

## Malariadiagnostiek in Nederland: kentert het tijd?

T. van GOOL<sup>1</sup> en W.C.H. van HELDEN<sup>2</sup>

Voor de malariadiagnostiek zijn de laatste jaren een aantal nieuwe technieken beschikbaar gekomen: QBC-techniek, tests die met behulp van een dipstick Plasmodium-antigenen aantonen (ParaSight F, Malaria P.f.), gentechnieken (polymerase kettingreactie, *in situ* hybridisatie) en flowcytometrie. In dit artikel worden ze besproken, op basis van onderzoeken gepubliceerd in de literatuur en deels eigen ervaringen. Geconcludeerd wordt dat in de Nederlandse situatie de QBC-techniek zinvol is voor laboratoria die regelmatig malaria-onderzoek verrichten en dat de anti-gentechnieken niet de klassieke microscopie kunnen vervangen. Wel kunnen ze, naast de microscopie, dienen ter ondersteuning van de soortdeterminatie. De overige technieken zijn te duur en te bewerkelijk voor gebruik in de routinediagnostiek.

*Trefwoorden: malaria; QBC-techniek; HRP-2; anti-geen strip-tests; ParaSight F; Malaria P.f.*

Malaria is met jaarlijks bijna 500 miljoen ziektegevallen wereldwijd een ernstig probleem. Bij niet-immunen kan door *Plasmodium falciparum* veroorzaakte malaria, indien niet of te laat behandeld, snel dodelijk verlopen. Infectie met andere Plasmodium-soorten, te weten *P. vivax*, *P. ovale* en *P. malariae*, geven vormen van malaria waar patiënten wel erg ziek van kunnen zijn, maar die doorgaans geen fataal beloop hebben (1). Ieder jaar overlijden op de wereld 2-3 miljoen mensen aan malaria (2).

Mensen die langdurig in een gebied wonen waar malaria endemisch voorkomt, kunnen een zekere mate van immuniteit tegen de infectie opbouwen. Wanneer zij dit gebied echter verlaten, bijvoorbeeld om zich in Europa te vestigen, neemt de immuniteit snel af. Dit wordt geïllustreerd door de met enige regelmaat te signaleren berichten in de sportpers over Afrikaanse voetballers, in dienst van Europese clubs, die na terugkeer van familiebezoek in hun land van herkomst malaria blijken te hebben.

Door het toegenomen reizigersverkeer, de populariteit van tropische vakantiebestemmingen, waar vooral *Plasmodium falciparum* domineert, en de toe-

nemende resistentie van juist deze parasiet tegen de beschikbare profylactica, worden met name infecties met *P. falciparum* ook in Nederland steeds vaker gezien (3).

### Klassieke malariadiagnostiek

Microscopisch onderzoek van het klassieke dikke-druppelpreparaat geldt nog altijd als gouden standaard voor de malariadiagnostiek (4). Deze door Ross in 1903 ontwikkelde techniek heeft een zeer hoge sensitiviteit en specificiteit, is goedkoop en is betrekkelijk gemakkelijk uit te voeren. Met deze techniek kan eveneens de mate van parasitemie worden bepaald.

Toch kent ook deze vorm van diagnostiek zijn beperkingen. Het maken van het preparaat (met name de dikte ervan) is lastig te standaardiseren en door de "ruwe" kleuring met waterige Giemsa-oplossing worden de parasieten misvormd. Hierdoor is met name de determinatie van de soort niet altijd eenvoudig. Verder vereist het maken en beoordelen van een dikke-druppelpreparaat de nodige ervaring, die ook moet worden onderhouden. Bovendien is voor goede beoordeling van het preparaat een goed functionerende microscoop onontbeerlijk, een voorwaarde die met name in de tropen vaak moeilijk is te realiseren (5).

Aangezien soortdeterminatie in een uitstrijkpreparaat eenvoudiger is en hoge parasitemieën alleen met een dergelijk preparaat goed kunnen worden bepaald, is het met name de combinatie van dikke druppel- en uitstrijkpreparaat die als "klassieke" standaard voor de malariadiagnostiek wordt gezien (4, 6).

De genoemde beperkingen van de dikke-druppel heeft velen aangezet tot het doen van onderzoek naar alternatieve technieken voor de malariadiagnostiek. Geavanceerde technieken als de polymerase kettingreactie, *in situ* hybridisatie en flowcytometrie zijn inmiddels al voor malariadiagnostiek toegepast. Het meeste valt echter op korte termijn te verwachten van eenvoudig uit te voeren nieuwe technieken als de Quantitative Buffy Coat (QBC-)methode en de dipstick antigen-tests.

### De QBC-techniek

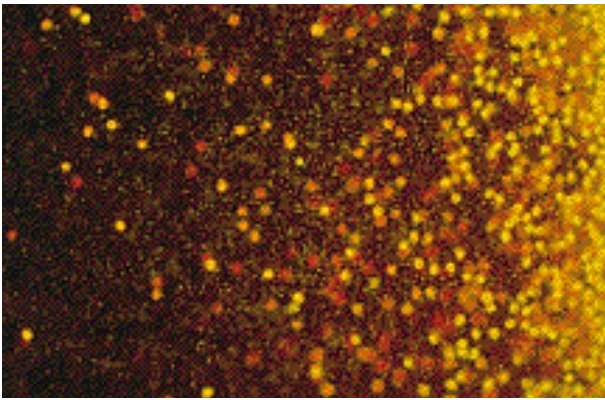
De QBC-techniek (Becton Dickinson; in Nederland vertegenwoordigd door Medihac, St Michielsgestel) is een van de weinige nieuwe vormen van malaria-diagnostiek die over de hele wereld toepassing heeft gevonden (7).

Voor deze techniek wordt gebruik gemaakt van hematocrietcapillairen. Ze bevatten Acridine-oranje, waarmee nucleïnezuren worden aangekleurd. Centri-

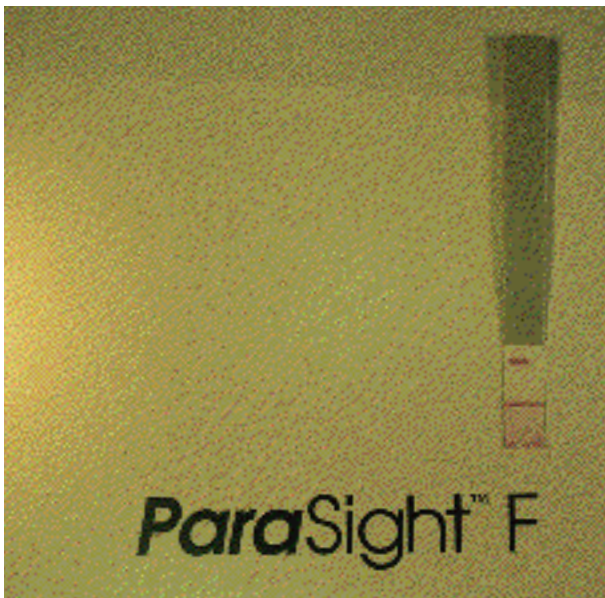
---

*Afdeling Medische Microbiologie, Sectie Parasitologie, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam<sup>1</sup>; Klinisch-Chemisch Laboratorium, Havenziekenhuis en Instituut voor Tropische Ziekten, Rotterdam<sup>2</sup>, huidig werkadres: 't Lange Land Ziekenhuis, Zoetermeer*

Correspondentie: Dr. T. Van Gool, Afdeling Medische Microbiologie, Sectie Parasitologie, Academisch Medisch Centrum, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam.



**Figuur 1.** Fluorescerende malariaparasieten in een QBC-preparaat.



**Figuur 2.** Positieve uitslag met de ParaSight F test.

fugering concentreert de met malariaparasieten geïnfecteerde erythrocyten, indien aanwezig, vlak onder de buffy coat. Aanstraling met UV-licht maakt de parasieten zichtbaar als helder fluorescerende structuren tegen een donkere achtergrond (zie figuur 1).

De gevoeligheid van de QBC-techniek is sterk afhankelijk van de tijd en manier die worden gebruikt om naar de parasieten te zoeken. In de literatuur worden voor de diagnostische sensitiviteit t.o.v. de dikke druppel waarden uiteenlopend van 56-99,5% gegeven, waarbij voor *P. falciparum* soms een hogere gevoeligheid wordt genoemd dan voor de andere soorten (4, 8, 9).

In onze eigen ervaring (AMC ruim 9000 monsters sinds 1990, Havenziekenhuis ruim 8000 monsters sinds 1991) bleek de QBC-techniek een zeer betrouwbaar diagnostisch hulpmiddel voor het aantonen dan wel uitsluiten van malaria. Belangrijk voor het verkrijgen van een hoge gevoeligheid is de wijze van omgaan met de techniek. De QBC-capillaire voor het standaard bloedonderzoek geeft minder achtergrondfluorescentie dan de capillairen die speciaal zijn ontwikkeld voor de malariadiagnostiek en hebben daarom de voorkeur. Tevens dient, in tegenstelling tot

wat de fabrikant voorschrijft, niet alleen onder de buffy coat te worden gekeken, maar moet de gehele erythrocytenlaag worden bekeken omdat erythrocyten geïnfecteerd met *P. falciparum* niet goed onder de buffy coat concentreren. Wanneer standaard de gehele erythrocytenlaag twee maal wordt bekeken, hetgeen in totaal ca vijf minuten vergt, heeft de test een zeer hoge sensitiviteit van 0,5-1 parasiet /  $\mu$ l.

Hoge gevoeligheid kan door lang zoeken ook worden bereikt met de dikke druppel (1 parasiet/ $\mu$ l bij een zoektijd van ongeveer 30 minuten). Bij een standaard zoekprocedure (200 velden bij 1000x vergroting) heeft de dikke druppel een gevoeligheid van 5-10 parasieten/ $\mu$ l (4-6).

De voordelen van de QBC-techniek ten opzichte van de dikke druppel liggen dus in de goede standaardisering van de uitvoering, de hoge sensitiviteit en de snelheid waarmee uitslagen worden verkregen. Verder is de beoordeling eenvoudiger dan die van een dikke druppelpreparaat.

Nadelen zijn dat de Plasmodiumsoort niet altijd goed is te determineren en dat kwantitatieve rapportage niet mogelijk is. Verder gaan gametocyten en oude trofozoieten van *P. vivax*, *P. ovale* en *P. malariae* vaak schuil in de buffy coat, zodat infecties waarbij uitsluitend deze vormen aanwezig zijn kunnen worden gemist. Dit komt in de praktijk echter zelden voor.

Wanneer de vraag naar malaria-onderzoek voldoende groot is om investering in de apparatuur te rechtvaardigen (f 5700-7500, afhankelijk van de aanwezigheid van een fluorescentiemicroscoop) is de QBC-techniek in ons deel van de wereld een uitstekende screeningsmethode voor het aantonen dan wel uitsluiten van malaria.

### Antigeentesten met dipsticks

Voor gebruik in ontwikkelingslanden zijn de technische benodigdheden voor de QBC-techniek, hoewel beperkt, meestal toch moeilijk te realiseren. Het zoeken naar een eenvoudige vorm van malariadiagnostiek, bij voorkeur zonder gebruik van microscopen, blijft daarom hoge prioriteit houden. De recente introductie van een techniek voor antigeendetectie, waarmee de diagnose *P. falciparum*-malaria met behulp van een dipstick kan worden gesteld, heeft dan ook veel enthousiasme losgemaakt.

Er zijn momenteel twee dipstick antigeentests beschikbaar:

- ParaSight-F test (Becton Dickinson/Medihac) en
- Malaria P.f. (ICT Diagnostics, in Nederland vertegenwoordigd door Uniprom Diagnostics, Waddinxveen).

Beide dipsticks tonen een histidinerijk eiwit (HRP-2) aan, dat door *P. falciparum* tijdens de erythrocytaire levensfase wordt uitgescheiden.

In de ParaSight F test wordt het antigeen ingevangen door een monoclonale antistof die is gericht tegen een segment van het HRP-2, het synthetische peptide AHH[AHHAAD]. Deze antistof zit als een lijn gehecht op een dipstick van nitrocellulose-glasvezel. Boven deze lijn is als reagenscontrole HRP-2 antigeen gehecht. Aan de antistof gebonden HRP-2 uit



**Figuur 3.** Positieve uitslag met de Malaria P.f. test.

het monster wordt zichtbaar gemaakt met behulp van een, met sulforhodamine B gelabeld, polyclonaal anti-HRP-2. Een monster dat positief is voor *P. falciparum* vertoont een rode lijn op de plaats van de monoclonale antistof en een gestippelde rode lijn op de plaats van de antigeencontrole (zie figuur 2).

De Malaria P.f. test, die de vorm heeft van een openklapbaar kaartje, maakt eveneens gebruik van twee antilichamen tegen HRP-2. Een hiervan, gemerkt met colloïdaal goud, bevindt zich op de monsteropbrengplaats. Hier lyseren na opbrengen van het bloedmonster de ery's en wordt eventueel vrijkomend HRP-2 gebonden. Na bijdruppelen van wasbuffer migreert het HRP-2-antilichaamcomplex omhoog door de teststrook. Wanneer het tweede anti-HRP-2-antilichaam wordt gepasseerd, dat als een lijntje op de teststrook is aangebracht, bindt het complex hieraan en ontstaat op deze plaats een paarsroze lijn. Als controle is hierboven een tweede lijn aangebracht, bestaande uit HRP-2 (zie figuur 3).

De striptests vereisen geen microscopie. Ze zijn eenvoudig te leren en de uitvoering duurt slechts ongeveer 5-10 minuten.

De ParaSight F test en Malaria P.f. kunnen alleen *P. falciparum* aantonen. Sinds kort is door ICT een tweede striptest op de markt gebracht, de Malaria P.f./P.v., die met een vergelijkbaar principe zowel *falciparum* als *vivaxmalaria* kan aantonen.

ParaSight F test en Malaria P.f. zijn inmiddels uitgebreid geëvalueerd, zowel in ontwikkelingslanden als in ons deel van de wereld (10-13). Hierbij zijn, in vergelijking met de dikke druppel, voor de dipsticks waarden beschreven voor de diagnostische sensitiviteit variërend van 84-100% bij parasitemieën >100/μl. Bij parasitemieën < 100 /μl daalde de sensitiviteit van beide dipsticks echter naar 61-88% (12, 14) en naar 11-65% bij <10 parasieten/μl (12, 14, 15).

Beide dipsticks vertoonden bij onderlinge vergelijking vrijwel gelijke testkarakteristieken (16, 17). Voor beide tests bestaan inmiddels goed gedocumenteerde gevallen waarin ook bij vrij hoge parasitemie (> 1000-2000 parasieten/μl) fout negatieve uitslagen

zijn verkregen (4, 16). Deze worden wel verklaard door binding van HRP-2 aan (specifieke) antilichamen in de circulatie te veronderstellen en te speculeren op het voorkomen van mutantstammen van *Plasmodium falciparum* die geen of onvoldoende HRP-2 produceren of secretieren (18).

De specificiteit van beide tests voor het aantonen van *P. falciparum* is met 90-95% goed (12, 16, 17). Echter, recent is waargenomen dat de ParaSight F test vals positief kan zijn in bloed dat reumafactoren bevat (19). De gevoeligheid van de Malaria P.f. voor reumafactoren zou minder zijn. Niettemin zijn ook van de Malaria P.f. fout positieve uitslagen bekend.

Ook na succesvolle behandeling van *P. falciparum*-malaria kunnen de antigeentesten zeer lang (meer dan 4 weken) positief blijven (T.v.G-publicatie in voorbereiding). De tests dienen daarom niet te worden gebruikt voor follow up studies na behandeling.

In het gebruik is de Malaria P.f. nog wat eenvoudiger en praktischer dan de ParaSight F test. De Malaria P.f. wordt ook bij de apotheek verkocht als zelftest voor reizigers naar de tropen. Onderzoek in het Havenziekenhuis bij koortsende patiënten die de test zelf uitvoerden gaf echter teleurstellende resultaten (20).

Samenvattend kunnen wij concluderen dat beide antigeentests ten aanzien van sensitiviteit, specificiteit en met name gebruiksgemak goed tot zeer goed scoren ten opzichte van de dikke-druppeltechniek.

De voordelen van de striptests liggen in hun snelheid en eenvoud van uitvoering. Kennis van de parasitaire morfologie is niet nodig en de tests zijn in staat om lage parasitemieën aan te tonen.

Nadelen zijn echter dat zowel lage als hoge parasitemieën kunnen worden gemist en dat ook fout positieve resultaten kunnen voorkomen. Verder is opgave van de parasitemie met de striptests niet mogelijk en worden, afhankelijk van de gebruikte strip, infecties met andere Plasmodiumsoorten gemist. Bovendien is de prijs per strip vrij hoog ( $\pm f$  17,50).

#### Antigeentests in de Nederlandse laboratoria

Of de antigeentests in hun huidige vorm van nut kunnen zijn voor de Nederlandse laboratoriumpraktijk is nog onderwerp van studie. In het algemeen kan worden gesteld dat de striptests een goede laboratoriumuitrusting en goed opgeleid personeel hier nog niet overbodig maken. Gebruik van de "klassieke" diagnostiek (onderzoek van lege artis gemaakte en gekleurde dikke-druppel- en uitstrijkpreparaten) levert alle informatie die nodig is voor gericht klinisch handelen. Dit is met de antigeenstriptests vooralsnog niet mogelijk. Als gevolg hiervan dient de rol van antigeentests voor de malariadiagnostiek in Nederland beperkt te blijven tot ondersteuning van het microscopisch onderzoek, dat plaats moet vinden door ervaren en goed getraind personeel met behulp van dikke-druppel- en uitstrijkpreparaten en eventueel de QBC-techniek.

Welk praktisch nut hebben de ParaSight F test en Malaria P.f. momenteel voor de Nederlandse laboratoria?



Twee toepassingen zijn duidelijk:

1. In laboratoria waar malariadiagnostiek niet vaak wordt verricht, kunnen de tests naast de klassieke microscopische technieken worden gebruikt ter ondersteuning van de determinatie van de soort.
2. In laboratoria waar regelmatig malariadiagnostiek wordt verricht en derhalve veel ervaring met de microscopische technieken bestaat, zijn de antigeentesten vooral nuttig bij een verdenking op een dubbelinfectie en bij de determinatie van de soort bij een lage parasitemie.

De afgelopen jaren worden steeds vaker patiënten gezien waarbij de parasitemie bij het eerste onderzoek zeer laag is (<10 parasieten/ $\mu$ l). Een van de redenen hiervoor is de toegenomen bekendheid met malaria en de daaraan verbonden risico's, waardoor reizigers zich sneller in het ziekenhuis presenteren. Bij dergelijke patiënten is het bepalen van de Plasmodiumsoort vaak uiterst lastig. Aangezien de antigeentesten een hoge sensitiviteit en specificiteit hebben voor *P. falciparum* is, bij microscopisch vastgestelde aanwezigheid van malariaparasieten in het dikke-druppel- en/of QBC-preparaat, een positieve antigeentest voor HRP-2 een zeer sterk argument om de patiënt voor een *P. falciparum*-infectie te behandelen. Een negatieve antigeenreactie sluit een *P. falciparum*-infectie in deze gevallen overigens geenszins uit. Onze ervaring is echter tot dusverre dat in 25-40% van de patiënten met een parasitemie van <10 parasieten/ $\mu$ l de antigeentest positief is en het dus zeer aannemelijk is dat deze patiënten een infectie met *P. falciparum* hebben.

Een derde, mogelijke toepassing van de antigeentesten is controversieel. De suggestie is wel gedaan om in de avond-, nacht- en weekeinddiensten patiënten te screenen met alleen de ParaSight-F test of de Malaria P.f. Microscopisch onderzoek kan dan de volgende werkdag plaatsvinden, als hiervoor weer voldoende bekwaam personeel beschikbaar is. De overweging bij keuze voor deze strategie is dat de literatuur aangeeft dat van de patiënten met hoge(re) parasitemie (> 100 / $\mu$ l), een *P. falciparum*-infectie in 95% of meer van de gevallen met de antigeentest kan worden gediagnostiseerd. Aldus zouden de patiënten bij wie het risico van complicaties het grootst is, snel kunnen worden herkend en behandeld. Bij deze strategie zijn echter enkele serieuze kanttekeningen te plaatsen.

1. In meerdere studies is inmiddels gemeld dat ook patiënten met een hogere parasitemie (> 1000-2000 / $\mu$ l) kunnen worden gemist met de striptests (4, 16).
2. Een *P. falciparum*-infectie kan ook bij een lage parasitemie, soms snel een fulminant en zelfs dodelijk beloop hebben.
3. Het werken in de diensten met alleen de antigeentest mikt vooral op het voorkomen van mortaliteit door falciparummalaria. Het verlichten van morbiditeit, vaak zeer uitgesproken bij de andere vormen van malaria, is op deze manier niet mogelijk omdat met de ParaSight-F test en de Malaria P.f.

alleen falciparummalaria kan worden aangetoond. Toepassing van de Malaria P.f./P.v. verandert deze situatie niet wezenlijk, omdat met deze test *P. ovale*- en *P. malariae*-infecties nog altijd niet kunnen worden vastgesteld.

4. Een zieke patiënt met bijvoorbeeld een vivax-malaria kan in het algemeen poliklinisch worden behandeld. Onduidelijkheid over de aard en ernst van de ziekte door gebruik van alleen een striptest kan tot onnodige ziekenhuisopnames aanleiding geven.
5. Ook wanneer een positieve antigeentest wordt gevonden, dient altijd een achterwacht met voldoende expertise snel aanwezig te kunnen zijn. De hoogte van de parasitemie moet worden vastgesteld, om goede sturing van het klinisch en therapeutisch beleid mogelijk te maken.

### PCR, ISH en flowcytometrie

Met behulp van Plasmodium-specifieke primers is parasitair DNA te amplificeren in bloedmonsters die malariaparasieten bevatten (21). Via scheiding door agarosegelelektroforese en kleuring met ethidiumbromide zijn de parasitaire genfragmenten zichtbaar te maken. In principe is hiermee één parasiet in het bloedmonster aan te tonen.

PCR-amplificatie van Plasmodium-specifiek ribosomaal RNA bleek in een vergelijking echter niet gevoeliger dan de dikke druppeltechniek. Wel kon, bij twijfelgevallen in de dikke druppel wegens zeer lage parasitemie, met de PCR ondubbelzinnig de Plasmodiumsoort worden vastgesteld (22).

Met *in situ* hybridisatie (ISH), waarin het parasitaire genoom in een dikke druppelpreparaat kan worden gehybridiseerd met een Plasmodium-specifieke probe, zijn na biotine-streptavidinekleuring de parasieten microscopisch eenvoudig te vinden. Soortidentificatie is, evenals bij de PCR-techniek, met geschikte probes ondubbelzinnig (23), maar voor de routinediagnostiek te bewerkelijk (24). Nadelen van de genterieken zijn echter hun bewerkelijkheid en hoge prijs. De bij malaria essentiële citodiagnostiek is er niet mee mogelijk.

Voor de detectie van malariaparasieten met behulp van flowcytometrie moeten de parasieten door lysis van de erythrocyten eerst worden vrijgemaakt en vervolgens gefixeerd. Na reactie met een fluorescerende kleurstof die bindt aan DNA en RNA kan het monster in de flowcytometer worden geanalyseerd. In het verkregen scattergram zijn de malariaparasieten goed te onderscheiden van de trombocyten en leucocyten. Kwantificering van de parasitemie is op deze wijze zeer betrouwbaar mogelijk. De diagnostische gevoeligheid van flowcytometrie bij parasitemieën <100 / $\mu$ l is echter gering, hetgeen de techniek ongeschikt maakt voor diagnostiek (25).

### Conclusies

De QBC- en antigeentests zijn belangrijke nieuwe ontwikkelingen in de malariadiagnostiek. In Nederlandse laboratoria is het gebruik van de QBC-techniek zeker zinvol, met name daar waar regelmatig malariaonderzoek wordt verricht.

Wanneer malariaonderzoek niet frequent wordt uitgevoerd kunnen de antigeentesten nuttig zijn ter ondersteuning van de, met de klassieke technieken uitgevoerde, diagnostiek.

Wanneer het maken en beoordelen van de klassieke dikke-druppel- en uitstrijkpreparaten goed worden beheerst, bieden de antigeentests weinig voordeel. In deze situatie zijn ze echter wel waardevol voor het helpen bepalen van de malariasoort wanneer de parasitemie zeer laag is.

De polymerase kettingreactie, in situ hybridisatie en flowcytometrie hebben, ondanks hun gevoeligheid en specificiteit, geen plaats in de routinediagnostiek van malaria. Ze zijn daarvoor te bewerkelijk en kostbaar. Laboratoria die malariadiagnostiek willen bedrijven moeten er dus naar streven de klassieke microscopische technieken goed te beheersen en onderhouden. De antigeentests doen het "tj" in de malariadiagnostiek dus vooralsnog niet kenteren. Het lijkt dan ook niet verstandig om de zorgvuldig opgebouwde praktijk van malariadiagnostiek met de klassieke technieken nu al te vervangen door antigeentests. Ook niet 's nachts.

#### Literatuur

1. Polderman AM, Rijpstra AC. Medische parasitologie, handleiding bij de laboratoriumdiagnostiek. 2e ed. Houten/Zaventem, Bohn Stafleu Van Loghum, 1993.
2. WHO. World Malaria Situation in 1992. Weekly Epidemiological Record 1994; 42: 309-314, 43: 317-321, 44: 325-330.
3. Wetsteyn JCFM, Geus A de. Falciparum malaria, imported into the Netherlands 1979-1988. I Epidemiological aspects. Trop Geograph Med 1995; 47: 53-60.
4. Warhurst DC, Williams JE. Laboratory diagnosis of malaria. J Clin Pathol 1996; 49: 533-538.
5. Payne D. Use and limitations of light microscopy for diagnosing malaria at the primary health care level. Bull WHO 1988; 66: 621-626.
6. Jonge N de, Polderman AM, Verhave LP. Diagnose van malaria. Dit Tijdschrift.
7. Levine RA, Wardlaw SC, Patton CL. Detection of haematoparasites using quantitative buffy coat analysis tubes. Parasitol Today 1989; 5: 132-134.
8. Facer CA. Rapid malaria diagnosis: an update. In: Rapid methods and automation in microbiology and immunology. Andover: Intercept, 1994: 14-143.
9. Clendennen TE III, Long GW, Baird JK. QBC and Giemsa-stained thick blood films: diagnostic performance of laboratory technologists. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1995; 89: 183-184.
10. Shiff CJ, Premji Z, Minjas JN. The rapid manual ParaSight-F test. A new diagnostic tool for *Plasmodium falciparum* infection. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1993; 87: 646-648.
11. Beadle C, Long GW, Weiss WR, McElroy PD, Maret SM, Aggrey JO, et al. Diagnosis of malaria by detection of *Plasmodium falciparum* HRP 2 antigen with a rapid dipstick antigen capture assay. Lancet 1994; 343: 563-568.
12. WHO. A rapid dipstick antigen capture assay for the diagnosis of falciparum malaria. Bull WHO 1996; 74: 47-54.
13. Singh N, Valecha N, Sharma VP. Malaria diagnosis by field workers using an immunochromatographic test. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1997; 91: 396-397.
14. Caraballo A, Ache A. The evaluation of a dipstick test for *Plasmodium falciparum* in mining areas of Venezuela. Am J Trop Med Hyg 1996; 55: 482-484.
15. Banchongaksorn T, Yomokgul P, Panyim S, Rooney W, Vickers P. A field trial of the ParaSight-F test for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* infection. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1996; 90: 244-245.
16. Van den Ende J, Vervoort T, Van Gompel A, Lynen L. Evaluation of two tests based on the detection of histidine rich protein 2 for the diagnosis of imported *Plasmodium falciparum* malaria. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1998; 92: 285-288.
17. Kilian AHD, Mughusu EB, Kabagambe G, Von Sonnenburg F. Comparison of two rapid, HRP2-based diagnostic tests for *Plasmodium falciparum*. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1997; 91: 666-667.
18. Ugueu C, Rabodonirina M, De Pina JJ, Vigier JP, Martet G, Maret M, Peyron F. ParaSight-F rapid manual diagnosis test of *Plasmodium falciparum* infection. Bull WHO 1995; 73: 643-649.
19. Bartoloni A, Strohmeier M, Sabatinelli G, Benucci M, Serni U, Paradisi F. False positive ParaSight-F test for malaria in patients with rheumatoid factor. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1998; 92: 33-34.
20. Overbosch D. Publicatie in voorbereiding.
21. Snounou G, Viriyakosol S, Xin Ping Zhu, Jarra W, Pinheiro L, Do Rosario VE, Thaithong S, et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. Mol Biochem Parasitol 1993; 61: 315-320.
22. Humar A, Ohrt C, Harrington MA, Pillai D, Kain KC. ParaSight F test compared with the polymerase chain reaction and microscopy for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria in travellers. Am J Trop Med Hyg 1997; 56: 44-48.
23. Van den Berg FM, Amstel PJ van, Janse CJ, Meis JFGM, Mons B. Detection of different developmental stages of malaria parasites by non-radioactive DNA *in situ* hybridization. Histochem J 1991; 23: 109-115.
24. Bolleboom I. Twee nieuwe methoden van onderzoek naar malaria. HLO-scriptie. Rotterdam, Havenziekenhuis, 1991.
25. Janse CJ, Vianen PhH. Flow cytometry in malaria detection. In: Darzynkiewicz Z, Crissman HA, Robinson JP, eds. Methods in Cell Biology. 2nd ed., New York, Academic Press 1994; 42: 296-318.

#### Summary

*Malaria diagnostics in the Netherlands: a change of tide? Gool T van and Helden WCH van. Ned Tijdschr Klin Chem 1999; 24: 38-42.*

In recent years a number of new techniques have become available for diagnosing malaria: QBC-technique, dipstick tests for Plasmodium-specific antigens (Parasight F, Malaria P.f.), polymerase chain reaction, in situ hybridisation and flow cytometry. This article comments on their use for the diagnosis of malaria in routine laboratories in the Netherlands, based on reports published in literature and on the authors' own experience with some of these techniques. It is concluded that the QBC-technique can be useful for laboratories that regularly perform malaria investigations. The dipstick techniques can not at present replace microscopy. They may be useful, however, when used together with microscopy, for purposes like species determination. The other techniques are too costly and cumbersome to be of use for diagnosing malaria in the routine laboratory.

**Keywords:** malaria; QBC-technique; HRP-2; dip sticks; antigen testing; Parasight F; Malaria P.f.