

Een onverklaarde vals-positieve Plasmodium falciparum-uitslag

R. KUSTERS, R.W. JANSEN en F.A.J.T.M. van den BERGH

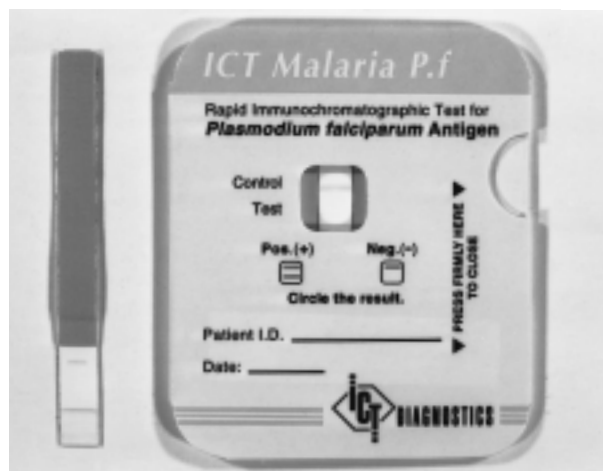
Sinds enkele jaren brengt Becton Dickinson een eenvoudige dipsticktest op de markt voor de detectie in volbloed van Plasmodium falciparum, de veroorzaker van malaria tropica. Met deze kit, de Parasight F, wordt een histidine-rijk eiwit (HRP-II) gedetecteerd, dat wordt uitgescheiden door intacte, geïnfecteerde erythrocyten (1). De detectie is gebaseerd op binding van het HRP-II aan een geïmmobiliseerd monoklonaal antilichaam en aankleuring d.m.v. een tweede, polyclonaal, antiserum geconjugeerd met rhodamine bevattende liposomen. De performance van de kit is getest zowel in veldstudies als in in-vitro experimenten, waarbij de parasietendichtheid werd gevarieerd (2). De sensitiviteit zou die van standaard microscopisch onderzoek overtreffen; in een titratie-experiment was de sensitiviteit 100 %, bij een dichtheid van 100 parasieten per ml, hetgeen overeenkomt met 1 geïnfecteerde erythrocyt per 50000. De specificiteit is zeer goed te noemen. Vals positieve uitslagen werden gevonden als gevolg van de detectie van HRP-II, vroeg in de infectiecyclus, waarbij microscopie pas enkele dagen later een positief resultaat gaf. Ook werd het HRP-II bij behandelde patiënten waarbij de microscopie al negatief was, nog enkele dagen in de bloedcirculatie aangetroffen. Volgens opgave van de fabrikant is er geen kruisreactie met andere parasieten zoals P. malariae, P. ovale, S. mansoni, E. histolytica, D. persistans, Babesia en Loa Loa. Wel werd kruisreactiviteit gevonden bij ca. 7 % van de patiënten, die besmet waren met P. vivax.

In ons laboratorium werd de test geïntroduceerd, vooral om gebruikt te worden in de nacht- en avonddienst. Het voordeel van het gebruik van de Parasight F is dat, wanneer de arts alleen de aanwezigheid van de levensbedreigende P. falciparum wil uitsluiten en onderzoek naar de aanwezigheid van andere species niet acuut geïndiceerd is, microscopisch onderzoek kan worden uitgesteld tot de volgende ochtend. In ons protocol wordt bij een positieve Parasight F-uitslag wel onmiddellijk de microscopie uitgevoerd, ter bevestiging en bepaling van de parasietendichtheid. Ook kan de stick vanwege de goede sensitiviteit worden gebruikt wanneer, ondanks een negatieve uitslag van het microscopisch onderzoek, twijfel bestaat over de aanwezigheid van P. falciparum. Voor dit doel werd de test onlangs gebruikt, toen een achtenvijftigjarige man door de huisarts werd verwezen naar ons

laboratorium nadat hij een korte episode van hoge koorts had doorgemaakt. De patiënt was recent niet in endemisch gebied geweest en het microscopisch onderzoek van dikke druppel- en uitstrijkpreparaat leverde dan ook een negatief resultaat op. Toch werd de Parasight-test uitgevoerd omdat de patiënt in de jaren vijftig een malaria-infectie (species onbekend) had doorgemaakt en beweerde het gevoel van malaria-koorts te herkennen. Tot onze verbazing bleek de stick een sterk positief signaal te geven (figuur 1). Het microscopisch onderzoek werd drie dagen later herhaald en bleek wederom negatief; de stick gaf echter nog steeds een sterk positief signaal.

Drie maanden later werd op ons verzoek nogmaals een bloedmonster van de patiënt afgenomen en onderzocht, waarbij dezelfde resultaten werden verkregen. Een serummonster werd vervolgens door het laboratorium voor medische microbiologie van de Katholieke Universiteit Nijmegen m.b.v. indirecte immunofluorescentie van geïnfecteerde erythrocyten onderzocht op het voorkomen van antistoffen tegen de vier Plasmodium species. Ook dit onderzoek leverde geen bewijs voor een doorgemaakte malaria-infectie.

Navraag bij Becton Dickinson Microbiology Systems in Sparks, Verenigde Staten, waar de test ontwikkeld is, leverde ook geen verklaring voor de vals-positieve uitslag op. Het is volgens de fabrikant uitgesloten dat het HRP-II veertig jaar na infectie nog in het bloed aanwezig is. Het is niet bekend of de medicatie, die de patiënt gebruikte voor behandeling van CARA invloed zou kunnen hebben op de detectiemethode. Aan wilde speculaties over anti-idiotypen antistoffen waagde men zich niet.



Figuur 1. Testresultaat met de Parasight F (links) en ICT malaria P.f. (rechts)

Medisch Spectrum Twente, Enschede

Correspondentie: Dr. R. Kusters, Medisch Spectrum Twente, Postbus 50.000, 7500 KA Enschede.
Ingekomen: 24.12.96

Tenslotte werd het monster geanalyseerd m.b.v. een andere "antigen capture assay", die wat betreft het testprincipe sterk lijkt op de Parasight F en sinds kort wordt aangeboden door de firma ICT diagnostics. Deze immunochromatografische test gaf echter een negatief resultaat (figuur 1). Dit versterkt het vermoeden dat de monoclonale antistof op de Parasight F stick, een kruisreactie geeft.

Uit een vergelijkend onderzoek, in opdracht van ICT diagnostics uitgevoerd in het Prins Leopold Instituut voor Tropische Geneeskunde te Antwerpen, blijkt dat de performance van de Parasight F en de ICT-malaria Pf sterk overeenkomen. Van de 101 geanalyseerde monsters (70 positief voor Plasmodium waarvan 53 voor *P. falciparum*) werd slechts één discrepantie tussen beide kits gevonden: een *P. ovale* positief monster werd met de parasight F positief en met ICT-malaria Pf negatief bevonden. Drie vals positieve resultaten

werden met beide tests gevonden bij patiënten, die recent een infectie hadden doorgemaakt.

Tot dusver lijkt dit een uniek geval van (niet aan malaria-gerelateerde) vals-positiviteit, hetgeen ons inziens niets afdoet aan de bruikbaarheid van de Parasight F in ons protocol, waarbij vooral de sensitiviteit van belang is.

Literatuur

1. Wellems TE, Howard RJ. Homologous genes encode two distinct histidine-rich proteins in a cloned isolate of *Plasmodium falciparum*. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83: 6065-6069.
2. Beadle C, Long GW, Weiss WR, McElroy PD, Maret SM, Oloo AJ, Hoffman SL. Diagnosis of malaria by detection of *Plasmodium falciparum* HRP-2 antigen with a rapid dipstick antigen capture assay. The Lancet 1994; 343: 564-568.

Ned Tijdschr Klin Chem 1997; 22: 58-59

Non-Hodgkin lymfoom met een zeldzaam paraproteïne

R. KUSTERS¹, H.A. BONTE² en G. van der SLUIJS VEER¹

Een tachtigjarige vrouw werd in maart 1996 opgenomen wegens hoge koorts, malaise en collapsneiging. Ze had een uitgebreide ziekte-voorgeschiedenis waarbij o.a. melding werd gemaakt van polymyositis, slikklachten en een gegeneraliseerd non-Hodgkin lymfoom.

Bij opname had de patiënte een afwijkend bloedbeeld waaronder een leukopenie, anemie en trombopenie. In het serumeiwitspectrum werd een paraproteïne gevonden.

Kweken van bloed, sputum en urine alsmede serologisch onderzoek naar Epstein-Barr virus, Cytomegalovirus en *Toxoplasma gondii* leverden een negatief resultaat.

Ondanks een aanvankelijke verbetering door behandeling met chloorambucil (leukeran) en dexamethason, overleed de patiënte twee maanden na opname.

Het paraproteïne, gedetecteerd m.b.v. agarosegelelektroforese (Paragon SPE, Beckman), migreerde in het hoge γ -gebied van het spectrum en werd d.m.v. immunofixatie getypeerd. Er werd een eiwitband gefixeerd met het antiserum tegen IgG, een lichte keten werd echter niet aangetoond (figuur 1). Opvallend was dat het paraproteïne niet werd aangetroffen in de

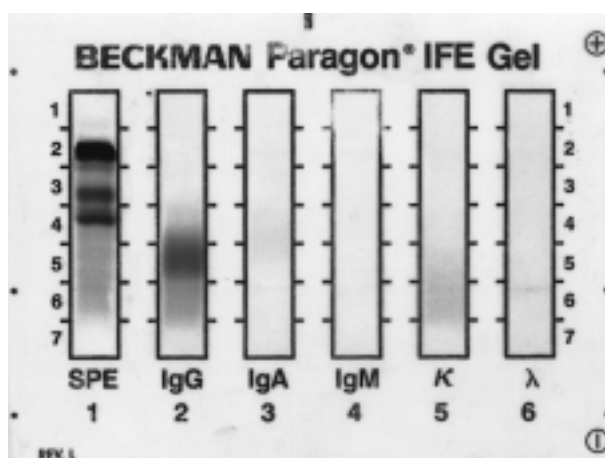
spectrumlaan (SPE, figuur 1) van de immunofixatiegel (Beckman HR agarose IFE), die normaliter identiek is aan het eiwitspectrum.

Een serummonster werd vervolgens door het CLB te Amsterdam geanalyseerd. Ook hier werd alleen een zware keten IgG aangetoond. Tenslotte werd d.m.v. gelfiltratie het molecuulgewicht van de monoclonale component bepaald. Het molecuulgewicht van 120 kDa geeft samen met de immunofixatieresultaten voldoende bewijs voor de diagnose Heavy Chain Disease. Bij deze maligne proliferatie van lymfoïde cellen wordt een deel van de zware Ig-keten (α -, γ - en μ -vormen komen voor) uitgescheiden (1). Een γ -Heavy Chain Disease gaat in het algemeen gepaard met

Medisch Spectrum Twente¹, Enschede en Streekziekenhuis Midden Twente², Hengelo

Correspondentie: Dr. R. Kusters, Klinisch Chemisch Laboratorium, Medisch Spectrum Twente, Postbus 50.000, 7500 KA Enschede.

Ingekomen: 16.01.97



Figuur 1. Immunofixatiepatroon