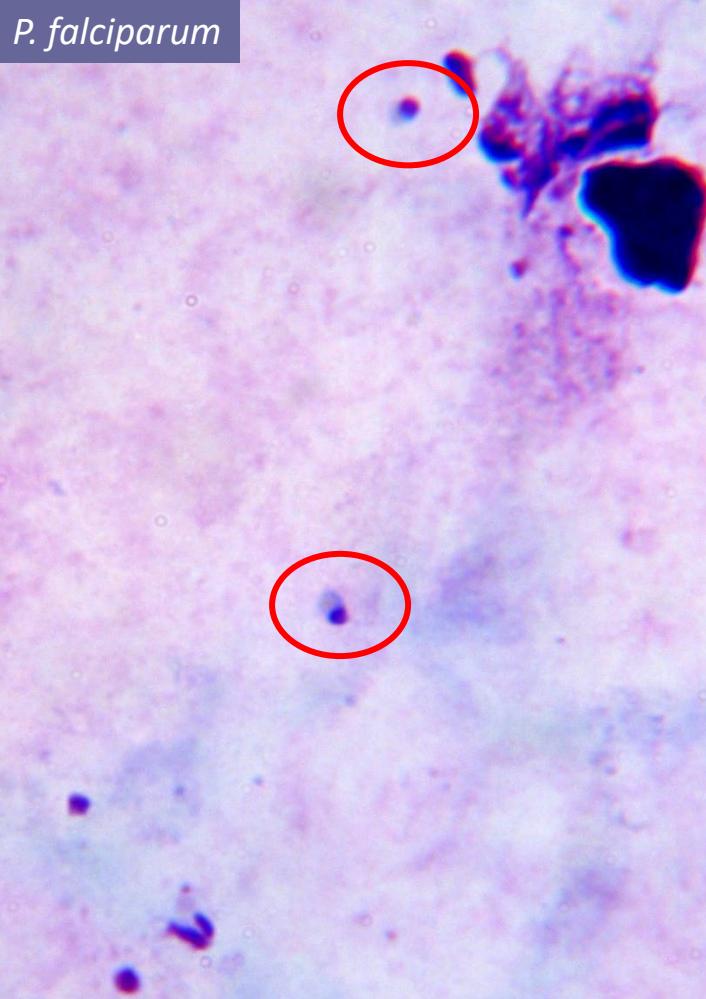


*P. vivax*

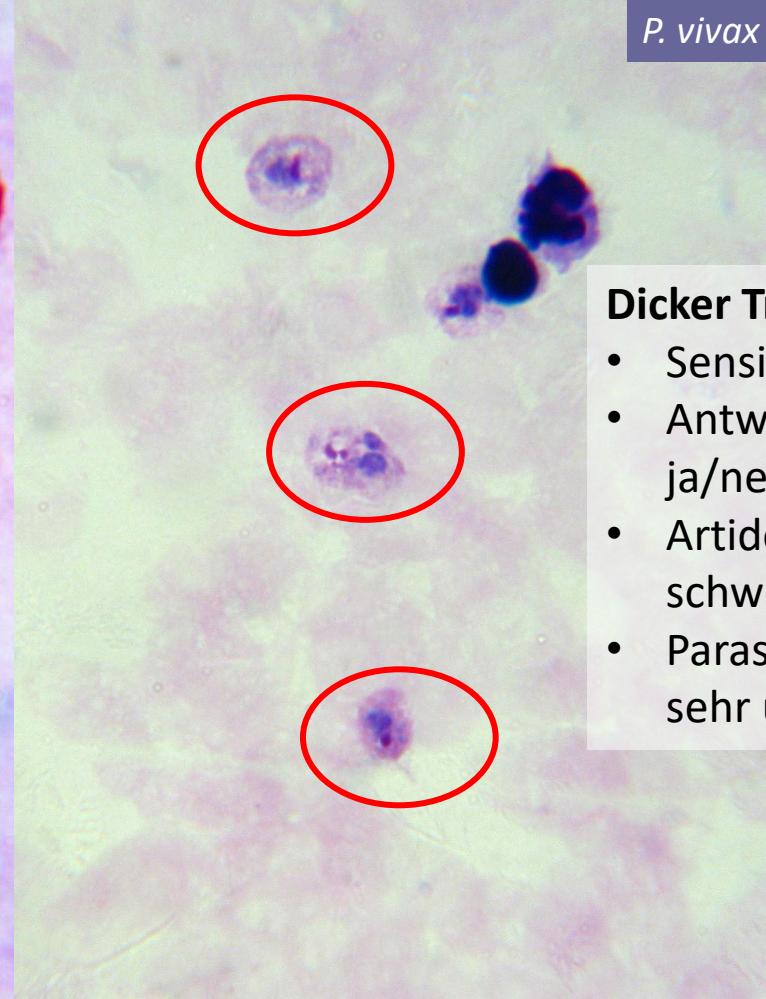


Dicker Tropfen: Ringformen/Trophozoiten

*P. falciparum*



*P. vivax*



### Dicker Tropfen:

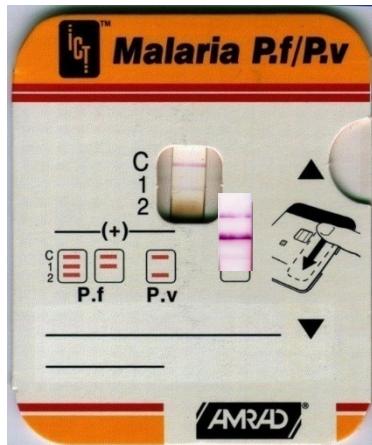
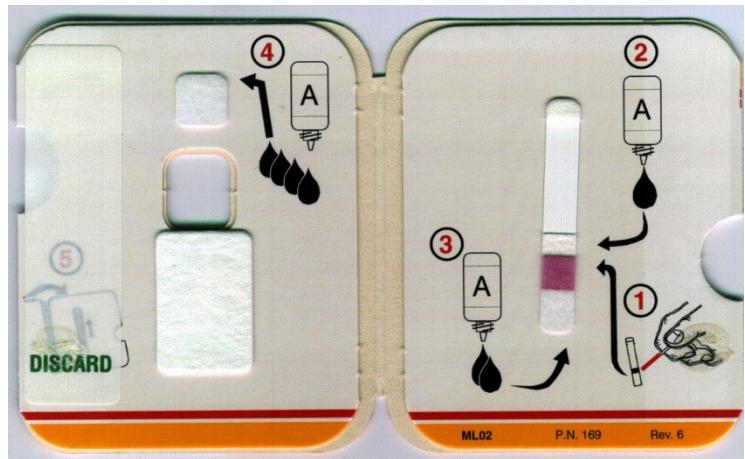
- Sensitiver als Ausstrich
- Antwort: Plasmodien ja/nein
- Artidentifikation schwierig
- Parasitämiebestimmung sehr ungenau

## Malaria: Alternativen zur Mikroskopie

---

- Welche Alternativen können Sie sich vorstellen?

# Malaria: Antigennachweis



- Nur begleitend zu Ausstrich/d. Tropfen
- Ev. als erster Screeningtest in der Praxis
- Nicht geeignet für Laien (Selbsttest): Trefferquote: 10% - 50%

# Malaria – Serologische Diagnose?

---

Infektion induziert Bildung spezifischer Antikörper (IgM, IgG)

Antikörper 5-10 Tage nach Krankheitsbeginn nachweisbar

Artdiagnose nicht möglich

Antikörper können sehr lange persistieren

→ **Nicht geeignet zur Diagnose einer akuten Infektion**

## Anwendungen

Blutspender nach Tropenaufenthalt (Ausschluss von Spende)

,Verschleppte‘ Infektionen

Chronische Infektionen

# Malaria – DNA-Nachweis



JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Apr. 2009, p. 975–980  
0095-1137/09/\$08.00+0 doi:10.1128/JCM.01858-08  
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 47, No. 4

## Multiplexed Real-Time PCR Assay for Discrimination of *Plasmodium* Species with Improved Sensitivity for Mixed Infections<sup>V</sup>

Sandra E. Shokoples,<sup>1</sup> Momar Ndao,<sup>2</sup> Kinga Kowalewska-Grochowska,<sup>3</sup> and Stephanie K. Yanow<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Provincial Laboratory for Public Health, Edmonton, Alberta, Canada;<sup>2</sup>National Reference Centre for Parasitology, Research Institute of the McGill University Health Centre, Montreal, Quebec, Canada;<sup>3</sup>and Department of Medical Microbiology and Immunology, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

Received 25 September 2008/Returned for modification 22 December 2008/Accepted 15 February 2009

The implementation of real-time PCR for the diagnosis of malaria has been hampered by poor sensitivity for the detection of mixed infections. We have optimized a method that enhances the sensitivity of detection of minor species in mixed infections within a single multiplex reaction. Our assay uses species-specific forward primers in combination with a conserved reverse primer and largely overcomes primer competition for the minor species DNA. With a blind panel of clinical samples, we successfully identified the species in 13/16 mixed infections. This assay was further validated with 91 blood samples and demonstrated a specificity and sensitivity for single infections of 100% compared with nested PCR as the "gold standard." This test has been implemented for routine confirmation of malaria species in Alberta, Canada. In comparison with species identification by microscopy, the real-time PCR test demonstrated greater sensitivity for the identification of species causing low-level and mixed infections and for the discrimination of *Plasmodium* species other than *Plasmodium falciparum*. Our experience supports a role for real-time PCR in the identification of malarial species in conjunction with microscopy.

# Automatische Bilderkennung mit einer Smartphone-App

[IEEE J Biomed Health Inform.](#) 2019 Sep 23. doi: 10.1109/JBHI.2019.2939121. [Epub ahead of print]

## Deep Learning for Smartphone-based Malaria Parasite Detection in Thick Blood Smears.

Yang F, Poostchi M, Yu H, Zhou Z, Silamut K, Yu J, Maude RJ, Jaeger S, Antani S.

### Abstract

**OBJECTIVE:** This work investigates the possibility of automated malaria parasite detection in thick blood smears with smartphones.

**METHODS:** We are developing the first deep learning method that can detect malaria parasites in thick blood smear images and can run on smartphones. Our method consists of two processing steps. First, we apply an intensity-based Iterative Global Minimum Screening (IGMS), which performs a fast screening of a thick smear image to find parasite candidates. Then, a customized Convolutional Neural Network (CNN) classifies each candidate as either parasite or background. Together with this paper, we make a dataset of 1819 thick smear images from 150 patients publicly available to the research community. We used this dataset to train and test our deep learning method, as described in this paper.

**RESULTS:** A patient-level five-fold cross-evaluation demonstrates the effectiveness of the customized CNN model in discriminating between positive (parasitic) and negative image patches in terms of the following performance indicators: accuracy ( $93.46\%\pm0.32\%$ ), AUC ( $98.39\%\pm0.18\%$ ), sensitivity ( $92.59\%\pm1.27\%$ ), specificity ( $94.33\%\pm1.25\%$ ), precision ( $94.25\%\pm1.13\%$ ), and negative predictive value ( $92.74\%\pm1.09\%$ ). High correlation coefficients ( $>0.98$ ) between automatically detected parasites and ground truth, on both image level and patient level, demonstrate the practicality of our method.

**CONCLUSION:** Promising results are obtained for parasite detection in thick blood smears for a smartphone application using deep learning methods.

**SIGNIFICANCE:** Automated parasite detection running on smartphones is a promising alternative to manual parasite counting for malaria diagnosis, especially in areas lacking experienced parasitologists.



# Malaria-Schnüffel-Hunde

## THE LANCET Infectious Diseases

Volume 19, Issue 6, June 2019, Pages 578-580



Correspondence

### Trained dogs identify people with malaria parasites by their odour

Claire Guest <sup>a</sup>, Margaret Pinder <sup>b</sup>, Mark Doggett <sup>a</sup>, Chelci Squires <sup>e</sup>, Muna Affara <sup>c</sup>, Balla Kandeh <sup>f</sup>, Sarah Dewhurst <sup>e</sup>, Steven V Morant <sup>g</sup>, Umberto D'Alessandro <sup>c</sup>, James G Logan <sup>d</sup>, Steve W Lindsay <sup>b</sup>✉

	Indication		Total
	No	Yes	
<b>Dog L</b>			
Uninfected	132 (91.0%)	13 (9.0%)	145
Malaria	8 (26.7%)	22 (73.3%)	30
<b>Dog S</b>			
Uninfected	131 (90.3%)	14 (9.7%)	145
Malaria	9 (30.0%)	21 (70.0%)	30

Data are n (%).

**Table 1:** Malaria sample detection by individual dogs

# Malaria: Alternativen zur Mikroskopie

# Diagnose der Malaria

---

<b>Standardmethode</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mikroskopie: <b>Dicker Tropfen und Ausstrich, Giemsa-Färbung</b> (Goldstandard)</li><li>• <b>PCR</b> (aktuell nicht in AL*), zukünftige Methode der Wahl.</li></ul>
<b>Resultat</b>	Art und Parasitämie
<b>Material</b>	Kapillarblut, venöses Blut (EDTA)
<b>Einsendung</b>	Kurier/Express (im Notfall Kontakt mit Labor aufnehmen), <b>Kontaktdaten angeben</b>
<b>Bemerkungen</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Daran denken!</li><li>• Frage nach Reisen, Auslandaufenthalten</li><li>• Eine einmalige Untersuchung mit negativen Resultat schliesst eine Infektion nicht aus!</li></ul>
<b>Ergänzend</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Antigennachweis im Blut (nicht als alleinigen Test einsetzen)</li><li>• Antikörpernachweis (nicht geeignet zur Akutdiagnostik)</li></ul>

## Zwischenruf

---

Mikroskopie ???

Wie gut/sicher kann das denn sein ???

## Externe Qualitätskontrolle: UK NEQAS

	Mittel CH-Labore	Maximum	DZP
Blutparasitologie	15.5	18	18
Stuhlparasitologie	33.4	38	36
Malaria Rapid	7.9	8	8
Parasitenserologie	28.2	30	29
Toxoplasma IgG	36	36	36
Toxoplasma IgM	16	16	16

# Microscopy – The Gold Standard?

---

«What I see I can prove»



Specimen	POS/N	Correct
6696	316/460	67%
6288	354/403	88%
6140	408/474	86%
5511	276/385	72%
5223	423/487	87%
4901	409/440	93%

# Microscopy – Der Gold-Standard?

«Was ich sehe, kann ich beweisen»



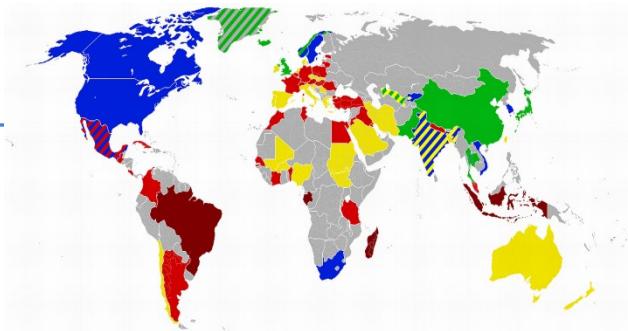
Sample ID	POS/N	Korrekt
6696	316/460	67%
6288	354/403	88%
6140	412/400	86%
5511	276/385	72%
5512	423/487	87%
4901	409/440	93%

Keine Parasiten vorhanden

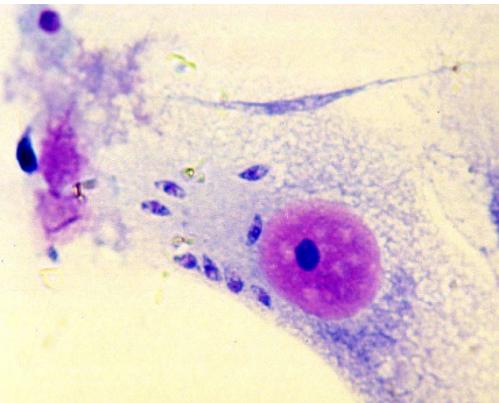
«Blastocystis, Endolimax, Taenia, Entamoeba hartmanni,  
Entamoeba histolytica-type, Ascaris, Chilomastix,  
Cryptosporidium, Dientamoeba, Echinococcus granulosus,  
Cyclospora, Strongyloides, Giardia, Schistosoma, ...



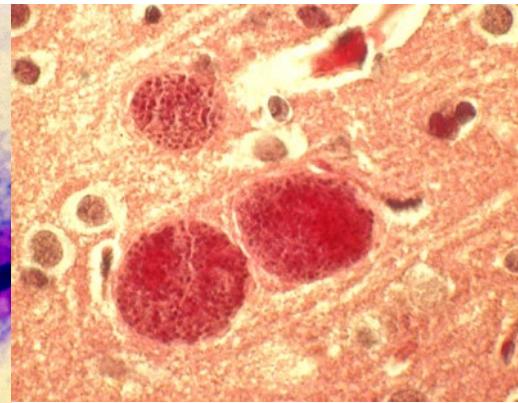
# *Toxoplasma gondii*, der erfolgreichste Parasit



Oozysten  
Katzenkot



Tachyzoiten  
intrazellulär



Bradyzoiten  
in Gewebezysten

## *T. gondii* - Seroprävalenz beim Menschen

Schwangerschaft					Blutspender		
FRA		NED		CH		ARG	
1960s	80%	1996	35%	1973-1987	59%	1967	67%
1980s	66%	2006	18%	1990-1991	46%	1992	43%
1995	54%			2000	35%	1997	39%
2003	44%			2014*	10%	2002	35%
Villena et al., 2010		Hofhuis et al., 2011		Jacquier et al., 1995 Signorell et al. 2006 *Wenner 2014 unpublished		Durlach et al., 2008	

### Abnahme der Infektionen in den letzten Jahrzehnten

- Höhere Hygiene-Standards
- „in-door“-Tierhaltung
- Kommerzielles Katzenfutter

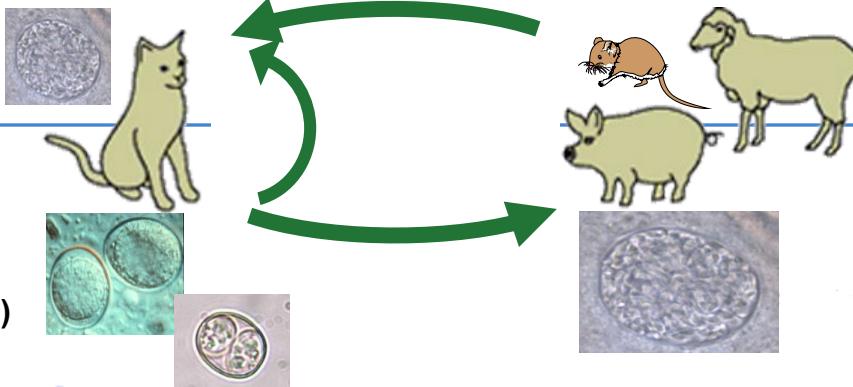
Tendenz zur organischen und tierfreundlichen Produktion mit Freilandhaltung → Anstieg?

# Toxoplasma

Endwirt KATZE

Oocysten im Kot

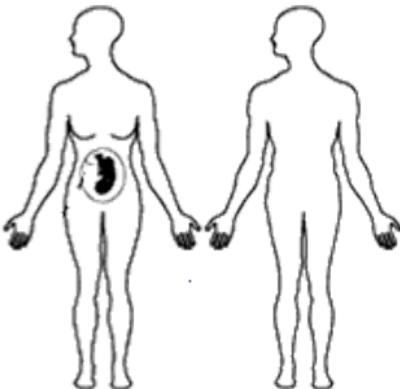
(erst 1 - 5 Tage nach  
Ausscheidung infektiös)



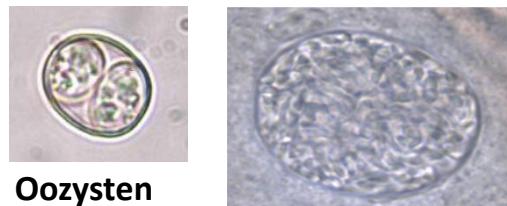
Zwischenwirte  
Extrem breites Spektrum  
Säuger, Vögel  
**Zysten im Gewebe**

- Kontakt (?)
- Hand → Mund
- Kontaminierte Lebensmittel, Wasser

- Halbgegartes Fleisch
- Hand → Mund



# „Toxoplasma Zyklen“ im Zwischenwirt

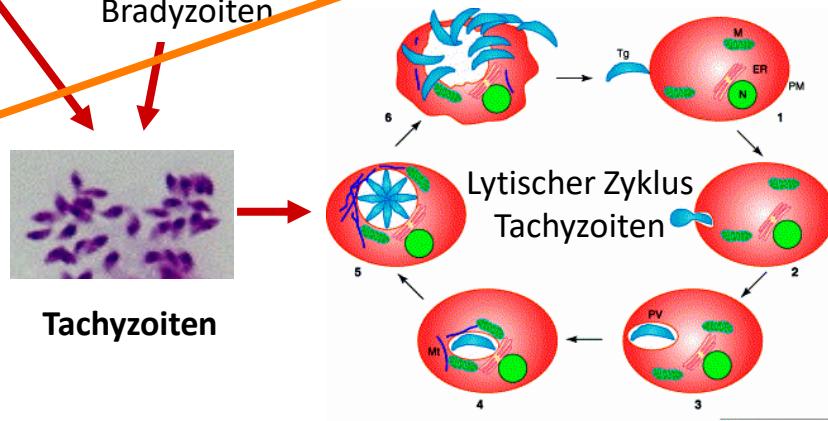


1

## Oozysten

Zysten

-Infektion

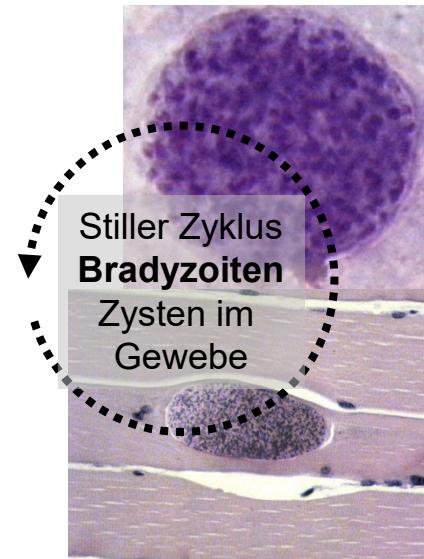


## Tachyzoiten

## **Immunantwort**

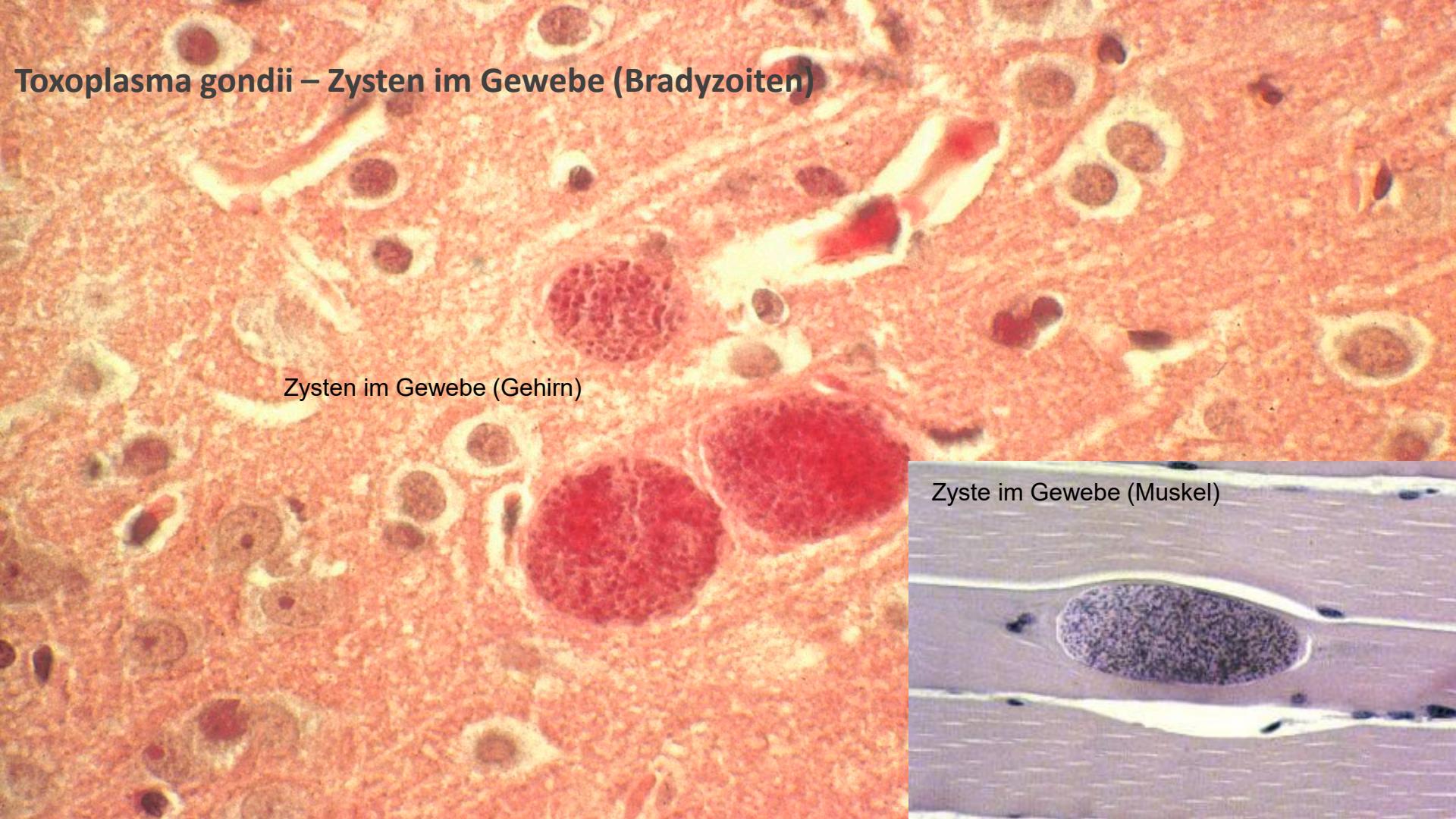
### Th1, IFN- $\gamma$ , NO

akut - chronisch



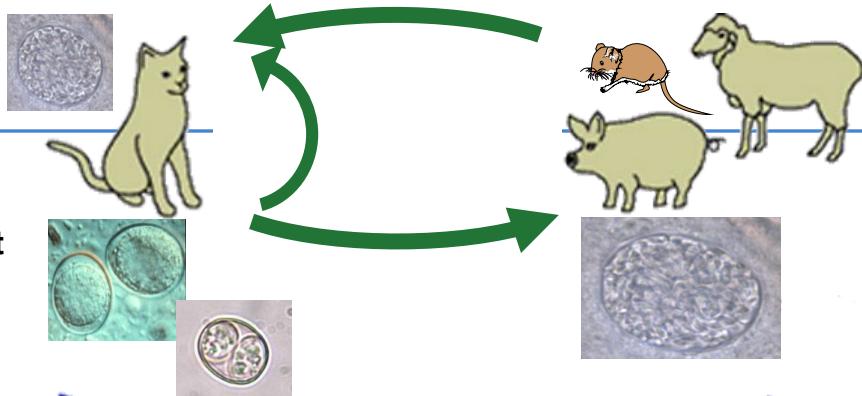
## Toxoplasma gondii – Zysten im Gewebe (Bradyzoiten)

Zysten im Gewebe (Gehirn)



Zyste im Gewebe (Muskel)

# Toxoplasma



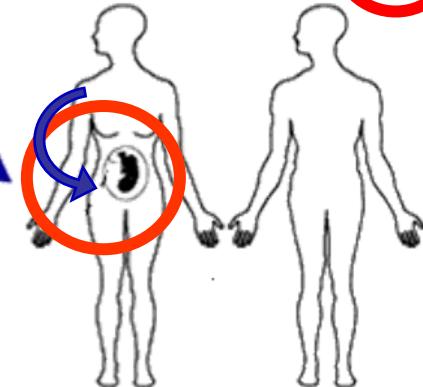
Endwirt KATZE  
Oocysten im Kot

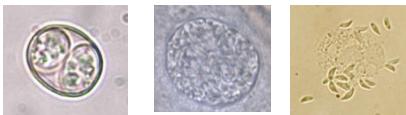
Zwischenwirte  
Extrem breites Spektrum  
**Zysten im Gewebe**

- Kontakt (?)
- Hand → Mund
- Kontaminierte Lebensmittel, Wasser

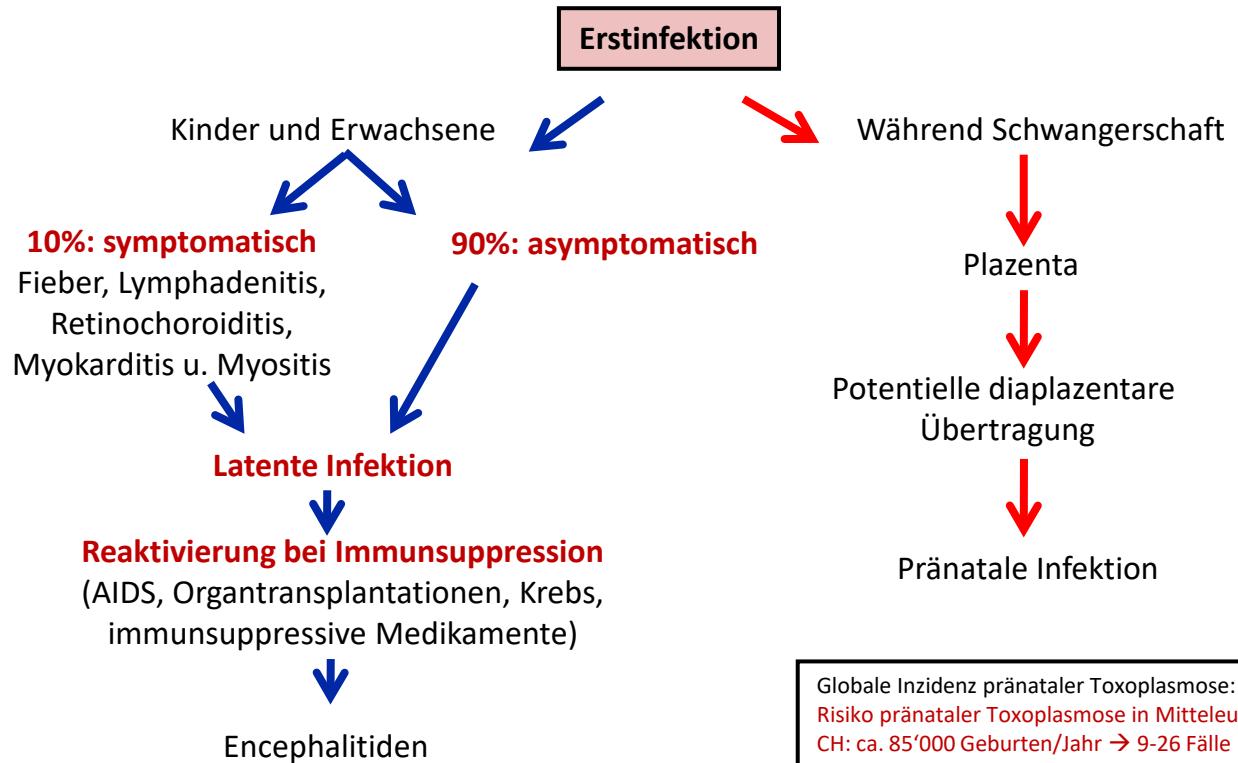
Reaktivierung  
Transplantation

- Halbgegartes Fleisch
- Hand → Mund





# Toxoplasmose beim Menschen



<http://cdn.grid.fotosearch.com/>

Globale Inzidenz pränataler Toxoplasmose: 190'000 Fälle/Jahr  
Risiko pränataler Toxoplasmose in Mitteleuropa: 0.01-0.03%  
CH: ca. 85'000 Geburten/Jahr → 9-26 Fälle

# Risikofaktoren

Exposure	Cases		Controls		Odds ratio (95% CI)	P value
	Exposed	Not exposed	Exposed	Not exposed		
<b>Cat</b>						
Kitten in home	14	233	28	793	1.4 (0.7 to 2.8)	0.31
Adult cat in home	36	210	110	703	1.0 (0.6 to 1.5)	0.89
Cat and kitten in home	8	238	14	807	1.7 (0.7 to 4.1)	0.28
Any cat in home	42	206	124	697	1.0 (0.7 to 1.5)	0.99
Cleaning litter tray	26	214	65	748	1.3 (0.8 to 2.1)	0.37
Cat that hunts	23	230	47	752	1.6 (0.9 to 2.7)	0.12
Cat fed raw meat	14	225	43	763	1.0 (0.5 to 1.9)	0.97
Cat fed tinned food	37	208	113	705	1.0 (0.6 to 1.5)	0.81
<b>Meat</b>						
Cooked meat <1/week†	27	7	79	18	0.8 (0.3 to 2.1)	0.59
Cooked meat ≥1/week†	212		725		0.8 (0.3 to 1.9)	0.54
Raw sausage <1/week†	22	210	60	745	1.2 (0.7 to 2.0)	0.61
Raw sausage ≥1/week†	9		8		3.2 (1.2 to 9.0)	0.02‡
Dry to cured meat <1/week†	64	136	202	518	1.2 (0.8 to 1.7)	0.36
Dry to cured meat ≥1/week†	42		90		1.8 (1.2 to 2.8)	0.01‡
Salami <1/week†	76	47	297	187	1.0 (0.7 to 1.6)	0.89
Salami ≥1/week†	125		335		1.6 (1.1 to 2.4)	0.02‡
Raw/undercooked beef	103	140	181	636	2.4 (1.6 to 3.4)	<0.001§
Raw/undercooked lamb	19	220	17	795	3.2 (1.5 to 6.9)	0.002§
Raw/undercooked pork	21	219	33	779	1.6 (0.8 to 3.0)	0.18
Other raw/undercooked meat	15	225	11	801	3.9 (1.6 to 9.5)	0.003
Frozen meat	207	39	715	103	0.8 (0.5 to 1.2)	0.22
Taste meat cooking <1/week†	52	182	88	717	2.3 (1.5 to 3.4)	<0.001
Taste meat cooking ≥1/week†	14		13		4.7 (2.1 to 10.9)	<0.001§
<b>Other "food related" exposures</b>						
Unpasteurised milk	36	210	75	746	1.8 (1.1 to 2.9)	0.01
Untreated water	53	194	123	697	1.7 (1.1 to 2.6)	0.02
Use of microwave cooker	41	206	101	718	1.3 (0.8 to 2.2)	0.24
<b>Other "lifestyle" exposures</b>						
Contact with soil	109	139	267	553	1.9 (1.4 to 2.8)	<0.001‡
Working with animals	30	218	54	767	1.9 (1.1 to 3.0)	0.01§
Travel outside Europe/US or Canada	29	220	49	759	2.2 (1.3 to 3.6)	0.002
Living on farm	23	229	47	811	1.6 (0.9 to 2.7)	0.11

Sources of toxoplasma infection in pregnant women:  
European multicentre case-control study

A J C Cook, R E Gilbert, W Buffolano, J Zufferey, E Petersen, P A Jenum, W Foulon, A E Semprini,  
D T Dunn on behalf of the European Research Network on Congenital Toxoplasmosis

## Szenario: Schwangerschaft und Toxoplasmose

---

Frau, geb. 2000, CH, Bäuerin, verheiratet, keine Vorerkrankungen, mehrere Reisen nach N-Europa, Vegetarierin, baut eigenes Gemüse an.

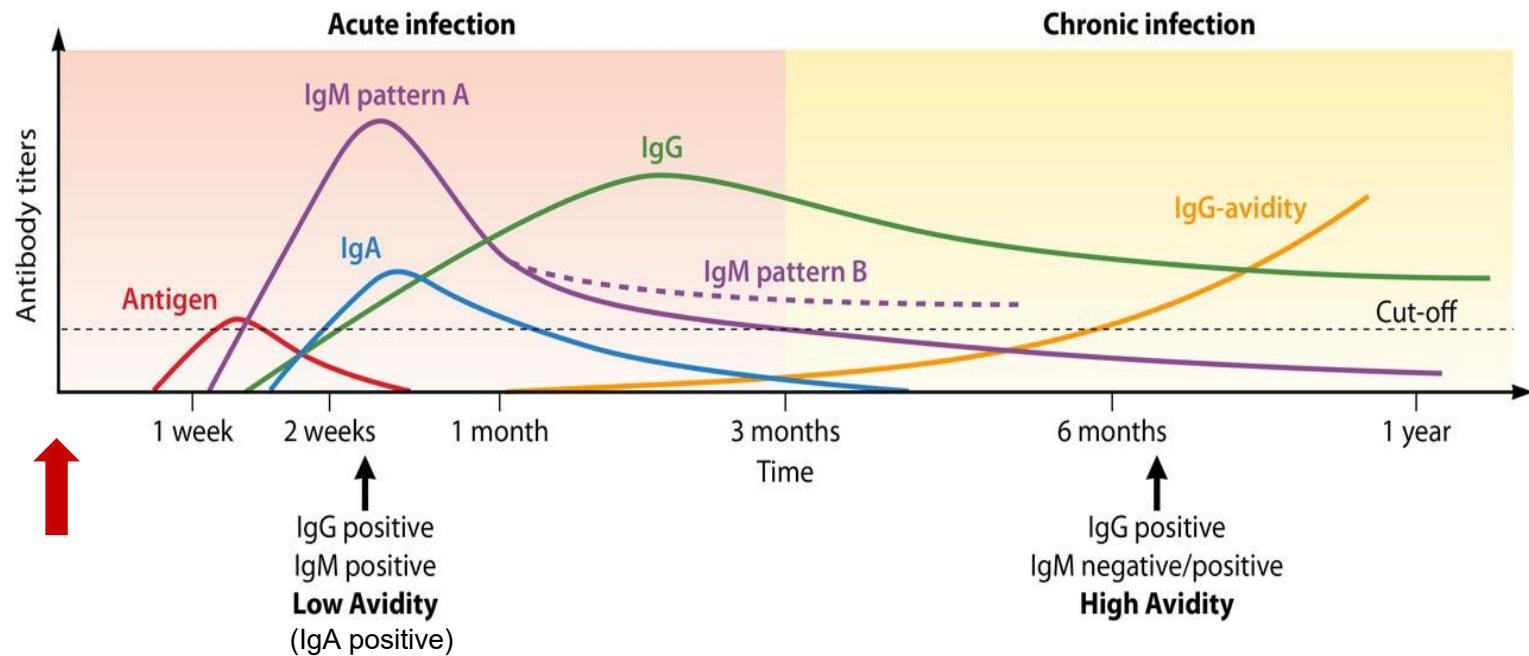
Schwanger, 8. Woche

Kennt Toxoplasma und die möglichen Folgen für das Kind bei einer Erstinfektion während der Schwangerschaft

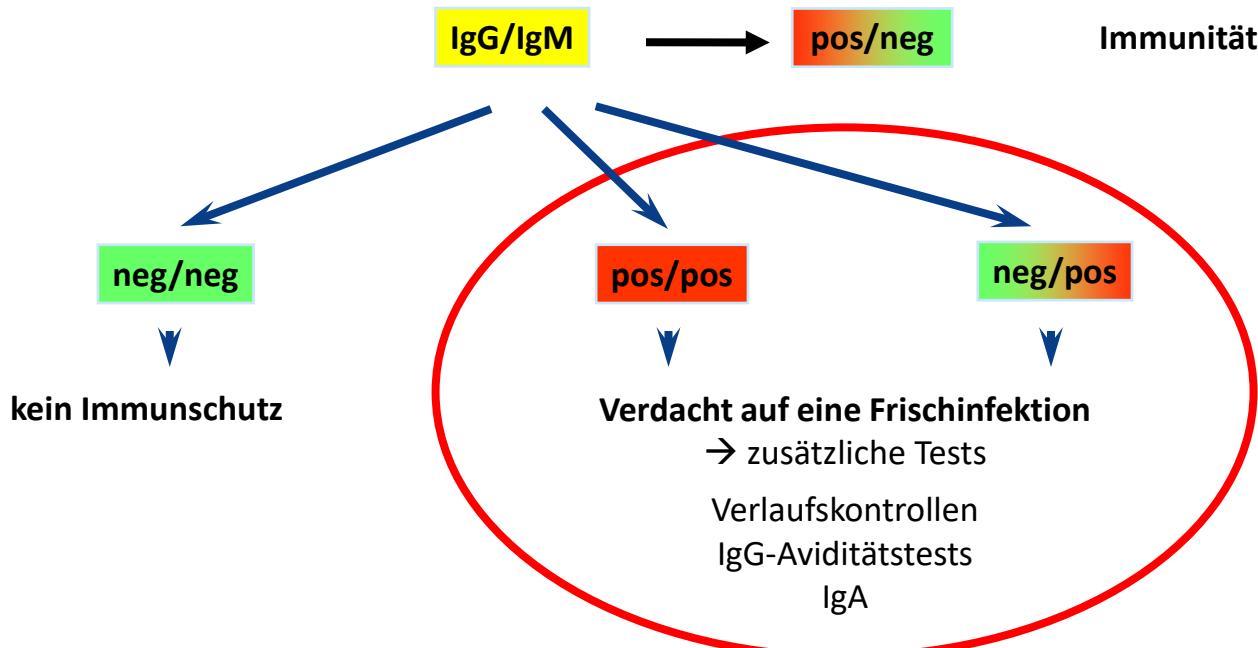
Möchte Abklärungen.

Untersuchungen??

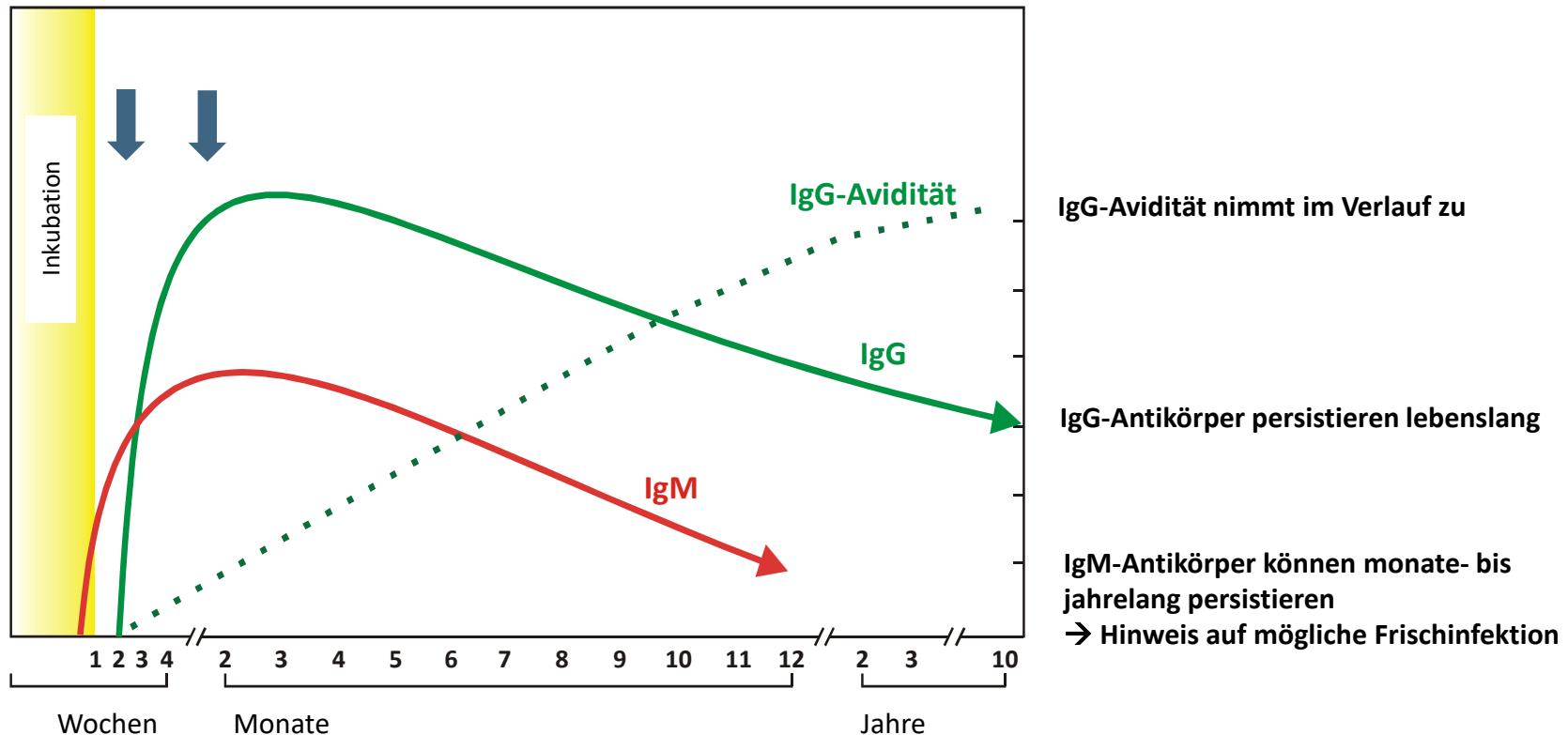
# Toxoplasmose - Antikörper-Verlauf



# Toxoplasmose-Abklärung: frische vs. 'alte' Infektion



## Toxoplasmose - Serologische Diagnose: IgG-Avidität



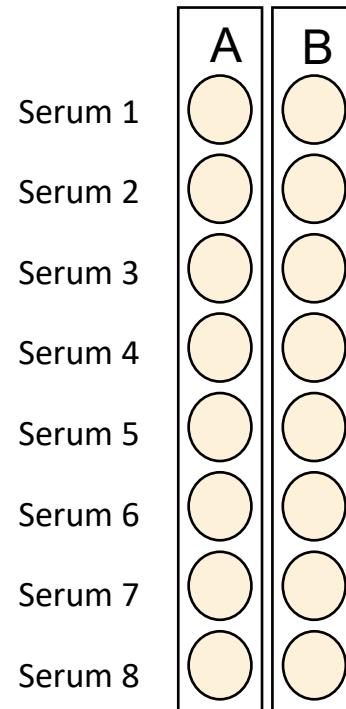
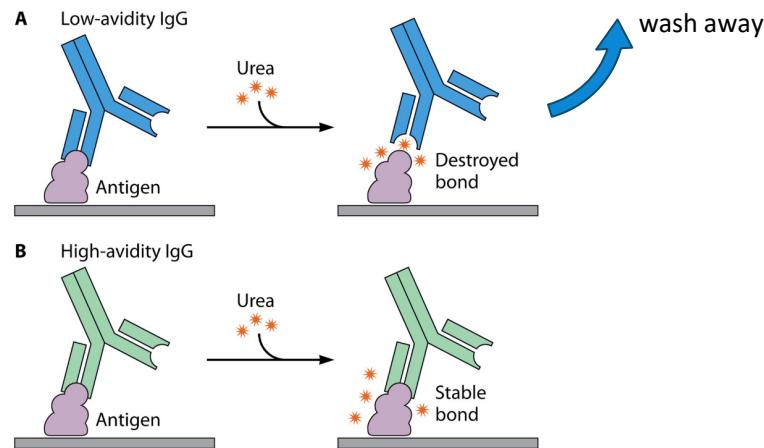
# IgG avidity-ELISA



## Modified IgG-ELISA

Sera are tested in parallel in strip A and B with an **additional incubation step**:

1. Serum
2. **PBS [strip A] or dissociating solution (e.g urea 6N) [strip B]**
3. Conjugate
4. Substrate



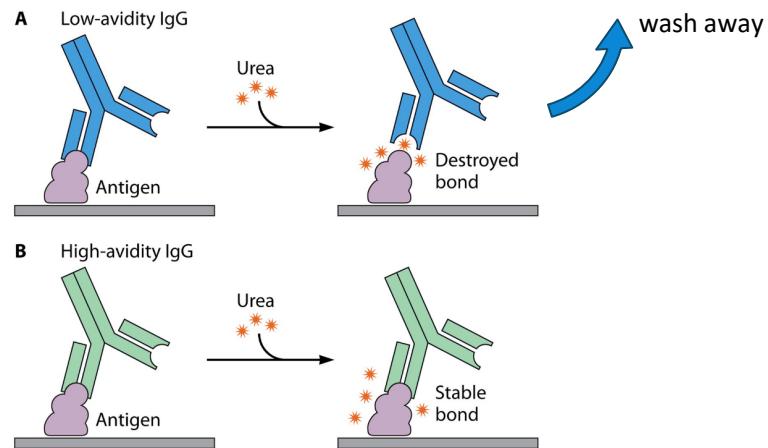
# IgG avidity-ELISA



## Modified IgG-ELISA

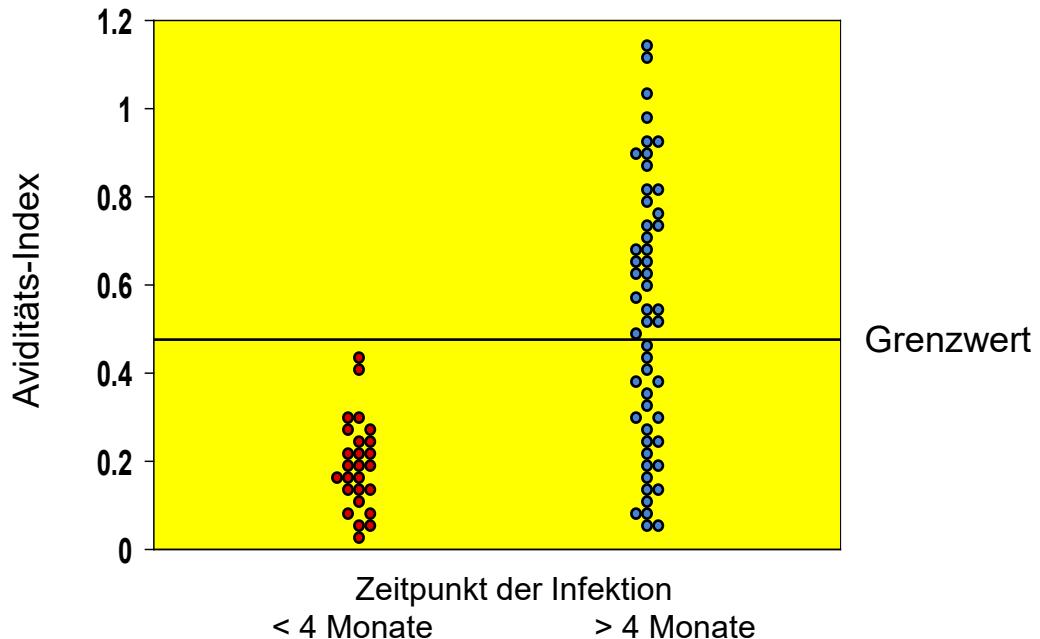
Sera are tested in parallel in strip A and B with an **additional incubation step**:

1. Serum
2. **PBS [strip A] or dissociating solution (e.g urea 6N) [strip B]**
3. Conjugate
4. Substrate



	A	B	
Serum 1	negative		
Serum 2	high avidity	high avidity	
Serum 3	low avidity	low avidity	
Serum 4	high avidity	high avidity	
Serum 5	low avidity	low avidity	
Serum 6	low avidity	low avidity	
Serum 7	high avidity	high avidity	
Serum 8		?	

# Diagnose der Toxoplasmose - IgG-Avidity-Assay



## Aussagen

**Hohe Avidität** = sicherer Hinweis auf eine ‚alte‘ Infektion

**Tiefe Avidität** = Hinweis auf mögliche frische Infektion; schliesst alte Infektion jedoch nicht aus.

# Toxoplasmose IgG/IgM und IgG-Avidität

IgG	IgM	IgG Avidität	Serologische Interpretation
neg	neg		keine Infektion
pos	neg		bestehende Infektion mit Immunschutz
neg	pos		Verdacht auf frische Infektion
pos	pos		Verdacht auf frische Infektion oder persistierendes IgM
pos	pos	tief	Hinweis auf eine alte Infektion mit persistierenden IgM-Antikörper
pos	pos	hoch	Frische Infektion möglich
pos	neg	hoch	Alte Infektion....
neg	pos	hoch	Macht keinen Sinn, weil IgG negativ

## Szenario: Schwangerschaft und Toxoplasmose

---

Frau, geb. 2000, CH, Bäuerin, verheiratet, keine Vorerkrankungen, mehrere Reisen nach N-Europa, Vegetarierin, baut eigenes Gemüse an.

Schwanger, 8. Woche

Kennt Toxoplasma und die möglichen Folgen für das Kind bei einer Erstinfektion während der Schwangerschaft

Möchte Abklärungen.

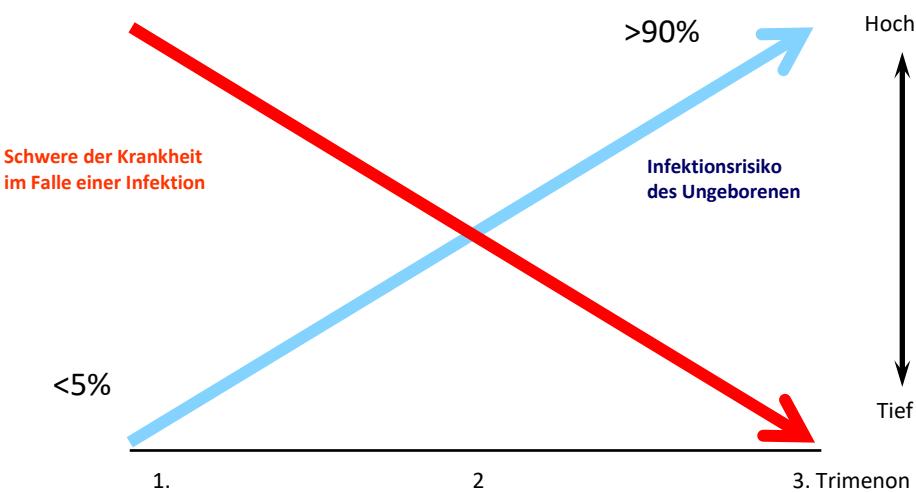
Resultate:

Serologie: IgG pos, IgM pos, IgG-Avidität tief → Verdacht auf eine frische Infektion

Follow up: IgG Anstieg, IgM pos, IgG-Avidität tief → Frische Infektion sehr wahrscheinlich

# Toxoplasmose & Schwangerschaft

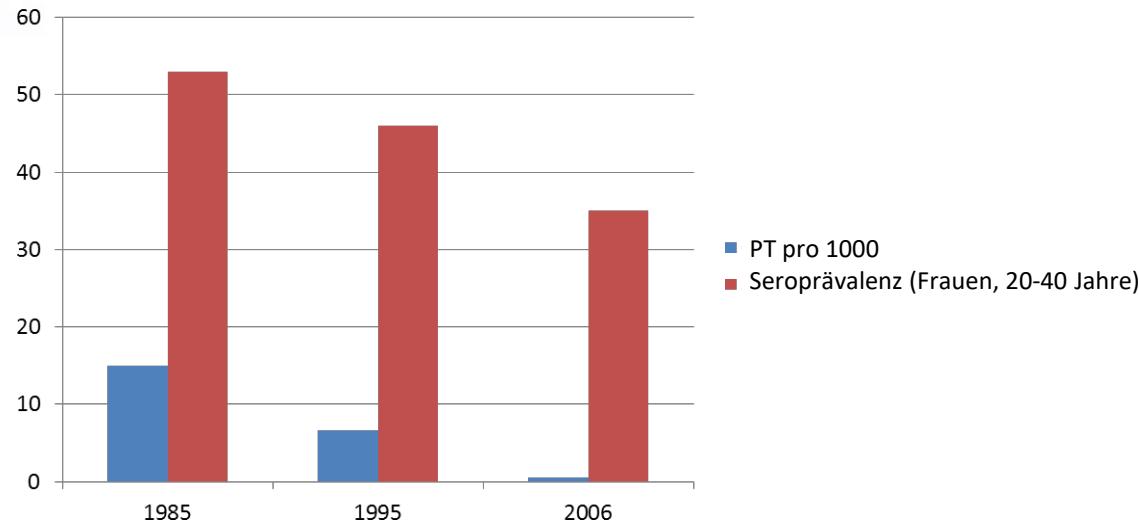
- Die pränatale Infektion des Fetus tritt nur bei Frauen auf, die sich während der Schwangerschaft erstmals mit *T. gondii* infizieren.
- Bei immunkompetenten Frauen, die chronisch inapparent infiziert sind, besteht keine Gefahr einer pränatalen Infektion des Fetus. Seltene Ausnahmen: Reinfektion mit exotischen, sehr virulenten Genotypen!



## Mögliche Folgen der pränatalen Infektion

- 10% klinisch gravierende Fälle:**
  - 15% perinataler Tod
  - 85% Gehirnschäden: Hydrozephalus, intrazerebrale Verkalkungen
- 15% mildere Symptomatik**
  - 99% Chorioretinitis → Sehstörungen bis Blindheit
  - 1% Gehirnschädigung → mentale Retardierung
- 75% subklinische Fälle**
  - 15% keine Schädigung
  - 85% Chorioretinitis (später)

# Pränatale Toxoplasmose



Jahr (Publikation)	PT pro 1000 Geburtens	1 PT pro X Geburten	Grundlage der Schätzung
1985 (Frenkel et al.)	15 pro 1'000	1 pro 67	
1995 (Jacquier et al.)	7 pro 1'000	1 pro 150	Seroprävalenzdaten
2006 (Signorell et al.)	0.5 pro 1'000	1 pro 2300	Klinische Falldefinitionen

PT, pränatale Toxoplasmose

# Toxoplasmose – Westernblot-Profile



## Congenital toxoplasmosis at birth (D0):

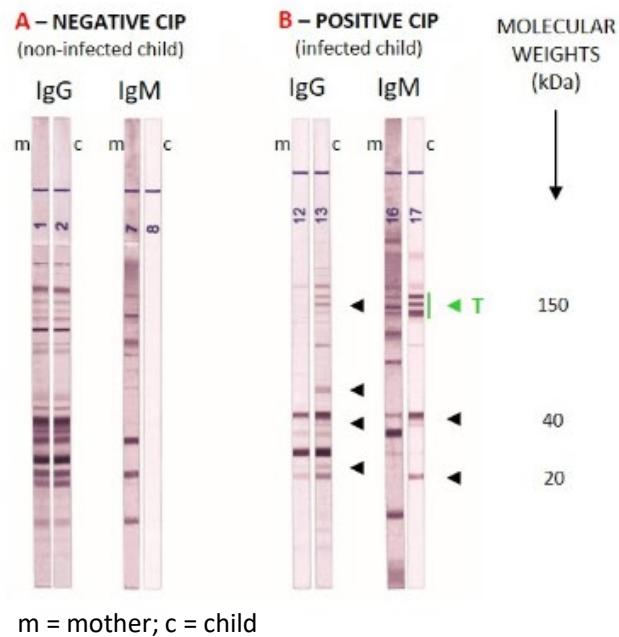
IgG+IgM profile of maternal and cord blood

## Congenital toxoplasmosis in post-natal monitoring (D20)

IgG+IgM profile of cord blood at D0 and blood at D20

## Ocular toxoplasmosis:

IgG profile of serum and aqueous humor.



## Szenario: Schwangerschaft und Toxoplasmose

Frau, geb. 2000, CH, Bäuerin, verheiratet, keine Vorerkrankungen, mehrere Reisen nach N-Europa, Vegetarierin, baut eigenes Gemüse an.

Schwanger, 8. Woche

Kennt Toxoplasma und die möglichen Folgen für das Kind bei einer Erstinfektion während der Schwangerschaft

Möchte Abklärungen.

Resultate:

Serologie: IgG pos, IgM pos, IgG-Avidität tief → Verdacht auf eine frische Infektion

Follow up: IgG Anstieg, IgM pos, IgG-Avidität tief → Frische Infektion sehr wahrscheinlich

Fruchtwasserpunktion/PCR: negativ

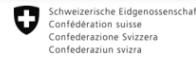
Serologie Kind: IgG pos, IgM neg

Identisch

} Keine Infektion des Kindes

Mutter/Kind-IgG-Profil:

# Toxoplasmose in der Schwangerschaft: BAG-Empfehlungen



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement des Innern EDI  
Bundesamt für Gesundheit BAG  
Direktionsbereich Öffentliche Gesundheit

## Beurteilung

- .. Medikamente mit einer gewissen Wirksamkeit... diese vermögen allerdings die Übertragung auf das Kind oder Symptome beim Kind nicht zu verhindern.  
**→ Diagnostik/Therapie während der Schwangerschaft ist deshalb nicht hilfreich!**

## Empfehlungen

- Kein rohes (z.B. Tartarbrötchen) oder ungenügend gekochtes/gebratenes (blutigem) Fleisch (insbesondere **Rind, Lamm, Geflügel oder Wild**).
- Handhygiene nach
  - Kontakt mit rohem Fleisch (auch Küchengeräte waschen)
  - Kontakt mit Sand oder Erde und dem Verarbeiten von frischem Gemüse
  - Reinigen der Katzentoilette
  - Beschäftigung in Landwirtschaft, Restaurationsbetrieb, Blumengeschäft, Kleintierhandlung
- Geben Sie Ihrer Katze kein rohes Fleisch, sondern Büchsenfutter
- Das Katzenkistchen soll nicht in der Küche stehen.
- Gummihandschuhe zum Reinigen der Katzentoilette

Datum:  
Für ergänzende Auskünfte:

02.12.2008  
Abteilung Übertragbare Krankheiten

## Merkblatt

### Toxoplasmose in der Schwangerschaft

Die Toxoplasmose ist eine Infektionskrankheit, die von einem mikroskopisch kleinen Parasiten verursacht wird. Wenn eine Frau während der Schwangerschaft angesteckt wird, kann die Infektion auch auf das ungeborene Kind übertragen werden. In seltenen Fällen kann dies bei Kind zu Augenentzündungen und Hirnschäden führen. Die Übertragung erfolgt in erster Linie durch den Genuss von rohem oder ungenügend gekochtem Fleisch.

**Wie kann ich mein Kind im Mutterleib schützen?**  
Es gibt zwar Medikamente mit einer gewissen Wirksamkeit gegen den Parasiten, diese vermögen allerdings die Übertragung auf das Kind oder Symptome beim Kind nicht zu verhindern. Eine Diagnostik oder Therapie der Infektion während der Schwangerschaft ist deshalb nicht hilfreich.

**Gibt es trotzdem eine Möglichkeit, mein Kind zu schützen?**  
Sie können das Risiko einer Toxoplasmose für Ihr Kind verkleinern, indem Sie durch einige einfache Vorsichtsmaßnahmen die Wahrscheinlichkeit reduzieren, dass Sie sich während der Schwangerschaft mit dem Parasiten anstecken.

**Worauf muss ich besonders achten, in der Küche und beim essen?**  
Verzichten Sie während der Schwangerschaft konsequent auf den Genuss von rohem (z.B. Tartarbrötchen) oder ungenügend gekochtem/gebratenem (blutigem) Fleisch (insbesondere Rind, Lamm, Geflügel oder Wild). Waschen Sie stets gründlich Ihre Hände und Küchengeräte, wenn Sie rohes Fleisch oder Innereien angefasst haben.

**Kann ich noch mehr tun (im Haus, Garten, Beruf)? Wenn ich eine Katze halte?**  
Bei Katzen kann sich der Parasit im Darm vermehren und deshalb mit dem Kot ausgeschieden und in der Umwelt deponiert werden. Auch wenn das daraus resultierende Ansteckungsrisiko als eher gering eingestuft wird, ist es dennoch sinnvoll, die Hände auch nach dem Anfassen von Sand oder Erde und dem Verarbeiten von frischem Gemüse stets zu waschen. Geben Sie Ihrer Katze kein rohes Fleisch, sondern Büchsenfutter. Das Katzenkistchen soll nicht in der Küche stehen. Tragen Sie Gummihandschuhe zum Reinigen der Katzentoilette und waschen Sie sich auch danach die Hände. Beachten Sie eine gute Handhygiene auch, wenn Sie in der Landwirtschaft, einem Restaurationsbetrieb, einem Blumengeschäft oder einer Kleintierhandlung arbeiten.