بنام خدا

نظام تضمین کیفیت آزمایشگاههای مالاریا

توسط:

دکتر عباس شهبازی

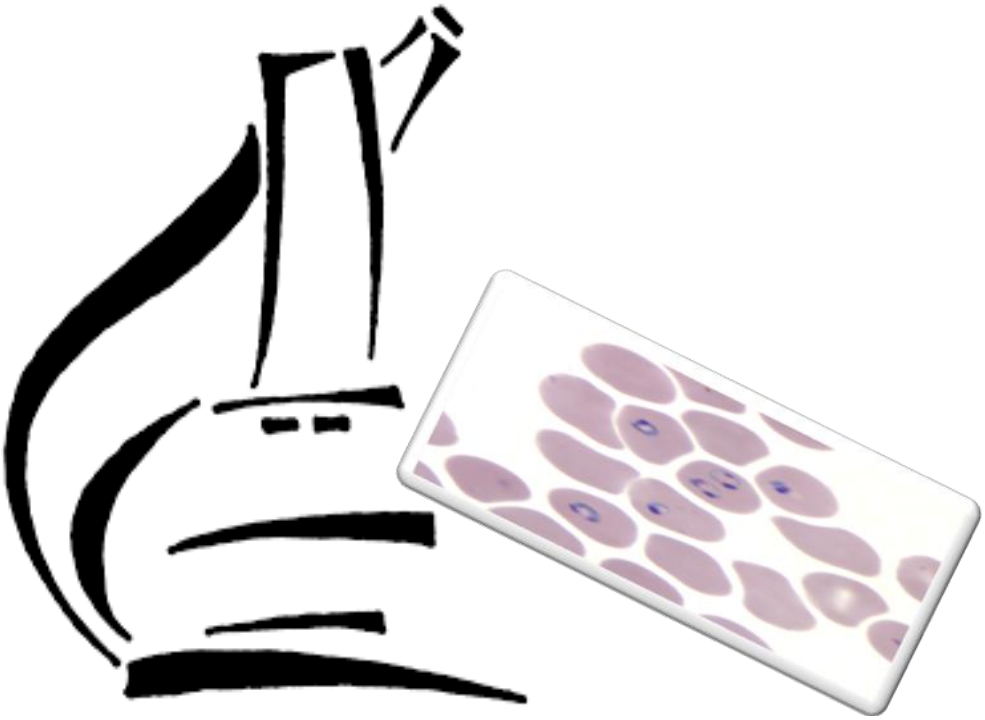
دانشیار انگل شناسی پزشکی

دانشکدهٔ پزشکی تبریز

دکتر منصور رنجبر

دفتر برنامهٔ توسعه سازمان ملل در ایران

1394



فهرست مطالب

قدردانی 3

اختصارات 4

فهرست اصطلاحات 5

مقدمه 8

اهمیت تشخیص صحیح مالاریا 8

تشخیص میکروسکوپی 8

مزایای تشخیص میکروسکوپی: 9

معایب روش میکروسکوپی 10

تست های تشخیصی سریع (Rapid Diagnostic Tests, RDTs) 11

تضمین کیفیت تشخیص میکروسکوپی مالاریا 11

نظام تضمین کیفیت 12

ویژگی ها و اجزای ضروری برنامه تضمین کیفیت 12

مدیریت تضمین کیفیت توسط یک نظام اجرایی کارامد: 13

الف) سطح کشوری نظام اجرایی تضمین کیفیت و اعتبارگذاری خدمات تشخیصی مالاریا 14

a. هماهنگ کننده کشوری برنامه تضمین کیفیت 14

b. کمیته کشوری تشخیص مالاریا 14

c. ارزشیابی بیرونی: 15

d. آزمایشگاه مرجع کشوری/منطقه ای در نظام تشخیص مالاریا 16

e. بانک کشوری لام 18

f. کمیته بررسی اعتبار آزمایشگاههای مالاریا 18

2) سطح متوسط / استانی (مدیریتی- نظارتی منطقه ای) نظام اجرایی تضمین کیفیت و اعتبارگذاری خدمات تشخیصی مالاریا 18

3) سطح اجرایی محیطی نظام اجرایی تضمین کیفیت و اعتبارگذاری خدمات تشخیصی مالاریا 18

آزمایشگاه مرکز بهداشتی درمانی شهری/روستایی/بهارستان / مرکز پاسور/ آزمایشگاههای بخش خصوصی 18

میکروسکوپیست با صلاحیت فنی: 19

فرایند های استاندارد کاری آزمایشگاه 20

تجهزات و مواد مصرفی استاندارد 20

ارزیابی و ارزشیابی 20

الف) خود ارزیابی 21

ب) ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاه ی 21

ج) ارزشیابی بیرونی (External Evaluation) / اعتبارسنجی (Accreditation) 21

اهمیت اعتبار سنجی: 22

هماهنگ کننده اجرایی اعتبارسنجی 22

کمیته بررسی اعتبار آزمایشگاههای مالاریا 22

اصول اجرای نظام اعتبارسنجی 22

گواهینامه صلاحیت 23

استاندارد شماره یک: فضای فیزیکی و تجهیزات استاندارد آزمایشگاه مالاریا 24

استانداردهای فضای فیزیکی آزمایشگاه: 24

استانداردهای ملزومات مصرفی آزمایشگاه 25

استانداردهای ملزومات غیرمصرفی آزمایشگاه 26

استاندارد شماره دو: مشخصات مواد مصرفی استاندارد 27

لام 27

رنگها 28

استاندارد شماره سه :تهیة آب بافر داراي pH معادل 7/2 29

استاندارد شماره چهار : تهیة مایع تصحیح کنندة 2% 30

استاندارد شماره پنج: بررسي و تنظيم pH آب بافر 30
استاندارد شماره شش : رنگ آميزي گسترشهاي خوني به روش سريع (10%) 31
استاندارد شماره هفت: رنگ آميزي گسترشهاي خوني به روش اهسته (3%) 32
استاندارد شماره هشت: روش استاندارد خواندن لام 34
استاندارد شماره نه : تهيه گسترش هاي ضخيم و نازک 35
استاندارد شماره ده : روش استاندارد نگهداری تجهيزات و مواد مصرفی 38
دستورالعمل شماره يازده: نگهداري لامهای ازمايش شده/ ارسال لام جهت کنترل کيفيت 40
استاندارد شماره دوازده : شمارش انگلی 42
استاندارد شماره سيزده: ثبت داده ها و گزارش دهی 43
دستورالعمل شماره يک: نگهداری و استفاده از يخچال 44
دستور العمل شماره دو : نگهداری و استفاده از لوازم شيشه ای 45
کنترل کيفيت ونحوه نظافت لوازم شيشه ای 46
دستورالعمل شماره سه : کار با مواد شيميايی ازمايشگاه ی 47
نکات مهم در مورد گزيلول 47
نکات مهم در مورد اتانول 47
نکات مهم در مورد متانول 47
دستورالعمل شماره چهار :ارزيابی و ارزشيابی درون دانشگاه ی 48
چک ليست ارزيابی و ارزشيابی آزمايشگاه مالاريا 51
چک ليست شماره 1:اطلاعات عمومی آزمايشگاه 51
چک ليست شماره 2: فضای فيزيکی آزمايشگاه 52
چک ليست شماره 3 : ملزومات مصرفی موجود در آزمايشگاه 52
چک ليست شماره 4 : ملزومات غيرمصرفی موجود در آزمايشگاه 53
چک ليست شماره 5 : ايمنی آزمايشگاه 54
چک ليست شماره 6 : نظافت آزمايشگاه 54
چک ليست شماره 7: مراقبت از ميکروسکوپها : (شخص بازديی کننده موارد زير را عملا بازديی نمايی) 55
چک ليست شماره 8: بايگانی لامها 55
چک ليست شماره 9: ثبت و گزارش دهی داده ها 56
چک ليست شماره 10: بررسی زمان پاسخ دهی ازمايشگاه 57
چک ليست شماره 11 : درمان (اگر ازمايشگاه مالاريا يک مرکز درمان کننده مالاريا است اين چک ليست تکميل گردد) 58
چک ليست شماره 12: فرايند های ارزيابی و ارزشيابی 58
دستورالعمل شماره پنج: آزمايش مجدد لامهای ازمايش شده (Cross – check) 59
آزمايش مجدد لامهای ازمايش شده در طی بازديی فيلد 60
روش انتخاب نمونه: 60
ثبت نتايج ازمايش مجدد لامهای ازمايش شده 61
اقدامات لازم در مواجهه با نتايج متضاد 62
فرم گزارش دهی نتايج ازمايش مجدد لامهای ازمايش شده بر اساس درصد توافق تشخيص گونه 63
فرم گزارش دهی نتايج ازمايش مجدد لامهای ازمايش شده بر اساس درصد توافق تشخيص مثبت 64
چک ليست بازديی لامهای مالاريا 65
دستورالعمل شماره شش:اعتبارسنجی آزمايشگاهها مالاريا 66
فرايند اعتبارسنجی آزمايشگاهها مالاريا 66
صدور گواهی آزمايشگاههای تاييد اعتبار شده: 66
مکانيسم های تشويقی نظام اعتبارسنجی 66
فرايند اعتبارسنجی صلاحيت فنی ميکروسکوپيستهای مالاريا 67
آزمونهای تعيين صلاحيت ميکروسکوپيستهای مالاريا 67
مکانيسم رتبه بندی نهايی آزمايشگاه مالاريا 69
دستورالعمل شماره هفت: ايجاد بانک لام کشوری 70
دستورالعمل شماره هشت: نگهداری ميکروسکوپ 74
دستورالعمل شماره نه: نکات ايمنی در آزمايشگاه مالاريا 76

دستورالعمل استاندارد شماره ده: کیت های تشخیصی سریع 79
کنترل کیفیت کیت تشخیص سریع: 81
دستورالعمل شماره یازده: تشخیص دقیق میکروسکوپی 86
دوره های بازآموزی تشخیص میکروسکوپی مالاریا 87
طرح درس دوره بازاموزی میکروسکوپیست : 90

قدردانی

این مجموعه به سفارش مرکز مدیریت بیماریهای واگیر وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی و با همکاری برنامهٔ توسعهٔ سازمان ملل در ایران (UNDP) جهت حصول اطمینان از تشخیص صحیح و سریع میکروسکوپی مالاریا بویژه در موارد پارازیتمی پایین و عفونت مخلوط (Mix infection) تدوین گشته است . بدینوسیله از مشارکت مؤثر اساتید و همکاران محترم زیر در تهیهٔ این مجموعه قدردانی می گردد.

- مسئولان و کارشناسان محترم مرکز مدیریت بیماریهای واگیر
- اقای مسعود یریان، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان
- سرکار خانم معصومه موسی زاده ، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان
- اقای سید علی شریعتزاده، کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی
- آقای ناصر دانشمند نارویی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان
- .آقای حسن رفعتی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان
- آقای محمد صالح نوشیروانی، دانشگاه علوم پزشکی ایرانشهر
- آقای محمد رضا قربانی ، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
- سرکار خانم فتانه منتظری، کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی

مؤلفین
مهر 1394

اختصارات

EQA ……External Quality Assessment

IQC …….Internal Quality Control

NA……Not applicable

NMCP…… National Malaria Control Programme

NRL ……National Reference Laboratory

PCR ……Polymerase Chain Reaction

QA……Quality Assurance

QC ……..Quality Control

QM……. Quality Management

RBC…… Red Blood Cell

RCC…….Red Blood Cell Count

RDT……..Rapid Diagnostic Test

SOP…….Standard Operation Procedure

SPR ……. ……. Slide Positivity Rate

WBC ……..White Blood Cell

WCC……..White Blood Cell Count

WHO ……World Health Organization

فهرست اصطلاحات

لام منفی کاذب (False Negative Slide)

لام مثبتی که اشتباهاً منفی اعلام می شود

لام مثبت کاذب (False positive slide)

لام منفی که اشتباهاً مثبت اعلام می شود.

پس خوراند (Feedback)

به فرآیند ارائه نتایج کنترل کیفی در آزمایشگاه رفرانس به آزمایشگاه مبدأ که شامل مشخص کردن اشتباهات و توصیه های اصلاحی می باشد، پس خوراند می گویند.

میکروسکوپیست (Microscopist)

فردی که با استفاده از میکروسکوپ گسترش های خونی را برای تشخیص یا تأیید تشخیص مالار یا مورد مطالعه قرار می دهد و یافته ها را گزارش می نماید میکروسکوپیست نامیده می شود. اصطلاح یاد شده در این سند به همه کسانی که در تمام سطوح برنامۀ حذف مالاریا به امر تشخیص مالاریا از طریق ازمایش لام خون محیطی مشغول هستند اطلاق می گردد.

استاندارد اجرایی (Performance standard)

استاندارد اجرایی سطحی از اجراء است که توسط برنامه حذف مالاریا تعیین و در این پروتکل امده است و تمام آزمایشگاه ها ذیل نظام تشخیص مالاریا باید حداقل به آن مرحله برسند.

تضمین کیفیت (Quality assurance)

تضمین کیفیت عبارت است از سنجش و اخذ تدابیر لازم به منظور تضمین دسترسی به خدمات آزمایشگاهی در حد قابل قبولی از دقت، اطمینان و کفایت . تضمین کیفیت کلیه جوانبی را که در فعالیت های اجرایی آزمایشگاهی وجود دارد پوشش می دهد از قبیل ارزشیابی نظام تشخیص مالاریا (کنترل کیفی داخلی و بیرونی)، کیفیت تجهیزات و مواد، حجم کار، شرایط محیـــط کار، آمـــوزش و حمـایت از کارکنان آزمایشگاهی

کنترل کیفی (Quality Control)

کنترل عبارت است از ارزیابی کیفیت یک آزمایش یا یک ماده آزمایشگاهی. در تشخیص میکروسکپی مالاریا کنترل کیفی بصورت روتین، معمولاً برای بازبینی لامهای خونی تهیه و ازمایش شده به منظور ارزیابی دقّت و کیفیت تهیه لامها و تشخیص صحیح آنها مورد استفاده قرار می گیرد . کنترل کیفی همچنین می تواند بررسی کنترل کیفیت مواد و تجهیزات مورد استفاده در ازمایش لام خون محیطی را نیز را نیز در برگیرد.

آزمایش مجدد لامهای آزمایش شده (Cross- checking QC)

کنترل کیفی لامهای خونی تهیه و آزمایش شده (Cross- checking QC) سیستمی است که برمبنای آن لام های خونی آزمایش شده مجدداً توسط آزمایشگاه منطقه ای ، کشوری و یا کارشناس (آزمایشگاه مرجع) مورد بازبینی قرار می گیرد.

کنترل کیفی مواد (Reagent QC)

کنترل کیفی مواد (Reagent QC) روشی است که برمبنای آن کیفیت مواد مصرفی در آزمایشگاه مورد پایش و بررسی قرار می گیرد.

تست های تشخیص سریع (Rapid Diagnostic Tests)

تست های تشخیص سریع، تست های ایمنوکروماتوگرافیک بوده ، آنتی ژنهای اختصاصی انگل را در نمونه خون تهیه شده از نوک انگشت نمایان می سازند.

میزان لام های مثبت (Slide Positivity Rate)

عبارتست از نسبت لام های مثبت به کل لامهای ازمایش شده در یک مقطع زمانی.

کیفیت:

کیفیت به معنای عام درجه برتر بودن یک محصول یا خدمت را گویند.

خطای تصادفی (واریانس)

بر روی کل دسته نمونه ها تاثیر نمی گذارد (مثلا خطای نمونه برداری که ممکن است به دلیل گرفتن نمونه خون ناکافی به اشتباه منفی شود).

خطای سیستماتیک(BIAS)

خطایی است که شانسی و موردی نمیباشد. مثلا توزیع مواد آزمایشگاهی غیر استاندار است (مانند رنگ گیمسای غیر استاندارد) لذا می تواند بر کل نمونه هایی که با مواد مزبور ازمایش شده است اثر بگذارد.

سیستم یا نظام(System)

مجموعه عناصر دارای ارتباط درونی یا دارای تعامل

سیستم مدیریت(Management System)

سیستمی برای تعیین خط مشی واهداف و دستیابی به آن اهداف

یادآوری۱: سیستم مدیریت سازمان می تواند شامل سیستم های مدیریت مختلفی از قبیل سیستم مدیریت کیفیت، سیستم مدیریت مالی یا سیستم مدیریت زیست محیطی باشد.

اهداف کیفیت(Quality Objective)

چیزی که در رابطه با کیفیت جستجو شود یا مقصود باشد.

یادآوری ۱: اهداف کیفیت عموما مبتنی بر خط مشی کیفیت سازمان است.

یاداوری ۲: اهداف کیفیت عموما برای انواع کارها و سطوح ذیربط در سازمان مشخص می شود.

مدیریت(Management)

فعالیت های هماهنگ شده برای هدایت وکنترل یک سازمان

مدیریت کیفیت(Quality Management)

فعالیت های هماهنگ شده جهت هدایت و کنترل یک سازمان از نظر کیفیت.

یاداوری۱: هدایت وکنترل از نظر کیفیت عموما شامل برقراری خط مشی کیفیت و اهداف کیفیت، طرح ریزی کیفیت، کنترل کیفیت، تضمین کیفیت و بهبود کیفیت است.

اثربخشی(Effectiveness)

میزان تحقق فعالیت های برنامه ریزی شده و دستیابی به نتایج برنامه ریزی شده است.

کارآیی(Efficiency)

رابطه بین نتیجه بدست آمده و منابع استفاده شده.

مقدمه

اهمیت تشخیص صحیح مالاریا

تشخیص صحیح و سریع بیماریها از ارکان اصلی مبارزه با انواع بیماریهاست . متاسفانه به خدمات آزمایشگاه ی در بسیاری کشورهای در حال توسعه و یا کم درآمد توجه اندکی میشود در حالیکه خدمات آزمایشگاه ی ضعیف بیشترین تاثیر منفی را روی مردم فقیر و آسیب پذیر دارد، زیرا همواره این گروه از مردم هستند که سنگین ترین بار بیماریها را بر دوش می کشند. ثابت شده است که سوءمدیریت مالاریا، منجمله خدمات تشخیصی آن، در یک دور باطل موجب افزایش فقر در جوامع آسیب پذیر می گردد (www.liv.ac.uk/lstm/majorprogs/malaria).

بطورکلی مدیریت موثر مالاریا بدون تشخیص دقیق مالاریا ممکن نیست . از همین رو تشخیص سریع و دقیق کلید مدیریت موثر مالاریا و از مداخلات اصلی Global for Malaria Control and Elimiantion TechnicalStrategy است.

مالاریا یک اورژانس پزشکی بالقوه است و باید سریعاً درمان شود . تأخیر در تشخیص و درمان این بیماری در بسیاری از کشورها منجر به مرگ تعداد زیادی بیمار می شود و در مناطق مستعد موجب تداوم چرخه انتقال بیماری می گردد. متاسفانه تشخیص مالاریا در مناطقی که این بیماری بومی نیست می تواند مشکل باشد زیرا پزشکان آنرا بعنوان یک عامل بالقوۀ بروز تب از یاد می برند و تقاضای آزمایشات تشخیصی مربوطه را نمی کنند و تکنسینهای آزمایشگاه ی نیز بدلیل تجربه ناکافی و عدم دقت موفق به تشخیص انگل نمی شوند . در بسیاری از کشورها که مالاریا در آنها بومی است کمبود منابع یک مانع عمده در تشخیص بموقع و قابل اعتماد مالاریا است . در این کشورها کارکنان آزمایشگاه ها اغلب بخوبی آموزش ندیده، به تجهیزات کافی مجهز نگردیده، دریافتهای مالی اندکی داشته و تشخیص سایر بیماریها من جمله سل نیز بر دوششان است. همچنین نظام تضمین کیفیت در این مناطق کارامد وجود ندارد لذا، افت کیفیت تشخیص در اینگونه موارد امری اجتناب ناپذیراست.

تشخیص میکروسکوپی

تشخیص دقیق با استفاده از رنگ آمیزی گسترشهای نازک و ضخیم خون محیطی (PBS) توسط یک میکروسکوپیست ماهر و گسترش های خونی که بخوبی تهیه و رنگ آمیزی شده باشد همچنان یک استاندارد طلایی برای تشخیص و شناسایی انگل های مالاریا محسوب می شود. معمولاً این روش شامل برداشت خون از نوک انگشت بیمار، تهیه یک گسترش ضخیم و یک گسترش نازک، رنگ آمیزی (غالباً باگیمسا) و آزمایش گسترش خون با میکروسکوپ است..

مزایا ی تشخیص میکروسکوپی:

مزایای تشخیص میکروسکوپی مالاریا عبارتند از:

- این روش حساس است و هرگاه با تکنسین های ماهر و دقیق انجام شود تا حد ۱۰- ۵ انگل در هر میکرولیتر خون را میتوان تشخیص داد. تحت شرایط عمومی فیلدی حد تشخیص این روش ۱۰۰ انگل در هر میکرولیتر خون است.
- برای تمایز گونه های انگل مالاریا و نیز مراحل تکامل انگل کاربرد دارد . گاهاً میکروسکوپیست های ماهر می توانند تغییرات مورفولوژیک ناشی از درمان دارویی و یا مراحل انگلی که موید شدت بیماری است (مانند شیزو نت در فالسیپارم) را نیز شناسایی کنند.
- تعداد انگل به ازای گلبول سفید و یا گلبول قرمز قابل تعیین شدن است . این کمیتها برای اثبات هایپر پارازیتمی (در مالاریای شدید) و یا ارزیابی پاسخ انگل به درمان دارویی مورد نیاز هستند.
- این روش نسبتا ارزان است.
- از این تکنیک میتوان برای تشخیص سایر بیماریهای مشمول برنامه های کنترلی مثل سل و یا بیماریهای آمیزشی و یا بیماریهای خونی دیگر و یا سایر بیمارهای انگلی خونی نیز بهره برد.
- می تواند یک بایگانی دائمی از یافته های تشخیصی ایجاد کند که برای کنترل کیفیت کاربرد دارد.
- در تشخیص عفونت توام کاربرد دارد.

کشف سریع موارد مالاریا در کمتر از ۴۸ ساعت پس از بروز نخستین علائم ، مهمترین استراتژی برنامهٔ حذف مالاریا در ایران است. بدیهی است در چنین شرایطی صحت و دقت تشخیص میکروسکوپی اهمیت قابل ملاحظه ای در اثربخشی برنامهٔ پرهزینهٔ حذف مالاریا پیدا کرده است بر اساس راهنماهای موجود حداقل ۲۰۰ میدان گسترش ضخیم خون قبل از گزارش منفی بودن باید بررسی شود که این کار به حدود ۱۰-۵ دقیقه زمان توسط یک میکروسکوپیست متبحر نیاز دارد. اگر تنها گسترش نازک بررسی شود به حدود ۴۵ دقیقه زمان نیاز است تا به حد تشخیص گسترش ضخیم برسد. در شرایط مناسب روش میکروسکوپی می تواند ۱۰-۵ انگل را در هر میکرولیتر خون تشخیص دهد اما این حساسیت بندرت در آزمایشگاهها قابل تحقق است و عوامل زیادی منجمله نمونه ها ی غیر استاندارد، آموزش ناکافی میکروسکوپیست، فقدان تجهیزات و مواد مصرفی با کیفیت مناسب , دقت ناکافی میکروسکوپیست و مشاهدهٔ تعداد زیادی لام خونی در زمان کوتاه بطور چشمگیری احتمال خطای تشخیصی را افزایش می دهد. هرچند که اشتباه درتشخیص میکروسکوپی مالاریا در حد حساسیت و ویژگی این روش همچون سایر روش های تشخیصی قابل انتظار است ولی میزان بالای اشتباه در تشخیص می تواند زنگ خطری برای برنامهٔ حذف مالاریا باشد. در ارزشیابی هایی که اخیراً در آزمایشگاههای محیطی مالاریا انجام شده است عمده ترین مشکلات لامهای غیر استاندارد، مهارت ناکافی میکروسکوپیست ها، استفاده از مواد غیر استاندارد که منجر به تشخیص نادرست لامهای کم انگل بخصوص پلاسمودیوم فالسیپاروم می گردد عنوان گردیده است. حذف انتقال محلی مالاریای فالسیپاروم که هدف اولین فاز برنامهٔ خذف مالاریا در کشور است بشدت نیازمند مرتفع شدن این چالش اساسی در نظام تشخیص میکروسکوپی مالاریا است.

ارتقاء تشخیص پلاسمودیوم فالسیپاروم بخصوص در لامهای کم انگل و یا انگلهای تغییر شکل یافتهٔ متأثر از دارو توسط میکروسکوپیستهای مالاریا ، تشخیص موارد کم انگل ویواکس و نیز تشخیص صحیح عفونت میکس (بویژه عفونت توأم پلاسمودیوم فالسی پاروم و پلاسمودیوم ویواکس) نیازمند تقویت همهٔ فرایندهای تشخیص میکروسکوپی مالاریا بخصوص موارد زیر است:

- ✓ بهبود صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیستهای مالاریا از طریق اجرای برنامه های مهارت آموزی (دستورالعمل شمارهٔ چهار این مجموعه)
- ✓ استاندارد سازی فضا، تجهیزات و مواد مورد استفاده در آزمایشگاههای مالاریا (دستورالعمل شمارهٔ دو این مجموعه)
- ✓ ایجاد بانک لام مالاریا در کشور جهت تأمین لام های دوره های آموزشی، لامهای مخصوص آزمونهای تعیین صلاحیت تشخیصی و جعبه لام آموزشی برای هر یک از آزمایشگاههای مالاریا (دستورالعمل شمارهٔ یک این مجموعه)
- ✓ تقویت برنامهٔ کنترل کیفیت داخلی و بازبینی لامهای تشخیص داده شده در آزمایشگاهها (برنامهٔ کراس چک) (دستورالعمل شمارهٔ سه این مجموعه)
- ✓ الزام میکروسکوپیستهای مالاریا به اجرای دقیق استانداردهای تشخیص از جمله استاندارد نمونه گیری، رنگ آمیزی، تشخیص میکروسکوپی و ثبت داده ها و گزارش دهی (SOPs) (دستورالعمل شمارهٔ پنج این مجموعه)
- ✓ اجرای کامل و دوره ای برنامهٔ اعتبارسنجی آزمایشگاههای مالاریا و برنامه ریزی فوری برای رفع نارسایی های مشاهده شده (دستورالعمل شمارهٔ چهار این مجموعه)

معایب روش میکروسکوپی

از معایب عمده روش میکروسکوپی می توان به موارد زیر اشاره نمود:

- ✓ هزینه بر بودن سیستم تضمین کیفیت، نگهداری و ریز اجرای آن بخصوص در شرایطی که تعداد متوسط لام آزمایش شده کمتر از حد انتظار باشد.
- ✓ حساسیت کمتر از حد انتظار این روش در فیلد بخصوص در تشخیص موارد کم انگل
- ✓ زمان بر بودن ازمایش آن در فیلد بخصوص اگر لام در خارج آزمایشگاه تهیه و ارسال شود.
- ✓ تعداد زیاد مراحل انجام آن از نمونه برداری تا نگهداری نمونه و آرمایش که متکی به مهارت و دقت عامل انسانی است .

در تصاویر زیر نمونه هایی از عملکرد غیر استاندارد میکروسکوپیست در پروسهٔ رنگ آمیزی، نگهداری محلولها و وسایل که منجر به افزایش خطای تشخیص می شود آورده شده است.

تصویر شماره یک: شرایط غیر استاندارد نگهداری محلول های رنگ آمیزی

تصویر شماره دو: شرایط غیر استاندارد رنگ آمیزی لام مالاریا

تست های تشخیصی سریع (Rapid Diagnostic Tests, RDTs)

از زمانی که سازمان جهانی بهداشت (WHO)، برای غلبه بر کاستیهای تشخیص مالاریا با میکروسکوپ نوری، نیاز فوری به تست های تشخیصی جدید، ساده، سریع، دقیق و مقرون به صرفه را اعلام نموده است، تستهای تشخیصی سریع (RDTs) را می توان از مهمترین روشهای تشخیصی جایگزین دانست که بسرعت و به راحتی قابل اجرا بوده و نیازی به جریان برق و تجهیزات ویژه ندارند . تا سال 2015 میلادی، ۴۸ نوع از این تستها از 41 شرکت تولید کننده برای تشخیص مالاریا به بازار عرضه شده است که تاییدیه کیفیت را از سوی سازمان جهانی بهداشت دریافت نموده اند. بر خلاف تشخیص میکروسکوپی معمول که بوسیلهٔ آزمایش گسترشهای نازک و ضخیم خون محیطی رنگ آمیزی شده انجام می شود، همهٔ تستهای تشخیصی سریع اساس یکسانی دارند و آنتی ژن مالاریا در جریان خون را در امتداد یک لایهٔ حاوی آنتی بادی اختصاصی ضد مالاریا تشخیص می دهند . این آزمونها به تجهیزات آزمایشگاه‌ی خاص نیاز ندارند و انجام آنها بسیار راحت است. در حال حاضر حدود ۸۰ – ۷۰ درصد موارد مثبت در کشور با استفاده از RDT ها کشف شده اند. کیتهای تشخیص سریع اکنون در بیمارستانهای اقصی نقاط کشور و در تمام مراکز بهداشتی و درمانی و خانه های بهداشت مناطق مالاریاخیز توزیع شده است و بطور گسترده ای در حال استفاده می باشند به همین جهت وجود راهنماهای آموزشی استاندارد، آموزش گسترده و استاندارد کلیهٔ دست اندر کاران تشخیص و درمان مالاریا (اعم از سطوح ستادی و محیطی)، کنترل کیفیت تأمین، توزیع، ذخیره سازی و استفاده از این ابزار تشخیصی ضرورتی اجتناب ناپذیر است.

دستورالعمل شمارهٔ هفت این مجموعه به این موضوع پرداخته است.

تضمین کیفیت تشخیص میکروسکوپی مالاریا

تضمین کیفیت

تشخیص سریع و درمان موثر و فوری اساس مدیریت مالاریا و کلید کاهش مرگ و میر و پیشگیری از ابتلای سایرین به این بیماری می باشد . اثبات وجود انگل مالاریا قبل از شروع درمان بوسیله داروهای موجود ضد مالاریا رکن اساسی

نیل به این هدف می باشد . یک آزمایش میکروسکپی در صورتی می تواند قابل پذیرش باشد که هزینه اثر بخش باشد، نتیجهٔ آن بطور مستمر و پیاپی صحیح باشد و در مدت زمان قابل قبولی انجام گیرد و البته این مسئله مهم نیاز به یک برنامه فراگیر و فعال دارد که ما به آن تضمین کیفیت (Quality Assurance) می گوییم.

نظام تضمین کیفیت

تضمین کیفیت (Quality Assurance) آزمایشگاه و یا برنامه تشخیصی مالاریا نظامی است که برای بهبود مداوم و نظام مند کارایی، هزینه - اثربخشی و دقت نتایج آزمایشات طراحی شده است . هدف اصلی برنامه تضمین کیفیت اطمینان از **انجام فرایند تشخیص میکروسکپی توسط افراد شایسته و با انگیزه تحت آموزشها و نظارت موثر و نظام تدارکاتی مناسب برای تدارک مواد و تجهیزات مورد نیاز است.**

فرایند تضمین کیفیت باید از ویژگی های زیر برخوردار باشد:

- مدوام باشد
- سازگار با نیاز کشور باشد
- بتواند در ساختار آزمایشگاه ی کشور گنجانده شود.

یک برنامه تضمین کیفیت باید عملکرد خوب را به طور مناسب شناسایی و اعتبار دهی کند، آزمایشگاه ها و میکروسکوپیستهای دارای مشکلات جدی را شناسایی کند و شاخص های منطقه ای و یا کشوری برای محک زدن کیفیت تشخیص، عملکرد تجهیزات و مواد، کنترل ذخایر و حجم کار را تدوین و پایش نماید.

ویژگی ها و اجزای ضروری برنامه تضمین کیفیت

برنامه تضمین کیفیت میکروسکپی مالاریا باید ضروریات را پوشش داده و حداقل از ویژ گی های زیر برخوردار باشد:

a. مدیریت تضمین کیفیت توسط یک نظام اجرایی کارامد:

مدیریت تضمین کیفیت مسئولیت برنامه ریزی بمنظور اجرای فعالیت های پیش بینی شده بمنظور ارتقای کیفیت تشخیص را دارد. حضور یک هماهنگ کنندهٔ تضمین کیفیت در سطح ملی بمنظور هماهنگی لازم در تمام سطوح و نیز فردی مسئول در سطح دانشگاهی از ضروریات این امر است.

b. میکروسکوپیست با صلاحیت فنی:

- مهارت آموزان قبل از شروع بکار در مراکز تشخیصی /بالینی باید با شرکت در دوره های مهارت آموزی پایه استانداردهای مهارتی لازم را کسب نمایند و صلاحیت فنی آنها احراز گردد . همچنین امکان بازاموزی مداوم میکروسکوپیست هاس شاغل فراهم گردد.

c. بانک لام

- بازآموزی و ارزیابی /درجه بندی منظم صلاحیت فنی مبکروسکوپیست ها با استفاده از مجموعه لامهای مرجع استاندارد شده صورت پذیرد لذا ضرورت ایجاد بانک لام وجود دارد.

d. ارزیابی و ارزشیابی

- یک نظام پایدار بررسی متقاطع (بررسی صحت تشخیص در لامهای ازمایش شده) cross-checking [validation) system] که قادر باشد ضعف ها و نقص های عمومی را شناسایی و نتایج را بازخوراند نماید.
- نظارت مناسب در تمام سطوح از حمله خود ارزیابی، ارزیابی درونی دانشگاه توسط سطح بالاتر
- ارزشیابی ازمایشگاهها و صلاحیت میکروسکوپیست ها با بهره گیری از ارزشیاب بیرونی

e. تجهزات و مواد مصرفی استاندارد

- مدیریت مناسب تدارکات شامل تهیهٔ و نگهداری مواد مصرفی و تجهیزات استاندارد.

f. فرایند های استاندارد کاری ازمایشگاه

- روش های اجرایی استاندارد (Standard Operating Procedures) (SOPs) در کلیه سطوح نظام.
- بودجه کافی و پشتیبانی لجستیکی برای اجرای برنامه تضمین کیفیت

این راهنما عناصر ضروری و اساسی برای به اجرا در آوردن این ساختار را توصیف می کند.

مدیریت تضمین کیفیت توسط یک نظام اجرایی کارامد:

نظام اجرایی تضمین کیفیت و اعتبارگذاری خدمات تشخیص مالاریا مشتمل بر سطوح زیر است:

۱. سطح کشوری:

۱.۱. هماهنگ کننده کشوری نظام تضمین کیفیت
۱.۲. کمیته کشوری تشخیص مالاریا
۱.۳. ارزشیاب بیرونی
۱.۴. آزمایشگاه مرجع کشوری
۱.۵. بانک کشوری لام مالاریا
۱.۶. کمیته بررسی اعتبار ازمایشگاهها مالاریا

۲. سطح متوسط/استانی (مدیریتی-نظارت مالاریا) شامل واحد نظارت و مدیریت دانشگاه/شهرستان

۳. سطح اجرایی محیطی شامل آزمایشگاه مرکز بهداشتی درمانی شهری/روستایی/بهارستان ، میز پاسیو

الف) سطح کشوری نظام اجرایی تضمین کیفیت و اعتبارگذاری خدمات تشخیصی مالاریا

سطح کشوری نقش مهمی در ارائه خدمات تشخیصی در تمام سطوح بازی کرده، مسئول برنامه ریزی، هدایت، اجرا و نظارت بر تضمین کیفیت است.

a. هماهنگ کننده کشوری برنامه تضمین کیفیت

توسعه و موفقیت تمام برنامه های تضمین کیفیت در گرو مدیریت موثر آن توسط کارکنان ارشد آموزش دیده و ذیصلاح خواهد بود.

یک هماهنگ کننده (فوکال پوینت) در سطح کشوری باید با یک ابلاغ روشن و واضح بمنظور نظارت بر اجرای برنامه تضمین کیفیت منصوب گردد. هماهنگ کننده یا مدیر کشوری تضمین کیفیت باید یک تکنولوژیست ارشد و یا متخصص شاغل در دفاتر مرکزی وزارت بهداشت و یا آزمایشگاه مرجع کشوری باشد.

مسئولیتهای هماهنگ کننده تضمین کیفیت

- هماهنگی بین ارکان اجرایی برنامه تضمین کیفیت در سطح کشوری و دانشگاههای تحت پوشش
- کمک به سیاست گذاری در زمینه تضیمن کیفیت و بهبود تشخیص مالاریا
- تبیین نقش و اهمیت آزمایشگاه در برنامه ریزی و مدیریت فعالیت های حذف مالاریا
- تعهد به بهبود عملکرد در تمام سطوح برنامه تضمین کیفیت،
- اطمینان از بازخورد و گفتگوی مستمر بین تمام سطوح شبکهٔ آزمایشگاهی
- استفاده موثر از برنامه تضمین کیفیت بمنظور پیگیری عملکردهای ضعیف و بهبود آرها از طریق پشتیبانی، تشویق و آموزش مداوم
- هماهنگی اجرای ارزشیابی بیرونی
- تلاش بمنظور تقویت احساس تعلق و مسئولیت در همهٔ کارکنان
- رصد منظم شاخص های عملکردی و کیفی ازمایشگاهها
- پیگیری موارد پشتیبانی و بودجه و تهیه تجهیزات و مواد مصرفی که تهیه انها توسط سطح وزارتی انجام می شود.

b. کمیته کشوری تشخیص مالاریا:

- اعضاء این کمیته به شرح ذیل هستند که با حکم معاون محترم بهداشتی وزیر و به پیشنهاد مدیر کشوری برنامه حذف مالاریا و تایید مدیر مرکز مدیریت بیماریای واگیر برای مدت ۳ سال انتخاب انتخاب می شوند .(انتخاب مجدد اعضاء بلامانع است):
  - ✓ مدیر کشوری برنامه حذف مالاریا
  - ✓ هماهنگ کننده کشوری تضمین کیفیت
  - ✓ پزشکان با تجربه منحصربفرد در زمینه تشخیص مالاریا
  - ✓ انگل شناسان خبره در زمینه انگل شناسی مالاریا
  - ✓ متخصصین خبره در زمینه PCR مالاریا
  - ✓ متخصصین خبره در زمینه سرولوژی مالاریا
  - ✓ متخصصین خبره در زمینه کیت تشخیص مالاریا

- ✓ متخصصین علوم آزمایشگاه‌ی خبره در تشخیص مالاریا
- ✓ کارشناس خبره با تجربه منحصر بفرد فیلد در زمینه تشخیص مالاریا
- ✓ کارشناسان خبره ارزیابی و ارزشیابی و گزارشدهی مالاریا

کمیته مزبور مسئولیت های زیر را بعهده دارد:

- ارائه خدمات مشاوره در زمینه تدوین سیاست های تشخیصی مالاریا در راستای رویکرد حذف
- ارائه خدمات مشاوره در زمینه تدوین /بازنگری دستورالعمل ها و استانداردهای مورد نیاز نظام تشخیص مالاریا
- تعیین اولویت های پژوهشی برنامه حذف مالاریا در زمینه تشخیص
- در نظام تضمین کیفیت :
  - ✓ عضویت در کمیته تایید اعتبار آزمایشگاه های مالاریا
  - ✓ نظارت بر اعتبارگذاری /ارزشیابی بیرونی نظام تشخیص مالاریا به درخواست مدیر کشوری برنامه حذف مالاریا
  - ✓ انجام ماموریت های ارزیابی و ارزشیابی نظام تشخیص مالاریا به درخواست مدیر کشوری برنامه حذف مالاریا

– کمیته کشوری تشخیص مالاریا دارای اساسنامۀ مدون حاوی شیوه نامۀ انتخاب اعضاء، نحوۀ ارتباط با مراکز علمی تحقیقاتی کشور جهت رفع نیازهای اطلاعاتی، نحوۀ اجرایی نمودن تصمیمات متخذه و نحوۀ ارزیابی میزان اجرای تصمیمات کمیته در سطوح اجرایی گردد. جایگاه این کمیته در سطوح علمی و اجرایی نظام حذف مالاریا می تواند تقویت گردد.

c. ارزشیاب بیرونی:

در راستای اعتبارگذاری آزمایشگاه های مالاریا یک موسسه مستقل از برنامه حذف مالاریا مسئولیت ارزشیابی آزمایشگاه های مالاریا را در راستای اعتبارگذاری آزمایشگاه ها بر اساس یک پروتکل مدون انجام خواهد داد . نتایج ارزشیابی به کمیته تایید اعتبار ارسال می گردد.

ارزشیابی بیرونی از جمله مهمترین فرایندهای نظام حذف مالاریا است . بر اساس اطلاعات موجود ، انجام دوره ای ارزشیابی بیرونی آزمایشگاه های مالاریا در سالهای اخیر منجر به تحلیل جامع و دقیق وضعیت موجود آزمایشگاه های مالاریا گردید که بدنبال آن تأثیر چشمگیری بر ارتقاء شرایط و فرایندهای جاری در آزمایشگاه های مالاریا داشته است. تداوم این وضعیت نیاز به اقدامات زیر دارد:

- پیش بینی بودجه مورد نیاز در سالهای آتی
- بروز رسانی چک لیستها و ابزارهای ارزشیابی از جمله بانک لام
- تحلیل نتایج و اقدام سریع در جهت رفع نواقص مشاهده شده بویژه ارتقاء صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیستهای فاقد صلاحیت تشخیص میکروسکوپی مالاریا.
- توسعۀ ارزشیابی بیرونی به عملکرد سطوح ستادی (حداقل در سطح شهرستان)

انتظار می رود حداکثر هر دو سال یکبار کلیه ازمایشگاههای مالاریا توسط ارزیاب خارجی ارزشیابی گردند و با استفاده از چک لیست استاندارد توصیه شده توسط نظام تضمین کیفت میزان تطابق تجه یزات و مواد و نیز فرایند های کاری ازمایشگاه با استانداردهای کشوری طی بازدید محل بررسی شده ، صلاحیت فنی میکروسکوپیست ها در دو بعد تئوری و عملی سنجش شده و نیز وضعیت صحت تشخیص با کنترل مجدد لامهای ازمایش شده قبلی بررسی می گردد.

d. آزمایشگاه مرجع کشوری/منطقه ای در نظام تشخیص مالاریا

در حال حاضر تشکیلات خاصی بنام آزمایشگاه مرجع کشوری/منطقه ای در نظام تشخیص مالاریا وجود ندارد .

- مهم است که یک آزمایشگاه ذیصلاح به عنوان آزمایشگاه مرجع کشوری (NRL) تعیین شده و یا چند ازمایشگاه منطقه ای با همین کیفیت با برنامۀ کشوری حذف مالاریا همکاری و هماهنگی نزدیکی با آن داشته باشد.
- در حالت مطلوب، چنین آزمایشگاه ی می تواند در یک بیمارستان بزرگ و یا موسسه تحقیقاتی مستقر شده باشد، ولی در صورت نیاز به هماهنگ شدن با برنامه تضمین کیفیت می تواند در برنامۀ کشوری حذف مالاریا مستقر شود.
- همه کارکنان آزمایشگاه مرجع کشوری باید دانش و تجربۀ کافی در زمینۀ استانداردهای علمی و ا جرایی داشته باشند و یک گروه (هسته) مرجع از میکروسکوپیستها ی خبره در ان مشغول بکار باشند.

- آزمایشگاه مرجع کشوری باید مسئول تثبیت استانداردهای کشوری در موارد زیر باشد:
  - برگزاری دوره های مهارت آموزی
  - تهیه/ مواد آموزشی
  - ارزیابی صلاحیت و عملکرد میکروسکوپیستها بر اساس استانداردهای مندرج در این مجموعه
  - تایید تشخیص مواردی که در کنترل مجدد تشخیص مغایر با تشخیص اولیه بوده است.
  - اعتباردهی به تجهیزات

در راستای موارد پیشگفت ایجاد یک گروه مرجع کشوری از میکروسکوپیستهای ماهر در آزمایشگاههای رفرنس منطقه ای و کشوری اکیدا توصیه می شود.

گروه (هستۀ) مرجع کشوری از میکروسکوپیستها یا کارشناسان ازمایشگاه باید در تمام وظایف تعیین شده، یعنی تهیۀ گسترش خونی، تشخیص دقیق و گزارش نتایج آزمایش لامهای مالاریا تخصص کافی داشته باشند.

انتخاب این میکـروسکوپیستها باید بر اساس یک ارزشیابی هدفمند و شرکت در یک دورۀ اختصاصی باشد که برای میکروسکوپیستهای دارای ظرفیت حرفه ای بالا طراحی می گردد . با توجه به ظرفیت موجود دانشگاههای علوم پزشکی و وسعت و پراکندگی ازمایشگاههای مالاریا در سطح کشور تعدادی آزمایشگاه مرجع در سطح دانشگاه و یا منطقه (که چند دانشگاه علوم پزشکی را تحت پوشش قرار می دهد) می تواند تاسیس می شود. آزمایشگاه های مرجع دانشگاه / منطقه ای زیر برای پوشش آزمایشگاه های دانشگاههای علوم پزشکی کشور پیشنهاد می گردد:

نام دانشگاه	نام آزمایشگاه مرجع منطقه ای	نام دانشگاه	نام آزمایشگاه منطقه ای مرجع
آذر بایجان	تبریز	شاهرود	دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی

شرقی			**تهران/انستیتو پاستور**
آذربایجان غربی	**تبریز**	**شهیدبهشتی**	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**
اردبیل	**تبریز**	**شیراز**	**شیراز**
اصفهان	**اصفهان**	**فسا**	**شیراز**
ایران	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**	**قزوین**	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**
ایلام	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**	**قم**	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**
بابل	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**	**کاشان**	**اصفهان**
بوشهر	**بندرعباس**	**کردستان**	**تبریز**
بیرجند	**زاهدان**	**کرمان**	**کرمان**
تهران	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**	**کرمانشاه**	**تبریز**
جهرم	**شیراز**	**کهگیلویه بویراحمد**	**شیراز**
چهرمحال بختیاری	**اصفهان**	**گلستان**	**مشهد**
خوزستان	**شیراز**	**گناباد**	**مشهد**
رفسنجان	**کرمان**	**گیلان**	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**
زابل	**زاهدان**	**لرستان**	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**
زنجان	**تبریز**	**مرکزی**	**اصفهان**
ساری	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**	**مشهد**	**مشهد**
سبزوار	**مشهد**	**هرمزگان**	**بندرعباس**
سمنان	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**	**همدان**	**دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران/انستیتو پاستور**
سیستان وبلوچستان	**زاهدان**	**یزد**	**کرمان**

لازم به ذکر است که تعداد محدودی از ازمایشگاههای منطقه ای باید علاوه بر موارد پیشگفت ظرفیت فنی و اجرایی انجام ازمایشات مولکولی را در راستای برنامه حذف مالاریا دارا باشند . دانشگاههای علوم پزشکی زاهدان، هرمزگان، کرمان، اصفهان، شیراز، تهران، تبریز و انستیتوپاس‌تور تهران می توانند از جمله این ازمایشگااها باشند . تدونی استانداردهای انجام ازمایش مولکولی از ضروریات است.

e. بانک کشوری لام

در حال حاضر تشکیلات خاصی بنام بانک لام کشوری در نظام تشخیص مالاریا وجود ندارد .

در دستورالعمل شماره یک چهارچوب ایجاد بانک لام کشوری آورده شده است.

f. کمیته بررسی اعتبار آزمایشگاههای مالاریا

کمیته ای متشکل از نمایندگان کمیته کشوری تشخیص مالاریا، اداره کل ازمایشگاههای وزارت بهداشت، نماینده ارزشیابی کننده بیرونی در مورد تایید و یا لغو اعتبار آزمایشگاه های مالاریا تصمیم می گیرد و نتیجه بررسی را به برنامه کشوری حذف مالاریا اعلام می نماید.

2) سطح متوسط / استانی (مدیریتی- نظارتی میانی) نظام اجرایی تضمین کیفیت و اعتبارگذاری خدمات تشخیصی مالاریا

تاکنون اغلب تلاشهای صورت گرفته جهت ارتقاء کیفیت تشخیص میکروسکوپی مالاریا بر بازآموزی میکروسکوپیستها و اخیراً نیز اعتباردهی به آنان متمرکز شده است در حا لیکه اهمیت سطوح مدیریتی و نظارتی در این زمینه به هیچ وجه کمتر از تمرکز بر داخل آزمایشگاه نیست.

در این سطح یک واحد اجرایی با مسئولیت یک نفر کارشناس /کارشناس ارشد آزمایشگاه و یا کارشناس ارشد انگل شناسی باید مسئول حفظ کیفیت آزمایشگاه های محیطی/ شهرستانی و نظارت و پایش فعالیت های آنها باشند. اهم مسئولیت های واحد اجرایی در سطح دانشگاه به شرح ذیل است:

- هماهنگی مداوم با آزمایشگاههای مرجع دانشگاه و منطقه و نیز برنامه حذف مالاریا بمنظور تسهیل اجرای استانداردهای کشوری و اجرای کنترل کیفی مجدد بخشی از لامهای کنترل شده
- برنامه ریزی بمنظور انجام بررسی متقابل (cross-checking) لامهای تهیه شده در آزمایشگاه های سطح محیطی/ شهرستان و ارسال بازخورد نتایج
- نیازسنجی اموزشی میکروسکوپیست ها و تکنسین های آزمایشگاه ی مرتبط ، برنامه ریزی و اجرای فعالیت های مهارت آموزی و باز آموزی با هماهنگی ازمایشگاه رفرانس منطقه ای /کشوری و
- مدیریت زنجیره تامین تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز آزمایشگاه های مالاریا
- تسهیل اجرای ارزیابی داخلی آزمایشگاه های اجرایی شهرستانهای تابعه بر اساس پروتکل مربوطه و پیگیری رفع نواقص تشخیص داده شده در ازمایشگاهها

بدیهی است بدون آموزش مستمر و جامع نمی توان انتظار داشت که کارشناسان شاغل در سطوح نظارتی بر وضعیت موجود اشراف داشته و مشکلات را حل و فصل نمایند.

3) سطح اجرایی محیطی نظام اجرایی تضمین کیفیت و اعتبارگذاری خدمات تشخیصی مالاریا

آزمایشگاه مرکز بهداشتی درمانی شهری/روستایی/بیمارستان/ میز پاسیو/ آزمایشگاه های بخش خصوصی

آزمایشگاه های محیطی که معمولا تحت پوشش مراکز بهداشتی درمانی شهری و یا روستایی، بیمارستانها و یا به شکل مستقل به عنوان میزهای پاسیو در مناطق پرخطر فعالیت می کنند مسئولیت اجرای ازمایشات تشخیص را به عهده دارند .

در مواردی کارکنان خانه های بهداشت نیز پس از طی دوره های آموزشی لازم به تشخیص میکروسکوپی مالاریا می پردازند.

معدود خانه های بهداشتی که تشخیص میکروسکوپی مالاریا را هم انجام می دهند و در سالهای اخیر ارزشیابی بیرونی شده اند عملکرد مطلوبی داشته اند . لذا، بنظر می رسد در صورت نیاز بتوان از پتانسیل این مراکز در تشخیص سریع و بموقع موارد مالاریا بیشتر بهره برد . البته استفاده از RDT برای تشخیص مالاریا جزء وظایف جاری خانه های بهداشت در شهرستانهای اولویت دار شده است و با توجه به سیاست های تدوین شده گسترش ازمایشگاههای تشخیص مالاریا در سطوح محیطی در دستور کار وزارت متبوع قرار ندارد.

در ارزشیابی بیرونی بعمل آمده اختلاف محسوسی بین تسهیلات آزمایشگاه‌ی در آزمایشگاه های ثابت و میزهای پاسیو مشاهده شد و بسیاری از آزمایشگاه های پاسیو بدلایل نواقص تجهیزاتی و مردودی میکروسکوپیست در آزمون صلاحیت تشخیص فاقد اعتبار گردیدند. با توجه به نقش ویژۀ این آزمایشگاه ها در حذف مالاریا در مناطق صعب العبور توجه ویژه به آنها در قالب یک کمیتۀ استانی در دانشگاههای مربوطه ضروری است.

تا کنون در جهت استاندارد سازی و اعتباردهی به آزمایشگاه های بخش خصوصی در برنامۀ حذف مالاریا اقدام خاصی صورت نگرفته است. بدیهی است در مراحل کنونی برنامۀ حذف مالاریا همراهی این آزمایشگاه ها با برنامه از طریق پیاده نمودن برنامۀ استاندارد سازی و اعتباردهی همراه با بخش دولتی حائز اهمیت می باشد.

میکروسکوپیست با صلاحیت فنی:

کلیه میکروسکوپیست ها حداقل هر ۲ سال یکبار و در صورت لزوم زودتر بر اساس نتایج ارزشیابی بیرونی از میزان صلاحیت فنی انان در تشخیص میکروسکوپی در یک دوره بازاموزی شرکت نمایند . این اموزش ها باید بر اساس کوریکولوم آموزشی استاندارد و با بکارگیری اساتید و کارشناسان با تجربه حداقل بمدت ۵ روز انجام شود. ضروری است جهت مهارت آموزی کارکنان از روشهای متعدد و متنوع آموزشی منجمله آموزش از راه دور و آنلاین بهره برد . در این راستا وجود بستۀ لامهای آموزشی در آزمایشگاهها ضرورتی اجتناب ناپذیر است (در هیچیک از آزمایشگاههای مالاریا بسته لام آموزشی وجود ندارد).

نکتۀ بسیار مهم مهارت آموزی سیستماتیک کارشناسان ستادی در زمینۀ تضمین کیفیت تشخیص میکروسکوپی مالاریا است. این نوع آموزش نیازمند برنامه ریزی، تأمین منابع مالی، تأمین منابع آموزشی و تعهد مدیران ارشد است.

فرایند های استاندارد کاری ازمایشگاه

تمام برنامه های تشخیصی مالاریا باید روشهای اجرایی استاندارد (SOPs) داشته باشند که در برگیرندۀ اصول نگهداری میکروسکوپ، نحوۀ تهیۀ گسترش خونی و رنگ آمیزی باشند. همۀ روشهای اجرایی استاندارد مورد استفاده در هر دوره آموزشی بهمراه برنامۀ دوره، باید حداقل یکماه قبل از برگزاری در اختیار شرکت کنندگان قرار گیرد.

استاندارد ها بخش مهمی از فرایند تضمین کیفیت هستند و کلیه بخشهای مهم خدمات آزمایشگاه ی مالاریا را پوشش می دهند. SOP موجب پیشگیری از بروز خطا می شود هرچند به یافتن آنها نیز کمک می کند.

SOP آزمایشگاه‌ای مالاریا بر اساس مبانی زیر تهیه شده است:

- فرمت استانداری و یکسانی دارند
- به زبانی ساده تهیه شده اند که برای استفاده کنندگان ان قابل فهم باشند
- به جزئیات اجرای فرایند در حد نیاز پرداخته شده تا اجرای ان امکان پذیر باشد.
- توسط افراد با تجربه تهیه شده است
- رعایت استانداردها توسط کارکنان مربوطه الزامی است.

در دستورالعمل شمارۀ پنج این مجموعه SOP های مهم در آزمایشگاه تشخیص میکروسکوپی مالاریا آورده شده است. کلیه فرایند های اصلی در این مجموعه نیز بر اساس توصیه های کشوری و WHO درج شده است.

تجهزات و مواد مصرفی استاندارد

توانایی انجام کار با کیفیت بالا به طور مستقیم بستگی به کیفیت تجهیزات و مواد موجود دارد. در نوع و استانداردهای تجهیزات و مواد مورد استفاده در کشورها، تنوع زیادی وجود دارد که به همین جهت، بسیاری از آزمایشگاه ها نیاز به راهنمایی دارند. مشکلات زیادی نیز در زمینۀ وجود یک نظام مؤثر تدارکاتی که بتواند ذخیرۀ مناسبی از لوازم و تجهیزات ایجاد کند وجود دارد.

لذا باید تلاش لازم صورت پذیرد تا همه مواد و تجهیزات مورد استفاده مطابق با استانداردهای اعلام شده باشند. اگر این انطباق به سرعت امکان پذیر نباشد ، استاندارد سازی باید در اولین زمان ممکن به انجام برسد . استانداردسازی میکروسکوپها (میکروسکوپهای برقی دو چشمی) ضروری است، زیرا موجب تسهیل نگهداری، خرید و تامین قطعات یدکی می شود.

فهرست منابع و تجهیزات استاندارد برای ایجاد آزمایشگاه مالاریا در دستورالعمل شماره ۲ آورده شده است:

ارزیابی و ارزشیابی

برنامه تضمین کیفیت بر سه محور در حوزه ارزیابی و ارزشیابی تاکید می نماید:

الف) خود ارزیابی (Self assessment)
ب)ارزشیابی درون دانشگاهی (Internal Quality Control (IQC) Procedures)
ج) ارزشیابی بیرونی (External Evaluation)

الف) خود ارزیابی

در این روش انتظار می رود تکنسین مسئول ازمایشگاه با در نظر گرفتن استانداردهای ازمایشگاه فرایند های جاری آزمایشگاه را به طور منظم کنترل نماید و در صورت مشاهده مشکل نسبت به رفع ان اقدام نماید . ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهیصورت کار روتین روزانه به شکلی دائمی انجام و امکان اصلاح مشکلات فراهم می شود .

انتظار می رود خود ارزیابی هر سالی دو بار در ماههای خرداد و اذر توسط میکروسکوپیست با استفاده از چک لیست ارزشیابی آزمایشگاه مالاریا انجام شود و نتایج مکتوب آن در ازمایشگاه به مدت ۳ سال نگهداری شود

علاوه بر استفاده از چک لیست موارد فنی اساسی زیر باید حتماً بطور منظم پایش شوند:

- استفاده بهینه از تجهیزات، بویژه میکروسکوپ و وضعیت آن
- کیفیت مواد و رنگ
- عملکرد کارکنان آزمایشگاه در استفاده و پیروی از رویه های اجرایی استاندارد(SOPs) و
- تشخیص و شناسایی انگلها
- گزارش بموقع نتایج به سطوح بالاتر
- ارسال بموقع لامها به آزمایشگاه سطح بالاتر برای کراس چک
- نگهداری مناسب منابع و تجهیزات.

فعالیتهای مربوط به کنترل کیفیت داخلی باید بطور منظم حین بازدید کارشناسان فنی آزمایشگاههای ناظر بررسی شوند . ارائۀ راهنمایی های لازم جهت حل سریع مشکلات تجهیزاتی، مواد و روشها، بویژه برای آزمایشگاههای مناطق دوردست که به کمکهای فوری دسترسی ندارند، میتواند مفید باشد. چالش عمده در اجرای مؤثر کنترل کیفیت داخلی اطمینان از " ایجاد یک فرهنگ کیفیت " در آزمایشگاههای محیطی است بطوریکه کارکنان مفهوم و نیاز به کنترل و تضمین کیفیت را درک کنند.

ب) ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی

در این مجموعه هر گاه ارزیابی و ارزشیابی یک آزمایشگاه توسط واحد متعلق به دانشگاه علوم پزشکی مربوطه انجام شود ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی نامیده می شود. انتظار می رود حداقل هر ۶ماه یکبار هر ازمایشگاه با استفاده از چک لیست مورد بازدید قرار بگیرد . همچنین درصدی از لامهای از مایش ده بررسی متقاطع شوند . در دستورالعمل شماره سه فرایند کنترل کیفیت به تفصیل آورده شده است.

ج) ارزشیابی بیرونی (External Evaluation) / اعتبارسنجی (Accreditation)

هدف از اعتبارسنجی ارزیابی هدفدار و رسمی صلاحیت و عملکرد میکروسکوپیستهای مالاریا و عملکرد آزمایشگاه مالاریا (با استفاده از چک لیست و کنترل کیفی مجدد بخشی از لامهای ازمایش شده) می باشد. اعتبارسنجی آزمایشگاه های مالاریا در راستای نیل به هدف حذف مالاریا برای نخستین بار در کشور برنامه ریزی شده است.

اهمیت اعتبار سنجی:

- موجب تسهیل اجرا و نگهداری سیستم تضمین کیفیت می شود.
- موجب افزایش اعتماد استفاده کنندگان خدمت به نتایج ازمایش می شود.
- موجب افزایش اعتماد استفاده کنندگان خدمت به خدمات ارائه شده توسط آزمایشگاه می شود.
- تصویری واضح از وضعیت تکنیکی آزمایشگاه‌های مالاریا را فراهم می کند .
- کاهش هزینه های عملیاتی را به دنبال خواهد داشت زیرا کمک می کند که نتایج درست ازمایش در همان نوبت اول ازمایش بدست بیاید و نیازی به تکرار نباشد.
- موجب پذیرش نتایج و امار گزارش شده در سطح ملی و بین المللی می شود.
- موجب افزایش رقابت و بهبود کیفیت خدمات کمی شود.
- موجب رعایت استانداردهای خرید کالا می شود.
- در بخش خصوصی موجب افزایش جلب مشتری می شود.

هماهنگ کننده اجرایی اعتبارسنجی

برنامه حذف مالاریا (هماهنگ کننده کشوری برنامه تضمین کیفیت) مسئول هماهنگی اجرای نظام اعتبارگذاری آزمایشگاه‌های مالاریا در سطح کشور است . اعتبارسنجی بر اساس نتایج ارزشیابی مبتنی بر استانداردهای مدون در دستورالعمل شمارۀ چهار این مجموعه بعنوان پروتکل کشوری و توسط یک بخش مستقل از برنامه حذف مالاریا انجام میشود و برنامه حذف مالاریا نقشی در فرایند تایید و یا لغو اعتبار آزمایشگاه ندارد.

کمیته بررسی اعتبار آزمایشگاه های مالاریا

کمیته ای متشکل از نمایندگـان کمیته کشوری تشخیص مالاریا، نماینده سازمانهای غیر دولتی و یا خصوص ی ارزشیابی کننده در مورد تایید و یا لغو اعتبار آزمایشگاه مالاریا تصمیم می گیرد و نتیجه بررسی را به برنا مه کشوری حذف مالاریا اعلام می نماید.

اصول اجرای نظام اعتبارسنجی

- فرایند های اعتبارسنجی شفاف بوده و همه قدم های فرایند اعتبارسنجی مستند می شود وقابل پیگیری است.
- مراکز بهداشت استان (واحد اجرایی /مدیرتی سطح میانی) مسئولیت معرفی آزمایشگاه‌ها و میکروسکوپیستهای واجد شرایط به منظور تایید اعتبار را به عهده دارد که بر مبنای آخرین نتایج ارزشیابی داخلی صورت می پذیرد. آنها همچنین مسئولیت مشاوره تکنیکی آزمایشگاه‌های محیطی در فرایند اعتبار بخشی را به عهده دارد.

بر اساس پروتکل کشوری اعتباربخشی آزمایشگاه‌های مالاریا هر میکروسکوپیست گواهینامه صلاحیت دریافت می نماید . همچنین به هر آزمایشگاه گواهینامه تایید اعتبار داده خواهد شد ، لذا رتبه آزمایشگاه در نظام رتبه بندی آزمایشگاه‌های مالاریا مشخص می شود.

گواهی اعتبار آزمایشگاه و گواهی صلاحیت میکروسکوپیست توسط نماین‌ده کمیته تشخیص مالاریا، مدیر برنامه کشوری کنترل مالاریا و رئیس مرکز مدیریت بیماریها توشیح می شود.

گواهینامه صلاحیت

گواهینامه صلاحیت هر میکروسکوپیست لازمه تضمین کیفیت تشخیص های مالاریا می باشد که انتظار می رود دریافت آن موجب پیشرفت شغلی کارکنان گردد. گواهینامه صلاحیت میکروسکوپیست و گواهینامۀ اعتباری آزمایشگاه برای مدت ۳ سال اعتبار خواهد داشت.

شرکت میکروسکوپیست در دوره های بازاموزی و کسب حداقل رتبه در آزمون های صلاحیت شناختی و رفتاری لازمه تمدید گواهینامه مزبور است.

مهم:

- اگر نتیجه آزمون گواهینامه صلاحیت انجام شده در فرایند ارزشیابی درون دانشگاهی یا ارزشیابی بیرونی حتی در زمانی که اعتبار گواهینامه به پایان نرسیده است کمتر از حد نصاب تعیین شده باشد گواهینامه فاقد اعتبار بوده و میکروسکوپیست برای طی دوره اموزشی معرفی می گردد.
- اشتغال بکار در آزمایشگاه مالاریا مستلزم داشتن گواهینامه صلاحیت است.
- هر یک از آزمایشگاه‌های مالاریا و میکروسکوپیستها باید در واحد نظارت بر آزمایشگاه‌ها پرونده داشته باشند و گواهینامه های مربوط به صلاحیت آنها در این پرونده ها نگهداری شود . باید اصل این گواهینامه توسط شخص میکروسکوپیست به خوبی نگهداری و حفظ شده و یک کپی از آن هم در اختیار مسئول آزمایشگاه قرار گیرد.

استاندارد شماره یک: فضای فیزیکی و تجهیزات استاندارد آزمایشگاه مالاریا

استانداردهای فضای فیزیکی آزمایشگاه:

۱ - نوع بنای آزمایشگاه ترجیحاً بلوکی/آجری باشد
۲ - منبع نور شبکهٔ سراسری برق باشد
۳ - دسترسی به نور طبیعی پیرامونی میسر باشد.
۴ - نور آزمایشگاه کافی و یکنواخت باشد.
۵ - دسترسی به شبکهٔ لوله کشی شهری آب آشامیدنی میسر باشد.
۶ - جنس رویهٔ میز کار میکروسکوپیست قابل شستشو ترجیحاً سنگ و ترجیحاً تماماً کاشی/سرامیک و به حرارت ، اسید ، قلیا ،حلال های ارگانیک ، فشار و ضربه مقاوم باشد.
۷ - صندلی گردان مخصوص کار میکروسکوپیست به تعداد میکروسکوپیست موجود باشد.
۸ - فضای انبارسازی تجهیزات و مواد موجود باشد .
۹ - ارتفاع سقف آزمایشگاه حداقل ۲۴۰ سانتیمتر باشد.
۱۰ -کف آزمایشگاه قابل شستشو باشد.
۱۱ -دیوارها و درب های آزمایشگاه ، حداقل تا ارتفاع ۱/۵ متر قابل شستشو باشد.
۱۲ -خرابی و فرسودگی در ساختمان آزمایشگاه نباید وجود داشته باشد.
۱۳ -لوله کشی آب (آب گرم در مناطق سردسیر) با فشار مناسب وجود داشته باشد.
۱۴ -سیستم سرمایش و گرمایش مناسب در آزمایشگاه تعبیه شده باشد
۱۵ -در صورت وجود سیستم لوله کشی گاز در آزمایشگاه سیستم مزبور استاندارد و ایمن باشد.
۱۶ -توالت ها دارای هواکش و سیفون باشد
۱۷ -سیستم تهویه آزمایشگاه مطلوب باشد و مانع تجمع گازها و بخارات نامطبوع و مضر گردد.
۱۸ -پنجره هایی که به فضای آزاد باز می شوند، دارای توری باشند
۱۹ -کپسول اطفاء حریق در آزمایشگاه به تعداد کافی (به ازای هر ۵۰ متر مربع ،یک کپسول ۴ کیلوگرمی) موجود باشد
۲۰ -حدود ۱ متر مربع فضای کاری برای فعالیت هر یک از کارکنان در نظر گرفته شود.
۲۱ -فضای بین میز های کاری جهت تردد کارکنان کافی باشد (فضای کافی برای تردد کارکنان حداقل ۱۲۰ سانتیمتر در نظر گرفته می شو).
۲۲ -ارتفاع و عمق میزهای کاری مناسب باشد (ارتفاع مناسب میزهای کار برای حالت نشسته ۷۵ سانتیمتر، برای حالت ایستاده ۹۰ سانتیمتر ، برای و عمق میزها بین ۷۵ - ۶۰ سانتیمتر در نظرگرفته می شود)
۲۳ -در سطوح انجام کار، شیار ، درز و خلل و فرج که امکان رشد میکروبی را فراهم می کند نباید وجود داشته باشد.

استانداردهای ملزومات مصرفی آزمایشگاه

ردیف	مواد	تعداد/مقدار	توضیحات
۱	دستکش، برای معاینه،لاتکس، یکبار مصرف،متوسط	دو بسته صد تایی	برای مصرف سه ماه
۲	گزیلول	۱۰۰سی سی	برای مصرف سه ماه
۳	پنبه هیدروفیل	سه بسته صد گرمی	برای مصرف سه ماه
۴	لانست، یکبارمصرف،استریل،نوع استاندارد	حد اقل سه بسته صد عددی	برای مصرف سه ماه
۵	محفظه اشیای تیز،سرسوزن، سرنگ، 15l، جعبه مقوایی برای سوزاندن	۶ عدد	برای مصرف سه ماه
۶	سرنگ ، یکبارمصرف۵ سی سی	۲۰ عدد	برای مصرف سه ماه
۷	لام ،۷۶میلیمتر×۲۶میلی متر، با ضخامت ۱ میلی متر تا ۱.۲ میلی متر	حد اقل شش بسته ۵۰ عددی	برای مصرف سه ماه
۸	کاغذ فیلتر ، مناسب برای جمع اوری نمونه جهت PCR	۱بسته	برای مصرف سه ماه
۹	لنز پاک کن ، کاغذی	یک بسته	برای مصرف سه ماه
۱۰	پی پت، پاستور مدرج، پلاستیکی، غیر استریل	۱۰عدد	برای مصرف سه ماه
۱۱	دترجنت / انواع شوینده	۱ بسته /لیتر	برای مصرف سه ماه
۱۲	آب مقطر خنثی (PH 7.2)	دو لیتر	برای مصرف سه ماه
۱۳	محلول ۱۰٪ IODINE POVIDONE یا بتادین	یک بطری۳۰۰ سی سی	برای مصرف سه ماه
۱۴	روغن ایمرسیون	۳۰۰ سی سی	برای مصرف سه ماه
۱۵	اتانول	دو بطری یک لیتری	برای مصرف سه ماه
۱۶	متانول	دو بطری یک لیتری	برای مصرف سه ماه
۱۷	قرص بافر، pH ۷.۲، برای یک لیتر آب	۲۰ عدد	برای مصرف سه ماه
۱۸	رنگ گیمسا	یک لیتر	برای مصرف سه ماه
۱۹	صابون (ترجیحا مایع)	یک لیتر	برای مصرف سه ماه
۲۰	مواد ضد عفونی سطح و کف ازمایشگاه	یک بطری	برای مصرف سه ماه
۲۱	نوار pH متر	۱ بسته صد تایی	

استانداردهای ملزومات غیرمصرفی آزمایشگاه

ردیف	موارد	تعداد/بسته	توضیحات
۱	سینک پرتابل رنگ آمیزی	یک عدد	
۲	تایمرزنگ دار سالم	یک عدد	
۳	رک پلاستیکی برای خشک کردن اسلایدها، عمودی	دو عدد	
۴	بطری، شیشه ای یا پلاستیکی، قهوه ای، در پیچ دار، ۱ لیتری برای نگهداری رنگ	یک عدد	
۵	جعبه لام ۵ عددی	۴ عدد	
۶	جعبه لام، برای ۱۰۰ لام	دو عدد	
۷	بشر، مدرج، شیشه ای، ۱۰۰ میلی لیتری	یک عدد	
۸	بشر، شیشه ای، پیرکس ۵۰۰ میلی لیتری	یک عدد	
۹	قیف شیشه ای یا پلاستیکی	یک عدد	
۱۰	فیلتر آبی شیشه ای یدکی	یک عدد	
۱۱	لامپ میکروسکپ(هالوژن) یدکی	دو عدد	
۱۲	فرم ثبت شمارش انگل	۱۵ برگ	
۱۳	ماشین حساب متوسط(یک عدد)	یک عدد	
۱۴	سشوار	یک عدد	
۱۵	سینی رنگ امیزی	یک عدد	
۱۶	پوستر رنگی انگلها ی مالاریا (اطلس)	یک سری	
۱۷	دفتر پاسیو	یک جلد	
۱۸	کپسول اطفاءحریق	یک عدد	
۱۹	لوله ازمایشگاه با حجم۴-۵ سی سی حاوی EDTA	۵ عدد	
۲۰	گارو	یک عدد	
۲۱	شیشه قطره چکان مخصوص روغن-الکل متانول	سه عدد	
۲۲	ظرف شیشه ای قطره چکان مخصوص رنگ گیمسا	دو عدد	
۲۳	مداد HB مشکی	دو عدد	
۲۴	جعبه لام آموزشی از پلاسمودیومهای رایج	یک عدد	
۲۵	راهنمای روشهای عملی استاندارد (NMCP)برای میکروسکوپی مالاریا	یک عدد	
۲۶	Bench aids برای تشخیص عفونتهای مالاریا: ۱۲ تصویر رنگی : WHO ، ۲۰۰۸ – ویرایش سوم یا اطلس	یک سری	
۲۷	راهنمای کشوری درمان مالاریا (اگر ازمایشگاه یک مرکز درمان کننده است)	یک جلد	
۲۸	دفتر لامهای رسیده	۱ جلد	
۲۹	دفتر کارکرد روزانه	۱ جلد	
۳۰	فرم گزارش ماهیانه آزمایشگاه	۳۶ برگ	برای مصرف یکسال
۳۱	فرم مشخصات انگلدار	۳۰ برگ	برای مصرف یکسال
۳۲	دفتر پاسیو در صورتی که مراجعین به شکل پاسیو به آزمایشگاه مراجعه می کنند.	۱ جلد	
۳۳	کتاب استانداردهای ازمایشگاه	۱ جلد	

۳۴	داروهای ضد مالاریا در صورتیکه ازمایشگاه مزبور یک مرکز درمان کننده مالاریا می باشد.	قرص های کلروکین و پریماکین برای درمان ویواکس و قرص کوارتم و یا ارتسونت - فانسیدار برای درمان فالسیپاروم. دوز کافی برای درمان حداقل یک بیمار بزرگسال

ایجاد زنجیره تأمین منابع

وجود یک زنجیرهٔ مؤثر تامین منابع به منظور پیش بینی و ارائهٔ همه لوازم و تجهیزات ضروریست، تا جریان بدون وقفه ای از تشخیص قابل اعتماد مالاریا بوجود آید. اگر از تکمیل سریع ذخایر اقلام مصرفی نمی توان مطمئن شد، ذخیرهٔ بافر برای حداقل ۶ ماه فعالیت در تمام سطوح باید وجود داشته باشد.

مهم:

تجهیزات و مواد مصرفی باید حائز استانداردهای ملی کشور باشند و در صورت عدم وجود استاندارد مدون ملی می توان از استانداردهای جایگزین مانند ایزو، یورو و یا DIN آلمان استفاده نمود.

اقلام مصرفی و تجهیزاتی باید در دفتر موجودی –مصرفی درج و هر ماه اطلاعات ان بروز گردد.

استاندارد شماره دو: مشخصات مواد مصرفی استاندارد

لام

فقط لامهای میکروسکوپ با کیفیت بالا، عاری از خراشهای سطحی و خریداری شده از فروشندگان معتبر باید برای میکروسکوپی مالاریا استفاده شود . آنها را باید بدقت عاری از چربی، رطوبت و قارچ نمود . بنابر این بهتر است قبل از استفاده تمیز گردیده، سپس ذخیره شوند . با این کار بسیاری از شبه انگلها که باعث اشتباه در تشخیص مالاریا می شوند، حذف می گردند، و نیز از کنده شدن گسترش ضخیم خون هنگام شستن رنگ در فرایند رنگ آمیزی جلوگیری می شود. لام های معیوب زیر را کنار بگذارید:

الف) لام هایی که ظاهر شبنم زده یا زمینهٔ رنگین کمانی دارند؛

ب) لام هایی(ا عم از قدیمی و جدید) که ناقص تمیز شدها ند؛

ج) لام های قدیمی که لبه های مضرس یا سطح خراشیده دارند.

بطور کلی استفادهٔ مجدد از لامها توصیه نمی شود. اگرچه در شرایطی که لام استفاده نشده در دسترس نباشد، استفادهٔ مجدد از لام ممکن است ضروری باشد.

رنگها

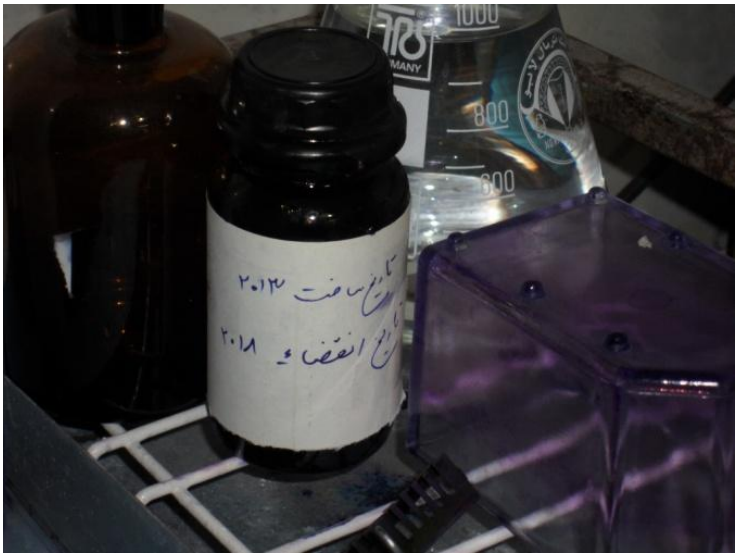
رنگهای افتراقی زیادی برای تشخیص انگل مالاریا ساخته شده اند، اما ثابت شده است که رنگهای رومانوفسکی (Romanowsky) که هسته را قرمز و سیتوپلاسم را آبی رنگ می کنند، برای فعالیتهای جاری سازگار و قابل اعتماد هستند.

رنگ گیمسا (Giemsa) بر پایهٔ الکل، استاندارد "طلایی" می باشد. این رنگ بدلیل قابلیت استفاده از آن برای گسترشهای نازک و ضخیم، دوام آن در مدت ذخیره سازی و کیفیت پایدار آن در طیفی از درجه حرارت، رایجترین رنگ مورد استفاده و بهترین رنگ برای تشخیص های جاری است . اگرچه این رنگ نسبتاً گران قیمت است، ولی رنگ انتخابی برای آزمایشگاه های محیطی است.

نظر به اهمیت حیاتی رنگ گیمسا در انجام یک رنگ آمیزی با کیفیت خوب، توصیه می شود حتی الامکان از رنگهای آماده واجد استاندارد با توجه به تاریخ مصرف رنگ استفاده شود.

یکی از متغیرهای مهم در رنگ آمیز ی pH محلول رنگ آمیزی و آب مورد استفاده برای شستشو است . pH متر دستی ساده باید در دسترس همه آزمایشگاههای تشخیص مالاریا باشد چرا که کاغذ pH سنج برای اندازه گیری pH آب و بافر مطلوب نیست، زیرا تفاوت های اندک در pH (مانند pH بین ۷.۲ – ۷.۰) می تواند تفاوت های قابل توجهی در کیفیت رنگ ایجاد کند و کاغذ pH سنج قادر به اندازه گیری تغییرات اندک pH نیست.

کیفیت کلیه اقلام و تجهیزات مصرفی ازمایشگاهای مالاریا باید توسط مقامات ذیصلاح (ازمایشگاه رفرانس کشور) تایید شود.



تصویر شماره ۳: نگهداری محلول رنگ به شکل استاندارد

استاندارد شماره سه :تهیهٔ آب بافر داراي pH معادل 7/2

برای رنگ آمیزی صحیح گسترش های خونی بایستی از آب بافردار با PH معادل ۷/۲ برای رقیق کردن رنگ گیمسا استوک استفاده کنیم.

تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز:

- ترازوی که تا ۰/۰۱ گرم دقت داشته باشد.
- کاغذ صافی به قطر ۱۱cm
- یک بالن ژوژه شیشه ای به حجم یک لیتر
- یک بشر شیشه ای به حجم ۲۵۰ میلی لیتر
- قاشقک چوبی (چوب معاینه حلق معمولاً در دسترس است)
- آب مقطر یا دیونیزه به حجم یک لیتر
- فسفات نیوپتاسیک (بدون اب) KH_2Po_4
- فسفات هیدروژن سدیم (بدون آب)۴ Na_2HPo

مراحل اجرای فرایند:

۱- با استفاده از پیچ تنظیمی ترازو که در بازوی راست ترازو قرار دارد از تنظیم بودن ترازو در محل صفر اطمینان حاصل نمایید.

۲- روی هر کفهٔ ترازو یک کاغذ صافی قرار دهید و این بار با حرکت دادن وزنه گرم در امتداد بازوی گرم ترازو صفر ترازو را تنظیم نمایید.

۳- وزنهٔ گرم را ۰/۷ گرم بیشتر روی بازوی درجهٔ گرم قرار دهید که برای وزن کردن فسفات دی هیدروژن پتاسیم آماده باشد.

۴- با استفاده از یک قاشقک چوبی مقداری از فسفات دی هیدروژن پتاسیم را روی کاغذ صافی کفهٔ سمت چپ ترازو بریزید.

۵- فسفات دی هیدروژن پتاسیم را به بشر شیشه ای منتقل کنید؛ ۱۵۰cc آب به آن افزوده و تا زمانیکه نمک در آن حل شود آنرا با یک قاشقک چوبی هم بزنید.

۶- یک کاغذ صافی جدید دیگر در کفهٔ سمت چپ قرار دهید.

۷- ترازو را به همان شکل قبلی مجدداً تنظیم نمایید اما این مرتبه وزنهٔ گرم را روی ۱ گرم برای فسفات هیدروژن سدیم قرار دهید.

۸- با کمک قاشقک چوبی تمیز مقداری از فسفات هیدروژن سدیم به کفهٔ سمت راست اضافه کنید و وزن را مشابه آنچه که در مرحله ۴ توضیح دادیم تنظیم نمایید.

۹- فسفات هیدروژن سدیم را به محلول داخل بشر بیافزایید و مانند مرحلهٔ ۵ هم بزنید.

۱۰- هنگامیکه نمکها کاملاً حل شدند محلول را از بشر به داخل بالن ژوژه منتقل کنید و حجم ان را با اب به یک لیتر برسانید.

سایر توضیحات :

- برای برخی فرآورده های گیمسای موجود لازمست آنقدر pH را تغییر دهیم تا کیفیت رنگ آمیزی را به حد مطلوب برسانیم. در این موارد توصیه می شود که آزمایشگاه مرجع ملی pH مطلوب و شرایط آماده سازی جهت دستیابی به آنرا تعیین کند و SOP هایی را به منظور تهیهٔ لام برای سایر آزمایشگاه هایی که ازاین محصـــول استفـــاده می کنند تنظیـــم

نماید. این امر از اینجا ناشی می شود که محلول استوک گیمسا که برای یک برنامه تهیه می شود بایستی استاند ارد شود تا نیاز به تنظیمات SOP های رنگ آمیزی را به حداقل برساند.

- نمکهای بافر باید با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی وزن شوند . همینطور بایدمطمئن شویم که نمکهای بافر بطرز صحیحی نگهداری شده اند و از هوا و رطوبت نمی گیرند.

استاندارد شماره چهار : تهیهٔ مایع تصحیح کنندهٔ 2%.

تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز:

- یک ترازوی با رقت ۰/۰۱ گرم .
- کاغذ صافی به قطر ۱۱ سانتی متر.
- دو عدد بطری شیشه ای درپوش دار که هر یک حجمی معادل ۱۰۰ یا ۱۵۰ میلی لیتر داشته باشند.
- فسفات دی هیدروژن پتاسیم (بدون آب) KH_2PO_4
- آب مقطر یا دیونیزه حدود ۲۰۰ میلی لیتر.
- قاشقک چوبی.
- ۲ عدد بشر به حجم ۲۵۰ میلی لیتر
- یک عدد استوانهٔ مدرج به حجم ۱۰۰ میلی لیتر.
- برچسب.

مراحل اجرای فرایند:

۱ - با استفاده از پیچ تنظیمی ترازو که در بازوی راست ترازو قرار دارد از تنظیم بودن ترازو در محل صفر اطمینان حاصل نمایید .

۲ - روی هر کفهٔ ترازو یک کاغذ صافی قرار دهید و این بار با حرکت دادن وزنه گرم در امتداد بازوی گرم ترازو صفر ترازو را تنظیم نمایید.

۳ - سپس وزنهٔ گرم را ۲ گرم بیشتر روی بازوی درجهٔ گرم حرکت دهید.

۴ - مقدار ۲ گرم فسفات هیدروژن سدیم وزن نمایید و آنرا به ۱۰۰ میلی لیتر آب داخل بشر اضافه کنید . با قاشقک آنرا هم بزنید تا نمکها کاملاً حل شوند.

۵ - محلول را داخل یکی از بطری های شیشه ای بریزید و روی آن برچسب «فسفات هیدروژن سدیم ۲٪» بچسبانید.

۶ - مراحل ۱ تا ۳ را تکرار کنید فقط این بار از ۲ گرم فسفات دی هیدروژن پتاسیم استفاده نمایید و بطری را برچسب بزنید.

۷ - بطری ها باید در مکان خنک و دور از نور آفتاب نگهداری شوند.

استاندارد شماره پنج: بررسي و تنظيم pH آب بافر

pH آب بافر باید در ابتدای هر روز کاری بررسی شود

تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز:

- آب بافر در ظرف مخروطی

- دو بطری مایع تصحیح کننده
- pH متر (به عنوان مثال رنگ سنج) همراه با اجزای مرتبط (مثلاً یک دیسک برموتیمول بلو $H\frac{2}{1}$) و معرف ها(شناساگر بروموتیمول بلو)

مراحل اجرای فرایند:

۱. از دستورالعمل موجود در کیت سنجش pH تبعیت کنید و PHمحلول را اندازه گیری کنید.
۲. pH آب موجود در ظرف مخروطی شکل را با افزودن مقادیر کمی از محلول تصحیح کنندۀ مناسب تنظیم نمایید.
۳. اگر pH کمتر از ۷/۲ است (اسیدی) از Na_2HPo_4 دو درصد و در صورتیکه pH بالای ۷/۲ است (قلیایی) از KH_2Po_4 ۲٪ استفاده شود.

سایر توضیحات :

به خاطر داشته باشید: برخی برنامه ها از سیستم های دیگری جهت اندازه گیری pH استفاده می کنند. انواع متعددی از روشهای مطمئن اندازه گیری pH وجود دارد.

استاندارد شماره شش : رنگ آميزي گسترشهاي خوني به روش سريع (10%)

رنگ امیزی استاندارد لامهای آزمایشگاهی به روش سریع .این روش برای رنگ آمیزی تعداد کمی لام و نتیجه گیری سریع استفاده می شود.

تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز:

- رنگ گیمسا که از محلول استوک به بطری ۲۵ میلی لیتر منتقل شده است.
- متانول
- پنبه هیدروفیل جاذب
- لولۀ آزمایش به حجم ۵ میلی لیتر
- آب مقطر یا دیونیزه شده که توسط بافر بهpH ۷/۲ رسیده باشد.
- پیپت پاستور لاستیکی پستانی
- رک یا سینی یا صفحۀ پلاستیکی خمیده مخصوص رنگ آمیزی
- رک برای خشک کردن لامها
- ساعت زمان سنج

مراحل اجرای فرایند:

۱. با مالیدن یک پنبۀ آغشته به متانول روی گسترش نازک یا فرو کردن آن بطور کامل در متانول ، آنرا تثبیت کنید . متانول و بخارات آن نباید با گسترش ضخیم تماس پیدا کند.
۲. از یک محفظۀ کوچک جهت نگهداری رنگ آماده استفاده کنید، یک محلول ۱۰٪ از رنگ گیمسا با آب بافری تهیه کنید و قبل از ریختن رنگ روی لامها آنرا بخوبی مخلوط کنید . هر لام تقریباً به ۳ میلی لیتر رنگ احتیاج دارد. با افزودن ۳ قطره رنگ گیمسا بوسیلۀ پیپت پاستور به ۱ میلی لیتر آب بافری محلول ۱۰٪ بدست خواهیم آورد. گیمسای رقیق

شده باید بلافاصله قبل از رنگ آمیزی تهیه شود و هر چه از رنگ اضافی باقی بماند را دور می ریزیم. رنگ گیمسای رقیق شده را حداکثر تا ۱۵ دقیقه پس از تهیه می توانیم مصرف نماییم.

۳. لامها را در سینی شیار دار رو به پایین قرار دهید و در رک رنگ آمیزی رو به بالا.

۴. رنگ را به آرامی میان لام و سینی بریزید تا تمام لامها با رنگ پوشیده شوند یا رنگ را به آرامی روی لامهایی که رو به بالا روی رک قرار گرفته اند بریزید.

۵. گسترشها را به مدت ۸ تا ۱۰ دقیقه رنگ کنید. کیفیت رنگ ها از یک batch به batch دیگر متفاوت است. بنابراین برای تعیین زمان مطلوب رنگ آمیزی بایستی چند سری لام را با مدت زمانهای متفاوت رنگ کنیم.

۶. با افزودن قطرات آب تمیز به آرامی رنگ را از روی لام بشوییم . هیچگاه بطور مستقیم رنگ را از روی لام خالی نکنیم چرا که رسوبات سبزرنگ دارای جلای فلزی روی سطح گسترش می چسبد و برای مشاهدهٔ میکروسکوپی نامناسب می سازد.

۷. هنگامیکه رنگ کاملاً شسته شد، لامها را بصورتی که سطح گسترش رو به پایین باشد برای خشک شدن داخل رک قرار دهید.

سایر توضیحات :

گسترشهای خونی ضخیم قبل از رنگ آمیزی باید بطور کامل خشک شده باشند . نگهداری طولانی مدت قبل از رنگ آمیزی در شرایط رطوبت می تواند منجر به تثبیت شدن و رنگ پذیری ضعیف شود.

استاندارد شماره هفت: رنگ آميزي گسترشهاي خوني به روش اهسته (3%)

رنگ امیزی استاندارد لامهای آزمایشگاهی به روش آهسته برای رنگ امیزی تعداد زیادی لام (۲۰ لام و بیشتر) . این تکنیک برای رنگ آمیزی لامهای بانک لام بسیار عالی می باشد.

تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز:

- رنگ گیمسا
- متانول
- پنبه هیدروفیل
- ظرف رنگ آمیزی با گنجایش ۲۰ لام بطوری که لامها پشت به پشت هم قرار گیرند.
- آب بافری با pH معادل ۷/۲ ، pH بافر براساس جزئیات اجرای آزمایشی مرحله قبل تنظیم شده است.
- استوانهٔ مدرج ، با گنجایش ۱۰۰ تا ۵۰۰ میلی لیتر.
- استوانه مدرج ، با گنجایش ۱۰ تا ۲۵ میلی لیتر .
- بشر ، گنجایش به حجم رنگی که باید ساخته شود بستگی دارد.
- ساعت زمانگیر.
- رک مخصوص خشک کردن لامها.

مراحل اجرای فرایند:

۱. هرلام تهیه شده را به آرامی با پنبه آغشته به متانول تثبیت کنید، یا لام را چند ثانیه در ظرف حاوی متانول فرو ببرید.

۲. لامها را پشت به پشت یکدیگر داخل ظرف رنگ آمیزی بچینید به شکلی که تمام گسترشهای ضخیم در یک طرف و تمام گسترشهای نازک در طرف دیگر باشند.

۳. با اضافه کردن ۳ میلی لیتر گیمسا غلیظ به ۹۷ میلی لیتر آب مقطر خنثی محلول ۳ درصد گیمسا تهیه می شود.

۴. رنگ را به آرامی درون جا رنگی بریزید طوریکه لامها را کاملا بپوشاند . به آرامی رنگ را داخل ظرف رنگ آمیزی از طرفی که گسترشهای نازک قرار دارند بریزید. از ریختن رنگ بطور مستقیم روی گسترش ضخیم اجتناب کنید.
۵. بگذارید لامها برای رنگ آمیزی ۳۰ - ۴۵ دقیقه در رنگ باقی بماند تجربه ، زمان دقیق رنگ آمیزی لامها را معین خواهد کرد
۶. به آرامی روی لامها آب بریزید آب باید از قسمت جا رنگی که گسترشهای نازک قرار دارند وارد شود تا مزاحم گسترشهای ضخیم نشود.
۷. لامها را یکی یکی در رف طوریکه روی گسترش نازک به طرف پائین باشد برای خشک شدن بچینید ، مطمئن شوید لام گسترش ضخیم با لبه رف تماس پیدا نکرده است.

سایر توضیحات :

- این روش زمانی بهترین نتیجه را می دهد که لامها بمدت ۲۴ ساعت خشک شده باشند . این موضوع در تهیه لام بانک خون کاربرد دارد اما در ازمایش لام خون محیطی بیمار سرعت انجام ازمایش با حفظ کیفیت مهم است.
- برای رنگ آمیزی یک نمونه خون ۵ سانتیمتر مکعب آب مقطر خنثی یا آب بافر + ۵ الی ۱۰ قطره محلول گیمسا غلیظ مخلوط می نماییم و سپس به مدت ۳۰ دقیقه رنگ آمیزی می کنیم.
- با اندازه گیری مقدار آب لازم برای پرکردن یک ظرف رنگ آمیزی که ۲۰ لام خالی در آن قرار دارد، میزان کل رنگ لازم را محاسبه نمایید . مقدار کلی رنگی که مورد نیاز است از طریق ضرب کردن تعداد ظرفهای رنگ آمیزی که با لام پرشده اند در مقدار رنگی که برای هر ظرف لازمست محاسبه می شود.
- محلول ۳٪ رنگ گیمسا را با افزودن ۳ میلی لیتر از محلول استوک گیمسا به ۹۷ میلی لیتر آب بافری با pH معادل ۷/۲ تهیه می کنیم.
- رنگ آمیزی را برای ۶۰-۴۵ دقیقه ادامه دهید. بهترین مدت زمان برای رنگ آمیزی با تجربه بدست می آید.
- آب کشی با آب تمیز را به اتمام برسانید . pH آب بکار رفته در آبکشی اهمیت دارد برای اینکه اگر آب اسیدی باشد گسترش کم رنگ می شود در حالیکه آب قلیایی (pH ۷/۲) کیفیت رنگ آمیزی را حفظ می کند.
- هنگامیکه می خواهیم رنگ آمیزی در حجم بالا انجام دهیم ابتدا بعنوان نمونه تعداد کمی از نمونه ها را بطور آزمایشی رنگ آمیزی کنید تا شرایط ایده ال برای رنگ آمیزی مشخص شود . این کار برای گسترشهایی که از خون حاوی EDTA تهیه می شوند ضروری است چرا که EDTA روی pH اثرات نامطلوبی دارد. تقریباً ۱۰ گسترش ضخیم را با محلول تازۀ گیمسای ۳٪ رنگ کنید و بطور میکروسکوپی رنگ آمیزی را ارزیابی نمایید . در صورت لزوم pH آب بافری را برمبنای کیفیت بصری میکروسکوپی رنگ آمیزی تنظیم نمایید. در صورتیکه رنگ اولیه صورتی باشد آب بافری را باید بیشتر قلیایی کنیم؛ اگر خیلی آبی باشد باید بیشتر اسیدی شود.
- در طـــی رنگ آمیـــزی امکان دارد انگل ها بین گسترشهای خونی منتقل شوند . این پیشامد را می توان با افزودن مقادیر کمی دتر جنت به محلول رنگ کنترل کرد . انتقال انگل ممکنست اتفاق بیفتداما انتقال انگل بویژه در مراحل با سایز بزرگتر مانند گامتوسیت ها و شیزونت ها محتمل نیست. اگر ابزار و ظروف کثیف باشند یا بخوبی تمیز و خشک نشده باشند خطر باقی ماندن انگلهای شناور که می توانند به گسترشهای دیگر در طی رنگ آمیزی جدید بچسبند در حد بسیار کم وجود دارد.. تمام محلولهای رنگ آمیزی را در دهنده های مختلف تعویض کنید و ظروف رنگ آمیزی را تمیز نمایید.
- تمام استوانه های مدرج، پیپتها ، ظروف رنگ آمیزی و بشرها باید قبل از کار کاملاً تمیز و خشک شوند . رنگ آمیزی گسترش های خونی در ظروف کثیف به نتایج نامطلوب می انجامد . ظروف استفاده شده در رنگ آمیزی گیمسا را بلافاصله پس از مصرف با آب تمیز آبکشی نمایید تا رنگ به جا مانده شسته شود. همچنین قبل از شستشو ، آبکشی و خشک کردن نهایی آنها را در محلول حاوی دترجنت غوطه ور کنید. نکته: باقی ماندن هر گونه دترجنت روی ظروف پلاستیکی و شیشه ای pH را تغییر داده و کیفیت رنگ آمیزی را تغییر خواهد داد.

گسترش های ضخیم و نازک خون روی یک لام

این روش برای رنگ آ میزی سریع گسترش های ضخیم در یک آزمایشگاه شلوغ و پرکار مناسب است؛ به ویژه موقعی که نتایج به سرعت نیازباشد .اما در این روش رنگ بسیار زیادی مصرف می شود.

روش رنگ آمیزی لام های منفرد

- اجازه دهید لام های گسترش ضخیم کاملاً خشک شوند، ولی درصورتی که دستیابی سریع به نتایج ضروری باشد، میتوان گسترش های ضخیم را به کمک باد زن یا قراردادن درمعرض گرمای ملایم(مثل گرمای لامپ میکروسکوپ یا هوای گرم سشوار) خشک کرد .البته مراقب باشید تا از گرما دادن بیش از حد پرهیز شود، درغیر این صورت، گسترش ضخیم به وسیلهٔ گرما تثبیت خواهد شد.
- لام های گسترش نازک از طریق مرطوب کردن آرام آنها به کمک مالش یک پارچهٔ کتانی مرطوب شده با متانول یا غوطه ور کردن لام در یک ظرف حاوی متانول برای چند ثانیه تثبیت می شوند .به منظور هموگلوبینه شدن گسترش ضخیم نباید آن را تثبیت کرد، بنابراین باید از تماس متانول یا بخار آن با گسترش ضخیم خودداری نمود.
- یک محلول گیمسای 10 % را در بافری از آب مقطر یا غیریونیزه با ۷/۲pHتهیه کنید .اگر مقدار کمی از آن محلول نیاز باشد، 3 قطره از رنگ را به هر میلی لیتر آب بافر اضافه کنید تا غلظت مناسب محلول گیمسا به دست آ ید .هر لام حدود 3 میلی لیتر از محلول رنگی تهیه شده را نیاز دارد که معادل ۹قطره گیمسا در 3 میلی لیتر آب است.
- به آ رامی رنگ را روی لام بریزید .برای این کار میتوان از یک پیپت استفاده کرد، یا میتوان لام ها را رو به پایین در یک صفحهٔ مقعر رنگ آ میزی قرار داد و در زیر لام رنگ ریخت.
- رنگ تا 10 دقیقه روی لام باقی بماند.
- با افزودن قطره های آب تمیز، رنگ را به آ رامی از روی لام بشویید در هنگام شستن لام، هیچ گاه لام رنگ شده را کج نکنید؛ زیرا باعث چسبیدن مقداری از بقایای رنگ روی نمونه می شود
- به منظور چکیدن آب و خشک کردن لام ها، آنها را روی یک ریل و به سمت پایین قراردهید تا آب آن چکیده و خشک شوند .دقت کنید تا گسترش ها با ریل تماس نداشته باشند.

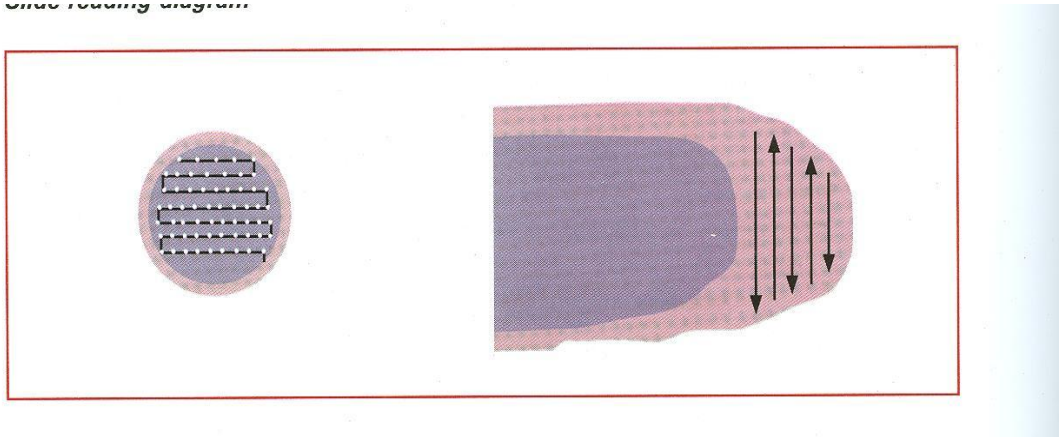
استاندارد شماره هشت: روش استاندارد خواندن لام

تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز:

- میکروسکوپ
- روغنی ایمرسیون
- لام خون محیطی

مراحل اجرای فرایند:

دیاگرام استاندارد خواندن لام



(۱)برای تعیین گسترشهای خونی مثبت و منفی و گونه های موجود: از قسمت بالای سمت چپ گسترش ضخیم آغاز کنید و سپس تا سمت راست را با دقت نگاه کنید مطمئن شوید که حداکثر فضای گسترش ضخیم را مشاهده کرده اید . برای ارزیابی و تأیید در بانک اسلاید می بایست تعداد فیلدهای بیشتری نسبت به حالت معمول (مثلاً ۵۰۰) مشاهده شود.

(۲) برای تعیین تعداد انگل : تکنیک فوق را انجام دهید و تعداد انگلها را به ازای حداقل ۵۰۰ عدد گلبول سفید بشمارید. تمام انگلهای موجود در فیلد آخر شمارش می شوند حتی اگر تعداد تعداد گلبول سفید شمارش شده از ۵۰۰ عدد تجاوز نموده باشد. (تعداد نهایی انگل ممکن است در مقابل یک تعداد ثابت از گلبول سفید شمرده شود، از آنجائیکه این روش، راه استاندارد متداول بکاررفته در آموزش و تستهای بالینی می باشد، اما همچنین باید در مقابل تعداد گلبول سفید شمرده شده هم گزارش شود.

استاندارد شماره نه : تهیه گسترش هاي ضخیم و نازک

تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز:

- لانست
- لام خون محیطی
- متانول% 70 یا الکل پد یا اتانول ٪۷۰
- پنبهٔ تمیز جاذب رطوبت
- پارچهٔ کتانی تمیز
- جعبهٔ لام با پوشش محافظ گسترش های خشک شدهٔ خون
- مداد نرم
- فرم ثبت یا بایگانی

مراحل اجرای فرایند:

- قبل از استفاده باید از تمیز بودن لام ها مطمئن بود و در صورت نیاز باید با دقت تمیز شوند.
- الگوی تهیه گسترش ضخیم (دایره) ۱/۲ سانتی متر می باشد و گنجایش ۶ میکرولیتر خون دارد.

۱. اطلاعات بیمار در فرم پذیرش ثبت شود.
۲. کف دست چپ بیمار را به طرف بالا نگه دارید و انگشت سوم را انتخاب کنید(برای نوزادان میتوانید از انگشت شست
۳. پا استفاده کنید .هرگز نباید از انگشت شست دست نوزادان و بزرگسالان استفاده شود.

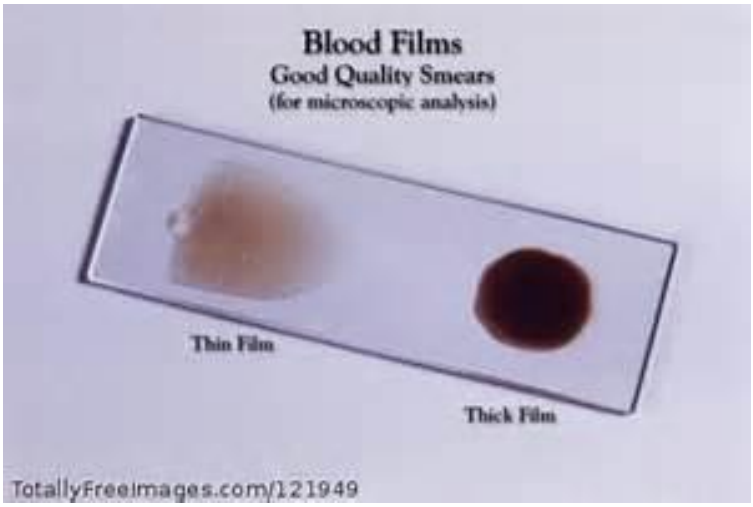
۴. نوک انگشت بیمار را با یک قطعه پنبهٔ آغشته به الکل تمیز کنید. پنبه را محکم روی انگشت بیمار بکشید تا جرم و چربی
۵. آن پاک شود.
۶. به وسیلهٔ لانست استریل و با یک حرکت سریع نوک انگشت را سوراخ کنید. با فشار ملایم و آرام به انگشت، اولین قطره خونی را که از آن خارج می شود، به کمک یک پنبهٔ خشک پاک کنید .مطمئن شوید رشته های پنبه روی ا نگشت با قی نماند تا با خون مخلوط شود.
۷. فوری عمل کنید و لام های تمیز را از لبه نگه دارید و مطابق روش زیر خون بگیرید:
۸. با فشار دادن ملایم انگشت، یک قطرهٔ کوچک و منفرد از خون به اندازهٔ ● در وسط قرار دهید .این قطره برای گسترش نازک به کار می رود.
۹. فشار بیشتری به انگشت وارد کنید تا خون بیشتری خارج شود.سپس 2 تا 3 قطرهٔ بزرگتر به اندازهٔ ● در فاصلهٔ یک سانتی متری از قطرهٔ خون منفرد روی لام قراردهید.
۱۰. بقایای خونی را که از انگشت خارج می شود، با یک تکه پنبه پاک کنید.
۱۱. فوری عمل کنید و لام های تمیز را از لبه نگه دارید و مطابق روش زیر خون بگیرید:

نحوهٔ تهیهٔ گسترش ضخیم:

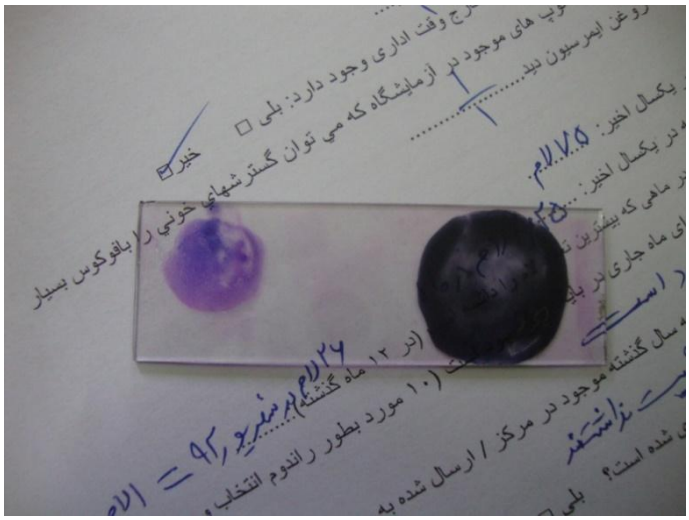
۱۲. لام را به وسیلهٔ لبه های آن یا یک گوشهٔ آن بردارید با گوشهٔ لام پخش کننده به سرعت قطره های خون را به هم متصل و سپس آنها را پخش کنید تا گسترش ضخیم یکنواختی به دست آ ید .خون نباید با شدت و زیاد هم زده شود، بلکه با 3تا 6 حرکت میتواند به شکل دایره یا مستطیل گسترش یابد.
۱۳. در عرض قسمت ضخیم تر گسترش نازک خشک، نام یا شمارهٔ بیمار و تاریخ تهیهٔ لام را با مداد نرم بنویسید . روی گسترش با خودکار ننویسید .لام را روی یک سطح صاف و دور از گرد و غبار، حشرات و گرمای شدید بگذارید تا خشک شود.
۱۴. گسترش را در فرم پذیرش و ثبت بیمار پیچیده و در اولین فرصت به آزمایشگاه منتقل کنید.
۱۵. اکنون لام استفاده شده برای پخش کردن خون را میتوان برای بیمار بعدی استفاده کرد و یک لام تمیز دیگر به عنوان پخش کننده استفاده خواهدشد.
۱۶. لام های شیشه ای نباید بیش از چند هفته در شرایط آب و هوایی گرم و مرطوب نگهداری شوند .در غیر این صورت، با جذب رطوبت به یکدیگر خواهند چسبید و شفافیت آنها به دلیل شبنم زدگی ازبین خواهدرفت.
۱۷. بهتر است لام ها بعد از تمیز شدن در یک مکان_خشک_یا یک کمد هوای_گرم نگهداری شوند. توصیه می شود لام های تمیز شده را در بسته های ده تایی در کاغذ نازک_بپیچید_و_یا_چسب_نواری_سلولزی_یا_پلاستیکی_ بچسبانید، طوری که برای استفاده آماده باشند .میتوان لام های بسته بندی شده را در جعبه های مقوایی مخصوص لام یا در جعبه های مناسب دیگر بگذارید و با قراردادن صفحه های مقوایی، پلی ا سترن یا پنبه ا ی بین آنها، برای پست کردن یا انتقال آنها اقدام کنید.
۱۸. خون را بطور یکنواخت تا لبهٔ دایره پخش کنید

نحوهٔ تهیهٔ گسترش نازک:

۱۹. برای تهیهٔ گسترش نازک از یک لام تمیز دیگر به عنوان پخش کننده استفاده کنید .لام حاوی خون را روی یک سطح صاف و سخت قراردهید. لام پخش کننده را با قطرهٔ کوچک خون تماس دهید تا خون در طول لبهٔ لام پخش شود .سپس لام پخش کننده را با
۲۰. زاویهٔ 45 درجه نگه دارید و محکم به سطح لام بکشید ا ز سمت مخالف قطرات مخصوص گسترش ضخیم (تا خون در سطح لام پخش شود) .مراقب باشید در حین تهیهٔ گسترش لبهٔ پخش کننده با سطح لام در تماس دائم باشد.



تصویر شماره ۴: نمونه ای از گسترش نازک و ضخیم خوب



تصویر .شماره ۵ نمونه ایی از گسترشهای نازک و ضخیم بد

تصویر شماره ۶ نمونه ایی از گسترشهای نازک و ضخیم بد

لام های زیر قابل قبول نیست:

الف)لام هایی که ظاهر شبنم زده یا زمینه رنگین کمانی دارند؛

ب) لام هایی که تمیز نیستند و اثر انگشت و یا چربی و.. روی انها دیده می شود.

ج) لام های که لبه های مضرس یا سطح خراشیده دارند

نحوه تمیز کردن لام های جدید

- لازم است با احتیاط همۀ لام های جدید را تمیز کنید حتی لام های تجاری که قبلاً تمیز شده است .(لام ها را در آب حاوی یک مادۀ پاک کننده
- مطمئن فروببرید و سپس به مدت چند ساعت در آب تمیز قرار دهید .آب را چند نوبت عوض کنید و زیر آب لوله کشی جاری قرار دهید.
- پس از آن، هر لام را با یک پارچۀ نخی به خوبی خشک و تمیز نمایید .همیشه لبه های لام های تمیز را بگیرید تا اثر انگشت یا چربی روی آنها ایجادنشود.

استاندارد شماره ده : روش استاندارد نگهداری تجهیزات و مواد مصرفی

استاندارد نمودن نگهدای مواد و تجهیزات در راستای استفاده بهینه امکانات

نگهداری لام:

لام های شیشه ای نباید بیش از چند هفته در شرایط آب و هوایی گرم و مرطوب نگهداری شوند .در غیر این صورت، با جذب رطوبت به یکدیگر خواهند چسبید و شفافیت آنها به دلیل شبنم زدگی ازبین خواهدرفت.

بهتر است لام ها بعد از تمیز شدن در یک مکان_خشک_یا یک کمد هوای_گرم نگهداری شوند. توصیه می شود لام های تمیز شده را در بسته های ده تایی در کاغذ نازک_بپیچید_و_یا_چسب_نواری_سلولزی_یا_پلاستیکی_بچسبانید، طوری که برای استفاده آماده باشند .میتوان لام های بسته بندی شده را در جعبه های مقوایی مخصوص لام یا در جعبه های مناسب دیگر بگذارید و با قراردادن صفحه های مقوایی، پلی ا ستر ن یا پنبه ا ی بین آنها، برای پست کردن یا انتقال آنها اقدام کنید.

نگهداری میکروسکوپ

هنگامی که از میکروسکوپ استفاده نمی شود باید آن را با یک پوشش پلاستیکی یا پارچه ا ی تمیز پوشاند.

تصویر .شماره ۷: نمونه هایی از کاور پلاستیکی میکروسکوپ

- هنگامي كه از ميكروسكوپ استفاده نمي كنيد، آن را با يك پوشش پلاستيكی يا پارچه ا ی تميز بپوشانيد.
- در هوای گرم و خشک برای حفاظت از میکروسکوپ در مقابل گرد و غبار مراقبت بیشتری به عمل آورید.
- .در هوای گرم و مرطوب، برای جلوگیری از رشد قارچ ها روی عدسی ها و منشورهای میکروسکوپ مراقبت بیشتری شود.
- عدسی های شیئی آلوده به روغن ایمرسیون را هر روز تمیزکنید.
- برای این کار، ابتدا یک پارچۀ نرم نمناک با گزیلل را به عدسی ها بکشید و سپس آنها را به کمک یک پارچۀ کتانی تمیز جلادهید.
- .عدسی های چشمی را با یک پارچۀ کتانی نرم یا دستمال لنز تمیزکنید.

- .پیچ محافظ میکروسکوپ را که در پایهٔ جعبهٔ آن تعبیه شده ا ست،کامل ببندید تا میکروسکوپ در هنگام حمل ونقل و جابه جایی آسیب نبیند.
- .شمارهٔ مدل و درصورت امکان، شمارهٔ قطعات و لوازم میکروسکوپ را یادداشت کنید تا در صورت نیاز به تعویض قطعات از آن استفاده کنید.
- برای تمیز کردن عدسی های چشمی از پارچه هایی استفاده نکنید که برای تمیز کردن عدسی های شیئی به کار رفته و به روغن آغشته شده ا ند.
- .برای تمیز کردن سطوح رنگ شدهٔ میکروسکوپ از الکل استفاده کنید.
- از بازوبستن یا تمیزکردن قسمت هایی از میکروسکوپ که دسترسی به آنها دشوار است خودداری کنید؛ مگر در این زمینه آموزش دیده باشید.
- قطعات عدسی را بدون پوشش نگذارید و با پوشش مناسب یا پلاسترهای چسبان بپوشانید.
- عدسی میکروسکوپ های کارخانجات مختلف را با یکدیگر تعویض نکنید؛ زیرا حتی برخی مدل های ساخته شدهٔ یک کارخانه نیز مشخصات متفاوتی دارند.

نگهداری رنگ گیمسا

هر سری محلول استوک تهیه شدهٔ جدید باید برچسب مناسب داشته باشد و زمان تهیهٔ محلول روی آن نوشته شود .ظرف استوک همیشه باید در جای خنک و دور از نور مستقیم خورشید در بطری هایی نگهداری شود که در آن محکم بسته شده ا ست.در صورتی که بطری استوک شیشه ا ی شفاف باشد، بهتر است آن را با یک کاغذ تیرهٔ ضخیم پوشاند تا از نور محافظت شود.

تصویر ... : رنگ غلیظ گیمسا با تاریخ تهیه و انقضاء در شیشهٔ تیره(آزمایشگاه مرکزی مالاریا، رودان ۱۳۹۳)

دستورالعمل شماره یازده: نگهداري لامهای ازمایش شده/ ارسال لام جهت کنترل کیفیت

نگهداری لام های ازمایش شده به روش استاندارد که امکان دسترسی به انها را در صورت نیاز فراهم نماید و در برابر گرمای زیاد یا رطوبت محافظت شود حایز اهمیت است.

تجهیزات و مواد مصرفی مورد نیاز:

- کاغذ بسته بندی
- خودکار
- کاغذ مناسب برای جذب روعن ایمرسیون

مراحل اجرای فرایند:

- روغن ایمرسیون لامها با استفاده از کاغذ مناسب گرفته شود
- سپس اسلاید ها در کاغذهای استاندارد بسته بندی شود . لامها با کاغذ از هم جدا شده باشند.
- بروی بسته بندی تعداد گوت و تاریخ ازمایش انها و نام آزمایشگاه، نتیجهٔ آزمایش و نام آزمایش کننده درج شود.

نحوۀ بسته بندی لامهای آزمایش شده و ارسال لام جهت کنترل کیفیت :

- لامها ی تعقیب جداگانه بسته بندی شوند صرف نظر از اینکه نتیجه ان مثبت و یا منفی باشند . توضیه می شود لامهای تعقیب هر بیمار ترجیحا جداگانه بشته بندی شود. ارسال این لامها جهت کنترل کیفیت نیز می بایستی در بسته های جداگانه انجام شود. سایر لامها در دو گروه مجزا بر حسب نتیجه ازمایش (لامهای مثبت و منفی) تقسیم شوند.
- نگهداری لامهای منفی باقی مانده تا ۲ سال و لامهای مثبت تا ده سال در آزمایشگاه مربوطه الزامی است.
- مشخصات استاندارد بر روی بستهای لامهای ارسالی برای کنترل کیفیت در شکل زیر آورده شده است.
- کلیۀ لامهای مثبت، ده درصد لامهای منفی (غیر تعقیب موارد)، کلیۀ لامهای تعقیب موارد مثبت و کلیۀ لامهای تعقیب موارد منفی می بایستی در بسته های جداگانه از آزمایشگاه جهت کنترل کیفیت به سطح بالاتر ارسال شوند. در ابتدای هر سال از سطح شهرستان کد لامها ی منفی قابل ارسال به هریک از آزمایشگاهها ابلاغ خواهد شد.
- از سطح شهرستان نیز کلیۀ لامهای مثیت، ده درصد لامهای منفی کنترل شده و ده درصد لامهای تعقیب موارد کنترل شده و کلیۀ موارد اشتباه در تشخیص اولیه به آزمایشگاه استان ارسال خواهد شد.
- فرم ارسال لام جهت کنترل کیفیت و پس خوراند مربوطه ضمیمۀ این مجموعه می باشد.

نام آزمایشگاه:

نام مرکز بهداشتی درمانی:

نام شهرستان:

نوع لام:

تعداد لام:

تاریخ ارسال:

نام و نام خانوادگی میکروسکوپیست:

تصویر شماره 8 : مشخصات استاندارد بر روی بسته های لامهای ارسالی برای کنترل کیفیت

استاندارد شماره دوازده : شمارش انگلی

تجهیزات مورد نیاز

- لام خون محیطی
- کانتر دستی ۲ عدد

مراحل اجرای فرایند:

این روش بر اساس شمارش تعداد انگل ها در هر میکرولیتر خون در یک گسترش ضخیم پایه گذاری شده ا ست .این انگل ها در ارتباط با تعداد گلبول های سفید ازپیش تعیین شده شمارش می شوند.

به طور متوسط تعداد 8000 گلبول سفید در هر میکرولیتر به عنوان استاندارد درنظر گرفته شده است .با وجود تفاوت تعداد گلبول سفید بین اشخاص سالم و تغییر تعداد آنها در افراد بیمار این استاندارد امکان مقایسه را فراهم می کند .قبل از شروع شمارش مقدار ۰.۲۵میکرولیتر خون(حدود 100 فیلد میکروسکوپ با عدسی چشمی با بزرگنمایی 7 و عدسی شیئی با بزرگنمایی 100 با روغن ایمرسیون) را در گسترش ضخیم آزمایشی بررسی کنید تا گونه های انگل و مراحل انگلی موجود تعیین شود .سپس، روش مناسب شمارش انگل در لام های مثبت را براساس اصول زیر انجام دهید:

۱. دو شمارندۀ مشابه برای شمارش جداگانۀ تعداد انگل و گلبول های سفید نیاز است.
۲. اگر پس از شمارش 200 گلبول سفید، 10 عدد یا بیشتر انگل وجود داشته باشد، نتایج در فرم ثبت مشخصات یادداشت

می شود که بیان کنندۀ تعداد انگل در هر 200 گلبول سفید است

۳. اگر شمارندۀ انگل پس از شمارش 200 گلبول سفید، 9 انگل یا تعداد کمتر را نشان دهد، شمارش گلبول سفید را تا 500عدد ادامه دهید .تعداد انگل های شمارش شده در هر 500 گلبول را ثبت نمایید
۴. برای محاسبه تعداد انگل در هر میکرولیتر اگر 200 گلبول سفید را شمرده ا ید، تعداد انگل ها را ضرب در 40 و اگر 500گلبول سفید را شمرده ا ید، تعداد انگل ها را ضرب در 16 کنید تا تعداد انگل ها در هرمیکرولیتر خون به دست آید.
۵. .این روش برای شمارش تمام گونه های انگل و فرم های جنسی و غیرجنسی معمول است .البته گاهی گامتوسیت های پلاسمودیوم فالسیپاروم مجزا شمرده می شوند .در این صورت، باید تعداد ان نیز به سایر اشکال انگلی اضافه شود.

استاندارد شماره سیزده: ثبت داده ها و گزارش دهی

دفاتر مورد استفاده در آزمایشگاه مالاریا عبارتند از:

- دفتر کارکرد میکروسکوپیست جهت ثبت تعداد لامهای دریافتی ازخانه های بهداشت و تیم های سیار، تعداد لامهای تهیه شده بشکل پاسیو، تعداد لامهای آزمایش شده و نتیجهٔ لامهای آزمایش شده در هر روز . هر صفحه از این دفتر جهت ثبت فعالیتها در یک ماه و هر ردیف به یک روز اختصاص دارد
- دفتر پاسیو جهت ثبت موارد تبدار مراجعه کننده به آزمایشگاه مالاریا. مشخصات بیماران و نتیجهٔ آزمایشات در این دفتر ثبت می گردد. هر ردیف از این دفتر به یک بیمار اختصاص دارد.
- دفتر اکتیو جهت ثبت لامهای رسیده از تیم های سیار و خانه های بهداشت و نتایج ازمایش آنها
- دفتر اقلام دارویی جهت ثبت دریافت و مصرف و تاریخ مصرف داروها و RDT . هر صفحه از این دفتر به یک دارو و هر ردیف به یک مورد دریافت یا پرداخت اختصاص دارد(اگر مرکز درمان کننده مالاریاست).
- دفتر اقلام مصرفی جهت ثبت دریافت و مصرف و تاریخ مصرف اقلام مصرفی آزمایشگاه. هر صفحه از این دفتر به یک مادهٔ مصرفی و هر ردیف به یک مورد دریافت یا پرداخت اختصاص دارد.

فرمهای گزارش دهی مورد استفاده در آزمایشگاه مالاریا عبارتند از:

- فرم گزارش دهی آمار ماهیانه عم

کرد آزمایشگاه که در پایان هر ماه در دو نسخه تهیه و یک نسخه به آزمایشگاه سطح بالاتر ارسال و یک نسخه در آزمایشگاه بایگانی می شود.

- فرم گزارش دهی مشخصات موارد مثبت که در دو نسخه تهیه و یک نسخه به آزمایشگاه سطح بالاتر ارسال و یک نسخه در آزمایشگاه بایگانی می شود.

- فرم شمارش انگل برای هریک از موارد مثبت تشخیص داده شده در آزمایشگاه که در دو نسخه تهیه و یک نسخه به آزمایشگاه سطح بالاتر ارسال و یک نسخه در آزمایشگاه بایگانی می شود.

- فرم ارسال لام جهت کراس چک که در پایان هر ماه بهمراه لامهای تعیین شده برای کراس چک در دو نسخه تهیه و یک نسخه به آزمایشگاه سطح بالاتر ارسال و یک نسخه در آزمایشگاه بایگانی می شود.

- فرم بیماریابی اکتیو برای هر یک از موارد مثبت اکتیو نسخهٔ آزمایشگاه که در آزمایشگاه بایگانی می شود.

توجه:

ثبت مشخصات تمامی بیمارانی که ازمایش مالاریا برای انان انجام می شود ضروری است. به نحوی که امکان پیگیری و شناسایی انان وجود داشته باشد. از جمله نام و نام خانوادگیف نام پدر، ادرس، تاریخ مراجعه، تاریخ ازمایش، نتیجه، تلفن و....

ثبت و گزارش دهی فروی موارد مثبت الزامی است. تمامی موارد مثبت باید در کمتر از 24 ساعت به مرکز بهداشت شهرستان گزارش شوند.

نمونه ای از کلیهٔ فرمها و دفاتر مورد استفاده در آزمایشگاه مالاریا در ادامه آورده شده است.

دستورالعمل شماره یک: نگهداری و استفاده از یخچال

از یخچال برای نگهداری نمونه ها ومحلول های مختلف در برودت ۲-۸ درجه سانتی گراد استفاده می گردد. معمولا بر روی نمونه ها ومحلول ها در اثر رشد میکروب ها واکنش های شیمیایی صورت می پذیرد که سرد کردن وانجماد، این واکنش را به تاخیر می اندازد.

- یخچال باید در سطح کاملا افقی و در سردترین قسمت ساختمان به دور از گرما وآفتاب قرار گردد و طوری در کنار وسایل اطراف باشد که فضای کافی در پشت و دو طرف وجود داشته تا هوا کاملا از پشت واطراف آن جریان پیدا کند.
- درب یخچال باید پس از هربار استفاده کاملا بسته و دمای آن تقریبا ۴درجه سانتی گراد و بین ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد باشد. لازم به ذکر است دمای قابل قبول برای فراورده های خونی ۱ تا ۶ درجه سانتی گراد است.
- در صورت وجود آب در کف یخچال باید روزانه تمیز شود(با محلول بیکربنات سدیم رقیق).
- در صورت آلودگی با مایعات بیولوژیک با محلول سفید کننده ۱۰٪ باید ضدعفونی وتمیز شود.
- یخچال از بیرون نیز تمیزشود.

- یخچال تمیز شده و برفک ان ذوب شود. درصورتی که ضخامت یخ قبل از پایان ماه به ۶ الی ۱۰ میلی متر برسد باید ذوب گردد.

توجه: برای جدا کردن یخ از یخچال نباید از اجسام تیز استفاده نمود وباید اجازه داد یخ به خودی خود ذوب گردد . پس از پایان کار مدت زمان بازیابی یخچال حداقل ۲ ساعت می باشد که پس ازگذشت این مدت زمان می توان مواد را داخل یخچال برگرداند.

- توصیه می شود تمامی عملیات نگهداری ، تعمیرات، ضد عفونی، آب کردن برفک با ذکر تاریخ برای تمامی یخچال ها ثبت گردد.
- لاستیک دور درب یخچال کنترل شود.
- تمامی ظروف و موادی که در یخچال ها نگهداری می شوند باید به صورت واضح وروشن با نام علمی واطلاعات مربوط به محتویات، تاریخ نگهداری و نام کسی که انها را انبار کرده برچسب بخورند. مواد برچسب نخورده و مواد غیر قابل استفاده باید اتوکلاو شده و دور انداخته شوند.
- باید صحت عملکرد دماسنج یخچال در مقابل دماسنج کالیبره، تصدیق گردد.
- با توجه به اهمیت یکنواختی دما در قسمت های مختلف یخچال باید حتما به این نکته توجه نمود که دما در طبقات مختلف وحتی فضای تعبیه شده در درب یخچال در محدوده ی قابل قبول باشد . دما در هر روز و در دو نوبت اندازه گیری و بر روی منحنی کنترل دما وارد می گردد . در صورتی دمای یخچال از محدوده مجاز خارج گردد و کاربر نتواند با تنظیمات در دسترس آن را اصلاح نماید، باید با تعمیرکار مجاز سرویس تماس گرفته شود.
- استفاده از تنظیمات نوسانات برق توصیه می گردد. لازم به ذکر است که در صورت قطع برق یا خرابی یخچال، به مدت دوساعت دمای یخچال حفظ می شود و در صورت عدم استفاده از برق اضطراری، مسئولان آزمایشگاه باید تمهیدات لازم را در صورت افزایش زمان قطع برق به کار گیرند.
- ترکیبات قابل اشتعال نباید در یخچال نگهداری شوند
- در هنگام نظافت باید اصول ایمنی و حفاظت شخصی را رعایت نمود.
- تمام وسایل شکسته شده در یخچال باید فورا از داخل ان خارج گردیده و درصورت لزوم یخچال شستشو و ضد عفونی گردد.
- یخچال ها (به ویژه یخچال های بانک خون) باید در محلی قرار گیرند که فاقد نوسان ولرزش در موقع کار باشند.

دستور العمل شماره دو : نگهداری و استفاده از لوازم شیشه ای

- اکثر لوازم شیشه ای آزمایشگاه دارای مقاومت حرارتی، فیزیکی و شیمیایی بالایی بوده و در مقابل خوردگی نیز مقاوم است.
- باید دقت نمود مواد قلیایی در آنها نگهداری نگردد زیرا قلیا، شیشه را حل نموده و علامت کالیبراسیون را از بین خواهد برد.
- باید بلافاصله بعد از استفلده از وسایل شیشه ای، آنها را با آب لوله کشی معمولی به طور کامل شستشو داد.
- باید همیشه در ابتدا وسایل الوده را قبل از شستشو، ضد عفونی نمود.
- وسایل شیشه ای نو که برای اولین بار مورد استفاده قرار می گیرند، باید با شوینده ها شستشو داده شده و سپس با آب لوله کشی و در انتها با آب مقطر آب کشی شود.

موقع استفاده شوینده ها مانند مایع ظرفشویی جهت شستشوی وسایل شیشه ای باید به نکات زیر توجه کرد:

- تمام وسایل شیشه ای به طور کامل در آب سرد لوله کشی قرار داده شود.
- سپس وسایل فوق در محل شوینده قرار داده شده وکاملا به آنها برس کشیده شود.
- سپس وسایل با اب لوله کشی، سه مرتبه با آب مقطر آب کشی گردد (در هر سری از آبکشی از آب مقطر تازه استفاده شود).
- به منظور گرفته شدن آب اضافی وسایل در صورت امکان آنها در فور خشک گردند.
- وسایل شیشه ای را به طور وارونه داخل سبد های فلزی گذاشته و ته سبد ه ا چندین لایه کاغذ خشک کن ضخیم گذاشته شود.

روش شستشوی پی پت

- پی پت را به مدت یک شب درمحلول تمیز کننده مناسب مانند مایع رقیق شده ظرفشویی یا محلول های تجاری مناسب قرار داده وسپس آنها را کاملا با آب لوله کشی شستشو و در مرحله بعد با آب مقطر آب کشی می شوند.
- قسمت بیرونی پی پت ها را با پارچه تمیز خشک نمایید.
- جهت جلوگیری از شکسته شدن پی پت ها، آنها را در ظروف مخصوصی که با اندازه های مختلف (جهت پی پت هایی با حجم های مختلف) وجود دارد، قرار دهید.
- فورا بعد از استفاده از پی پت ها، باید آنها را با آب لوله کشی آب کشی نمایید.
- پی پت هایی که جهت تهیه رنگ مورد استفاده قرار می گیرند، باید بلافاصله با اسید کلرید ریک شسته شوند.
- در صورت کشیدن مواد آلوده با این وسایل، باید آنها را بلافاصله در یک محلول ضد عفونی قرار داد.
- جهت ضد عفونی می توان از هیپو کلریت سدیم به میزان پنج گرم در لی تر و یا ۰/۵ گرم درصد و یا هرگونه محلول سفید کننده خانگی که به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شده باشد استفاده نمود.

کنترل کیفیت ونحوه نظافت لوازم شیشه ای

- هر هفته تمامی لوازم شیشه ای باید از لحاظ تمییز بودن بررسی گردند . وجود لکه نشان دهنده شستشوی غیر قابل قبول است.
- آب مقطر به درون سطح ظروف چرخانده شود. آب باید به صورت قشری یکپارچه از روی سطح ظروف عبور کند. در صورتی که آب به صورت قطرات بر روی سطح شیشه باقی بماند نشانه کثیف بودن آنها است.

تصویر.شماره ۹. : نمونه هایی از رعایت نظم و نظافت در آزمایشگاه مالاریا

دستورالعمل شماره سه : کار با مواد شیمیایی ازمایشگاهی

نکات مهم در مورد گزیلول

گزیلول مایع بدون رنگ با بوی آروماتیک و غیرمحلول در آب و قابل اشتعال است . این ماده ممکن است حاوی اتیل بنزن به عنوان یک ناخالصی باشد که سرطانزا است.

گزیلول بر روی دستگاه عصبی مرکزی تاثیر گذاشته و باعث سردرد، سرگیجه، ضعف و تهوع می شود.

گزیلول مایع و همچنین بخار آن موجب تحریک چشم ها، پوست، مخاط و مجاری تنفسی می گردد . تماس طولانی آن با پوست سبب از بین رفتن بافت چربی زیرجلدی می گردد.

از دیگر عوارض آن اختلال غیر اختصاصی عصبی و افزایش اخ تلال در دستگاه شنوایی به دنبال سرو صداست .در مطالعات حیوانی اثر سمی آن بر روی قدرت تولید مثل نشان داده شده است.

درهنگام کار با گزیلول باید کارکنان مجهز به محافظ چشمی ودستکش مناسب باشند.

برقراری تهویه مناسب ازنکات بسیار مهم در فضایی است که در آن با این ماده کار می شود.

نکات مهم در مورد اتانول

اتانول ماده ی سرکوب کننده ی دستگاه اعصاب مرکزی است که سبب مهار فعالیت نورون ها می گردد.

با توجه به درجه اشتعال بالای اتانول، در صورت گرم شدن محیط یا ایجاد جرقه خطر شعله وری اتانول وجود دارد؛ لذا مسئول آزمایشگاه باید در محل نگه داری اتانول و هم چنین هنگام کار با اتانول تمهیدات لازم در خصوص پیشگیری از این خطرات بکار گیرد.

علایم مسمومیت با اتانول عبارتند از لکنت زبان، نیستاگموس، رفتار غیرعادی، کاهش هوشیاری و کما.

کاهش فشار و افزایش ضربان قلب ناشی از مصرف اتانول نسبتا شایع است.

نکات مهم در مورد متانول

متانول که به عنوان متیل الکل ویا الکل چوب نیز شناخته می شود، از مواد مسموم کننده ی خطرناک به حساب می آید.

مسمومیت با متانل از تولید دو متابولیت سمی آن یعنی فرمالدئید و اسید فورمیک ناشی می شود . اکثرموارد مسمومیت با این ماده ناشی از بلع آن است اما مواردی از جذب متانول از دستگاه تنفس یا پوست نیز مشاهده شده است . بیشترین غلظت این ماده پس از مصرف در کلیه کبد ودستگاه گوارش است ولی سطح بالایی از متانول در عصب اپتیک و مایع زجاجیه نیز گزارش شده است . فرمالدئید با اثر برروی شبکیه و ادم آن در موارد شدید ، سبب نابینایی خواهد شد . مرگ ومیر پس از مصرف ۱۵ میلی لیتر از محلول ۴۰٪ گزارش شده است.

علایم بالینی مسمومیت متانول ممکن است تا ۱۲ ساعت پس از مصرف ظاهر نشود چرا که برای متابولیزه شدن این ماده به متابولیت های سمی آن در کبد، زمان مناسب لازم است . علایم اصلی مسمومیت بامتانول عبارت است از : کاهش سطح هوشیاری، اختلالات بینایی، دردشکمی، تهوع واستفراغ است.

نکته : آزمایشگاههای مالاریا که در داخل آزمایشگاههای تشخیص طبی مستقر هستند ملزم به رعایت استانداردهای آزمایشگاههای تشخیص طبی خواهند بود.خواهند بود

دستورالعمل شماره چهار :ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی

در این روش واحد های نظارتی شهرستان / دانشگاه بر ازمایشگاهای اجرایی محیطی بر آزمایشگاههای مالاریای تحت پوشش نظارت می کنند. در اجرای این روش می توان از میکروسکوپیست های با رتبه صلاحیت بالاتر استفاده نمود

ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهای موارد زیر را پوشش می دهد:

۱. فضای آزمایشگاه
۲. استاندارد دارو و درمان
۳. استاندارد گزارش دهی
۴. استاندارد کیفیت مواد و تجهیزات ازمایشگاهی
۵. استاندارد نمونه گیری
۶. استاندارد رنگ امیزی
۷. استادارد آزمایش نمونه ها (صحت و دقت آزمایشات)
۸. استاندارد ارسال نمونه
۹. فرایند های اجرایی
۱۰. گزارش دهی
۱۱. حفظ سوابق و مدارک
۱۲. ارزیابی صلاحیت نیروی انسانی
۱۳. اقدامات اصلاحی

ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی به دو روش قابل انجام است . بازدید فیلد و ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده به منظور تعیین صحت و دقت ازمایش.

بازدید فیلد:

بازدید فیلد تمام موارد فوق را پوشش می دهد. مبنای انجام ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهیاستانداردهای کشوری ازمایشگاههای مالاریاست که در این سند امده است . کنترل کیفیت داخلی از طریق بازدید فیلد با استفاده از چک لیست ارزشیابی آزمایشگاه مالاریا که در این دستورالعمل آورده شده است انجام می شود . آزمایشگاههای مالاریا می بایستی حداقل هر ۶ ماه یکبار توسط سطح بالاتر بوسیلهٔ چک لیست ارزشیابی آزمایشگاههای مالاریا ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهیشوند. در مراحل ابتدایی تثبیت نظام تضمین کیفیت، بازدیدهای بیشتری ممکن است مورد نیاز باشد . در صورت مشاهدهٔ مشکل هنگام بررسی متقابل بیرونی لامهای خونی ارسال شده به سطح میانی، ممکن است بازدیدهای اختصاصی و خارج از نوبت نیز مورد نیاز باشد . باید زمان کافی به بازدیدها اختصاص داده شود، بطوریکه تمام جنبه های مرتبط با میکروسکوپی مالاریا، منجمله تهیه، رنگ آمیزی و تشخیص لامها، کافی بودن و ایمن بودن آزمایشگاهها، حجم کار کارکنان آزمایشگاه و کافی بودن تجهیزات و منابع در بازدید گنجانده شود . کارکنان شاغل در آزمایشگاه مورد بازدید، بهتر است از قبل نسبت به انجام بازدید واقف باشند. اما، بازدیدهای از پیش اعلام نشده نیز می تواند انجام گیرد . میکروسکوپیستها باید فرصت داشته باشند که در مورد نتایج بررسی متقابل و بازخوراند ارسال شده از سوی ناظران بحث کنند . گزارش ناظران باید در زودترین زمان برای میکروسکوپیستها ارسال شود (یعنی حداکثر در مدت ۱۴ روز).

حداقل نیازهای مهارت های میکروسکوپیست های ارشدی که مسئول انجام ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی هستند (علاوه بر صلاحیت مورد نیاز میکروسکوپیست های محیطی)

- **اشراف علمی بر :**
- عواقب کیفیت پایین خدمات آزمایشگاهی مالاریا
- اصول و قواعد تضمین کیفیت مالاریا
- منابع خطا در میکروسکوپی مالاریا
- عناصر ضروری کنترل کیفیت داخلی
- اصول و نحوهٔ انجام بازدید های نظارتی
- نحوه انتخاب و ارسال لام جهت " ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده"
- روش انجام آزمایش مجدد لامهای خونی مالاریا
- بهبود کیفیت (اقدامات اصلاحی) میکروسکوپی مالاریا

نتایج مورد انتظار

اگر چه ارزشیابی های در محل (یا به اصطلاح پای کار، on-site) زمان و هزینهٔ زیادی را صرف می کنند، ولی برای عملیاتی شدن تمام برنامه های تضمین کیفیت بسیار ضروری هستند، زیرا ناظران را قادر می سازند که:

- از طریق انجام بررسی متقابل صحت تشخیصی لامهای تهیه شده طی فعالیتهای جاری را بازبینی نمایند
- رویه های غلط را در محل اصلاح کنند.
- از طریق انجام بررسی متقابل مستقل لامها، شرایط کاری را با عملکرد کارکنان مرتبط نمایند .
- روند کنترل کیفیت داخلی و رویه های تدارکاتی برای حفظ تجهیزات و منابع را ارزیابی نمایند.
- اطمینان یابند که روشهای اجرایی استاندارد ، راهنماها و سایر مطالب مرجع در دسترس هستند.
- در مورد مشکلات موجود با میکروسکوپیستها و مدیریت آزمایشگاه بحث نموده، بهبودهای لازم را در محل انجام دهند.
- در مورد ضرورت آموزش اولیه و یا بازآموزی تصمیم گیری نمایند
- ارتباط خود با کارکنان آزمایشگاه را تقویت نمایند
- از انجام بازآموزی در موارد نیاز و با توجه به عملکرد کارکنان در گذشته اطمینان حاصل نمایند.

چک لیست ارزشیابی باید در محل تکمیل شده و قبل از اینکه ناظر مرکز (کلینیک) را ترک کند در مورد نتایج بازدید با میکروسکوپیست بحث شود . نتایج بازدید و نیاز به اقدامات اصلاحی یا منابع تکمیلی باید به مسئول آزمایش گاه بازدید شونده گزارش گردد.

یک نسخه از نتیجه ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی به ازمایشگاه مربوطه و یک نسخه نیز جهت پیگیری به مدیریت امور ازمایشگاهها تحویل داده می شود.

چک لیست ارزیابی و ارزشیابی آزمایشگاه مالاریا

توجه :

این چک لیست بمنظور خود ارزیابی، ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی و ارزشیابی بیرونی استفاده می شود.

چک لیست شماره 1:اطلاعات عمومی آزمایشگاه

- نام آزمایشگاه : ..... کد آزمایشگاه: ..... شهرستان : ..... دانشگاه علوم پزشکی: .....
- نوع آزمایشگاه: مرکز ب د شهری □ مرکز ب د روستایی □ میز پاسیو □ بیمارستان □ سایر □ .....
- تاریخ بازدید: ..... تلفن تماس آزمایشگاه: .....

اعضاء گروه بازدید کننده

نام و نام خانوادگی	تلفن تماس	امضا

- **نام و نام خانوادگی مسؤل آزمایشگاه**: ..... عنوان اخرین مدرک .....
  تحصیلات: زیر دیپلم □ دیپلم □ فوق دیپلم □ بالاتر □ سابقهٔ کار(به سال): .....
  زمان آخرین بازآموزی میکروسکوپیستی مالاریا: ..... **رتبه صلاحیت.....**
- **نام و نام خانوادگی میکروسکوپیست ۱** : ..... عنوان اخرین مدرک .....
  تحصیلات: زیر دیپلم □ دیپلم □ فوق دیپلم □ بالاتر □ سابقهٔ کار(به سال): .....
  زمان آخرین بازآموزی میکروسکوپیستی مالاریا: ..... **رتبه صلاحیت.....**
- **نام و نام خانوادگی میکروسکوپیست ۲** : ..... عنوان اخرین مدرک .....
  تحصیلات: زیر دیپلم □ دیپلم □ فوق دیپلم □ بالاتر □ سابقهٔ کار(به سال): .....

زمان آخرین بازآموزی میکروسکوپیستی مالاریا: ..... **رتبه صلاحیت.....**

نام و نام خانوادگی میکروسکوپیست ۳ : ..... عنوان اخرین مدرک .....

تحصیلات: زیر دیپلم □ دیپلم □ فوق دیپلم □ بالاتر □ سابقهٔ کار(به سال): .....

زمان آخرین بازآموزی میکروسکوپیستی مالاریا: ..... **رتبه صلاحیت.....**

چک لیست شماره 2: فضای فیزیکی آزمایشگاه

۱ - نوع بنای آزمایشگاه: بلوکی/آجری □ کانکس □ کپر □ چادر □

۲ - پوشش سطوح داخلی آزمایشگاه (در صورت بنای بلوکی/آجری):

تماماً کاشی/سرامیک □ فقط دیوارها سرامیک و کاشی□ فقط کف کاشی/سرامیک□ هیچکدام □

۳ - مساحت مفید آزمایشگاه (شامل اتاق کار، نمونه گیری، رنگ آمیزی و انبار) به متر مربع: .....

۴ - منبع نور: شبکهٔ سراسری برق□ ژنراتور ثابت□ ژنراتور سیار□ سایر□ .....

۵ - دسترسی به نور طبیعی پیرامونی: بلی□ خیر□

۶ - نور آزمایشگاه کافی و یکنواخت است؟ : بلی□ خیر□

۷ - سیستم گرمایشی: بلی□ نام برده شود..... خیر□ نیاز نیست □

۸ - سیستم سرمایشی: بلی□ نام برده شود..... خیر□ نیاز نیست □

۹ - دسترسی به آب آشامیدنی: شبکهٔ لوله کشی شهری □ منبع ذخیره آب□ رودخانه / چشمه□

۱۰ -جنس رویهٔ میز کار میکروسکوپیست: سنگ□ شیشه□ چوب□ فلز□ سایر□ .....

۱۱ -صندلی گردان مخصوص کار میکروسکوپیست : تعداد میکروسکوپیست: .....تعداد صندلی گردان .....

۱۲ -میزهای کار میکروسکوپیست ها مناسب است؟ : بلی□ خیر□

۱۳ - فضای انبارسازی تجهیزات و مواد: بلی□ خیر□

چک لیست شماره 3 : ملزومات مصرفی موجود در آزمایشگاه

ردیف	مواد	تعداد/مقدار	توضیحات
۱	**دستکش، برای معاینه،لاتکس، یکبار مصرف،متوسط**		
۲	**گزیلول**		
۳	**پنبه هیدروفیل**		
۴	**لانست، یکبارمصرف،استریل،نوع استاندارد**		
۵	**محفظه اشیای تیز،سرسوزن، سرنگ، 15l، جعبه مقوایی برای سوزاندن**		
۶	**سرنگ ، یکبارمصرف، luer ،۵ میلی لیتر**		
۷	**لام ،۷۶میلیمتر×۲۶میلی متر، با ضخامت۱ میلی متر تا ۱.۲ میلی متر**		
۸	**کاغذ فیلتر ، مناسب برای جمع اوری نمونه جهت PCR**		
۹	**لنز پاک کن ، کاغذی**		
۱۰	**پی پت، انتقال (پاستور)، مدرج، پلاستیکی، غیر استریل**		
۱۱	**دترجنت / انواع شوینده**		

۱۲	آب مقطر خنثی (PH 7.2)		
۱۳	محلول ۱۰٪ IODINE POVIDONE یا بتادین		
۱۴	روغن ایمرسیون		
۱۵	اتانول		
۱۶	متانول		
۱۷	قرص بافر، pH ۷.۲، برای یک لیتر آب		
۱۸	نوا PH متر		
۱۹	رنگ گیمسا		
۲۰	صابون (ترجیحا مایع)		
۲۱	مواد ضد عفونی سطح و کف ازمایشگاه		
۲۲	ایا کیفیت لامهای میکروسکوپی استفاده نشده استاندارد است؟		بلی..... خیر..... اگر خیر توضیح دهید.....
۲۳	آیا محل نگهداری محلولهای رنگ آمیزی استوک استاندارد (دور در تاریکی و منبع حرارت) است ؟		بلی..... خیر..... اگر خیر توضیح دهید.....
۲۴	آیا محلولهای رنگ دارای تاریخ مصرف هستند؟		بلی..... خیر..... اگر خیر توضیح دهید.....
۲۵	آیا کیفیت لانست ها استاندارد و قابل قبول است؟		بلی..... خیر..... اگر خیر توضیح دهید.....

چک لیست شماره 4 : ملزومات غیرمصرفی موجود در آزمایشگاه

ردیف	موارد	تعداد/بسته	توضیحات
۱	سینک پرتابل رنگ آمیزی		
۲	تایمر زنگ دار سالم		
۳	رک پلاستیکی برای خشک کردن اسلایدها، عمودی		
۴	بطری، شیشه ای یا پلاستیکی، قهوه ای، در پیچ دار، ۱ لیتری برای نگهداری رنگ		
۵	جعبه لام ۵ عددی		
۶	جعبه لام، برای ۱۰۰ لام		
۷	بشر، مدرج، شیشه ای، ۱۰۰ میلی لیتری		

۸	بشر، شیشه ای، پیرکس ۵۰۰ میلی لیتری		
۹	قیف شیشه ای یا پلاستیکی		
۱۰	نوار pH متر		
۱۱	فیلتر آبی شیشه ای یدکی		
۱۲	لامپ میکروسکپ(هالوژن) یدکی		
۱۳	فرم ثبت شمارش انگل		
۱۴	ماشین حساب متوسط		
۱۵	سشوار		
۱۶	سینی رنگ امیزی		
۱۷	پوستر رنگی انگلها ی مالاریا (اطلس)		
۱۸	دفتر پاسیو (در صورت ضرورت)		
۱۹	دفتر لامهای رسیده (دفتر اکتیو)		
۲۰	دفتر کارکرد روزانه		
۲۱	فرم گزارش ماهیانه آزمایشگاه		
۲۲	فرم مشخصات انگلدار		
۲۳	کپسول اطفاءحریق		
۲۴	لوله ازمایشگاه با حجم۴-۵ سی سی حاوی EDTA		
۲۵	گارو		
۲۶	شیشه قطره چکان مخصوص روغن-الکل متانول		
۲۷	ظرف شیشه ای قطره چکان مخصوص رنگ گیمسا		
۲۸	مداد HB مشکی		
۲۹	جعبه لام آموزشی از پلاسمودیومهای رایج		
30	راهنمای روشهای عملی استاندارد (NMCP)برای میکروسکوپی مالاریا		
31	Bench aids برای تشخیص عفونتهای مالاریا : ۱۲ تصویر رنگی : WHO ، ۲۰۰۸ – ویرایش سوم یا اطلس		
32	راهنمای کشوری درمان مالاریا		
33	کتاب استانداردهای ازمایشگاه مالاریا		

چک لیست شماره 5 : ایمنی آزمایشگاه

۱ - تعداد میکروسکوپیستهای ملبس به روپوش آزمایشگاه، در زمان بازدید(نسبت تعداد میکروسکوپیست به تعداد روپوش): ....

۲ - - امکانات شستن دستها با صابون/مواد مشابه وجود دارد؟ بلی □ خیر□ ملاحظات:

چک لیست شماره 6 : نظافت آزمایشگاه

۱ - طرف رنگ آمیزی پس از اتمام کار شسته می شوند: بلی □ خیر□

۲ - سینک ظرفشویی تمیز است: بلی □ خیر□

۳ - وسایل آزمایشگاه در محل خود بدرستی چیده شده اند: بلی □ خیر□

۴ - کف آزمایشگاه تمیز است: بلی □ خیر□

۵ - سطل درب دار زباله وجود دارد: بلی □ خیر□

۶ - کیسه زباله در داخل سطل زباله قرار دارد: بلی □ خیر□

۷ - سیستم جمع آوری زبالۀ شهری وجود دارد: بلی □ خیر□

در در صورت فقدان، نحوۀ دفع زباله توضیح داده شود: .....

چک لیست شماره 7: مراقبت از میکروسکوپها: (شخص بازدید کننده موارد زیر را عملا بازدید نماید)

۱ - کاور میکروسکوپ موجود است: بلی □ خیر□

۲ - تعداد میکروسکوپ : .....

۳ - تعداد صفحه گردانهای سالم در میکروسکوپها: .....

۴ - تعداد لنزهای شیئی سالم در میکووسکوپها: .....

۵ - تعداد لنزهای چشمی سالم در میکروسکوپها: .....

۶ - تعداد منبع نورهای سالم در میکروسکوپها: .....

۷ - آیا محل مناسب و ایمن برای نگهداری میکروسکوپها در خارج وقت اداری وجود دارد: بلی □ خیر□

۸ - تعداد میکروسکوپ/ میکروسکوپ های موجود در آزمایشگاه که می توان گسترشهای خونی را بافوکوس بسیار دقیق در بزرگنمایی ۱۰۰× با روغن ایمرسیون دید: .....

چک لیست شماره 8: بایگانی لامها

۱ - لامهای منفی برای مدت سه سال در ازمایشگاه نگهدای می شوند؟

بلی □ خیر□ اگر خیر توضیه داده شود که برای چه مدت لامها نگهدای می شود و دلیل ان چیست؟

۲ - مجموع تعداد لام مشاهده شده در یکسال اخیر:.....

۳ - تعداد متوسط لام مشاهده شده ماهانه در یکسال اخیر: .....

۴ - تعداد متوسط لام مشاهده شده روزانه در ماهی که بیشترین تعداد لام را داشته است (کل لام همان ماه تقسیم بر تعداد روزهای کاری همان ماه): .....

— اگر همه لامها بایگانی نشده، تعدا د لام منفی از ابتدای ماه جاری در روز تاریخ بررسی: .....

۵ - چه تعداد از لامهای منفی دیده شده از ابتدای ماه جاری در بایگانی موجود است؟ (۱۰ مورد بطور راندوم از دفاتر انتخاب و بررسی شود): .....

۶ - تعداد لام منفی آزمایش شده در ماه قبل: .....

۷ - تعداد موجود لامهای منفی ماه قبل: .....

۸ - تعداد کل موارد مثبت دیده شده در سه سال قبل: .....

۹ - تعداد کل لام مثبت موجود: .....

۱۰ -تعداد لام مثبت ارسال شده به مرکز بهداشت با رسید: .....

— تعداد لام مثبت مفقود شده: .....

— تعداد لام مثبت ارسال شده بدون رسید: .....

۱۱ -آیا لامها در کاغذ بصورت یکی در میان بسته بندی شده است؟

بلی □ خیر□ لامها بسته بندی نشده اند □

- **در صورتیکه لامها تهیه وبسته بندی شده اند ۱۰ بسته بصورت تصادفی انتخاب و بررسی گردد.**

۱ - روی چند بسته های لام تعداد لام قید شده است: .....
۲ - روی چند بسته های لام نتیجهٔ اولیه لام قید شده است: .....
۳ - روی چند بسته های لام نام آزمایشگاه قید شده است: .....
۴ - روی چند بسته های لام تاریخ قید شده است: .....

چک لیست شماره 9: ثبت و گزارش دهی داده ها

۱. آیا برای ارسال آمار ماهیانه از فرم استاندارد گزارش عملکرد میکروسکوپیست استفاده می شود؟
بلی □ خیر□
۲. آیا عملکرد میکروسکوپیست در دفتر یا فرم مخصوص (دفتر کارکرد یا هر اسم دیگری) ثبت می شود؟
۳. بلی □ خیر□

۴. آیا در آزمایشگاه دفتر پاسیو یا دفتر ثبت مشخصات مراجعه بیماران مورد استفاده قرار می گیرد؟
۵. بلی □ خیر (علیرغم وجود مراجعه کنندهٔ تبدار) □ خیر (بدلیل عدم وجود مراجعه کنندهٔ تبدار) □
۶. در صورت نبود مورد مثبت آیا گزارش صفر مکتوب سه ماهه به مرکز بهداشت شهرستان ارسال می شود ؟

بلی □ خیر□

۷. تعداد ۱۰ نفر از افرادیکه در ازمایشگاه تحت ازمایش مالاریا قرار گرفته اند از بین مراجعین در دو ماه اخیر به شکل راندوم نتخاب شود.
ترجیحا در صورت وجود موارد مثبت انتخاب شوند.

موارد	مورد ۱		مورد ۲		مورد ۳		مورد ۴		مورد ۵		مورد ۶		مورد ۷		مورد ۸		مورد ۹		مورد 10	
	ب	خ	ب	خ	ب	خ	ب	خ	ب	خ	ب	خ	ب	خ	ب	خ	ب	خ	ب	خ
۱ - اطلاعات بیمار دقیقاً در دفتر پاسیو قید شده است *																				
۲ - اطلاعات بیمار دقیقاً در دفتر اکتیو یا فرم های مربوطه قید شده است																				

- **اطلاعات بیمار شامل نام و نام خانوادگی ، سن ، جنس ، ملیت ، تاریخ مراجعه ، ادرس دقیق ، تلفن**

۸. اطلاعات مندرج در گزارش عملکرد میکروسکوپیست به سطح شهرستان با جمع دفت ر کارکرد روزانه میکروسکوپها مطابقت دارد
بلی ..... خیر..... اگر خیر لطفا توضیح دهید.....

۹. موارد منفی در دفتر پاسیو + دفتر اکتیو با دفتر کارکرد و گزارش به شهرستان مطابقت دارد.
بلی ..... خیر..... اگر خیر لطفا توضیح دهید.....

آیا مورد مثبت در یک سال گذشته در ازمایشگاه تشخیص داده شده است؟ بلی □ خیر□

اگر پاسخ مثبت است:

۱۰. موارد مثبت در کلیه دفتار از جمله فرم انگل دار با دفتر اکتیو + پاسیو و دفتر کارکرد و با گزارش عملکرد میکروسکوپیست به شهرستان مطابق دارد.
بلی ..... خیر..... اگر خیر لطفا توضیح دهید.....

۱۱. تعداد کل مثبت در یکسال گذشته.....
۱۲. کل مواردی که شمارش انگلی انجام شده است: .....
۱۳. آیا شمارش انگلی در دفتر ثبت شده است؟ بلی □ خیر□
۱۴. تشخیص گونه ها در دفاتر ثبت شده است؟ بلی □ خیر□
۱۵. در طول سه ماه گذشته گزارش فعالیتهای میکروسکوپیست بطور منظم به سطوح بالاتر ارسال شده است ؟
بلی □ خیر□
۱۶. اطلاعات مربوط به زمان مشابه در ۳ سال قبل در بایگانی موجود است؟ بلی □ خیر□
۱۷. دفاتر کارکرد میکروسکوپیست مربوط به زمان مشابه در ۳ سال قبل در بایگانی موجود است؟ بلی □ خیر□
۱۸. آیا دفتر مخصوص دریافت و مصرف مواد مصرفی در ازمایشگاه وجود دارد ؟
بلی □ خیر□
۱۹. اطلاعات مندرج در دفاتر دریافت و مصرف مواد مصرفی با ذخیرهٔ موجود درآزمایشگاه مطابقت دارد ؟ (سه قلم بطور راندوم):
بلی □ خیر□
۲۰. در صورت کشف مورد مثبت به کدام شیوه گزارش فوری انجام می شود ؟
الف- تلفنی (شماره تلفن گیرنده خبر .....) (شماره تلفن را نمی داند .....) ب- پیامک..... ج- سایر (ثبت گردد)

۲۱.

چک لیست شماره 10: بررسی زمان پاسخ دهی ازمایشگاه

۱ - فاصلهٔ زمانی تهیه تا آزمایش لامهای پاسیو آزمایشگاه (در صورت وجود مراجعه کننده پاسیو) در ۱۰ مورد راندوم:

مورد۱: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□
مورد ۲: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□
مورد ۳: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□
مورد ۴: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□
مورد ۵: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□

مورد ۶: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□
مورد ۷: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□
مورد ۸: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□
مورد ۹: کمتر از ۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□
مورد ۱۰: کمتراز۲۴ ساعت□	۲۴-۴۸ ساعت□	۴۸-۷۲ ساعت□	بیش از ۷۲ ساعت□

۲ - در یکماه گشته در چند روز تعداد لام مشاهده شده توسط میکروسکوپیستها از حد نصاب تعیین شده در دستورالعمل مربوطه (۶۰ لام در روز) بیشتر است: .....

چک لیست شماره 11 : درمان (اگر ازمایشگاه مالاریا یک مرکز درمان کننده مالاریا است این چک لیست تکمیل گردد)

۱ - آخرین ویرایش راهنمای کشوری درمان مالاریا در آزمایشگاه موجود است؟ بلی □ خیر□

۲ - آیا دفتر موجودی و مصرفی دارو وجود دارد ؟ بلی □ خیر□

نام دارو	مقدار موجودی دارو در روز بازدید	آیا دارو تاریخ مصرف دارد؟	تاریخ انقضاء دارو	مقدار مصرف دارو در ۱۲ ماه قبل بر اساس مستندات	ایا مصرف دارو بر اساس دستورالعمل کشوری بوده است؟	توضیحات
کلروکین						
پریماکین						
آرتسونت - فانسیدار (اگر ارتسونت فانسیدار وجود ندارد دسترسی به کوارتم بررسی شود و در ستون توضیحات توضیح داده شود)						
کیت تشخیص سریع مالاریا						

چک لیست شماره 12: فرایند های ارزیابی و ارزشیابی

۱ - آزمایشگاه دارای یک برنامهٔ خودارزیابی برای پایش کیفیت عملکردها و مواد و تجهیزات می باشد ؟ (چک لیست در آزمایشگاه توسط خود میکروسکوپیست تکمیل گردد)

بلی □ خیر□

۲ - در سه ماه گذشته برنامهٔ کنترل مجدد لامها بطور منظم و ماهانه اجرا شده است ؟

بلی □ خیر□ (وجود سه فرم ماهانه ارسال لام جهت کنترل کیفیت به سطوح بالاتر).

۳ - پس خوراند کنترل کیفی لامها سطوح بالاتر مربوط به یکی از ماههای شش ماه گذشته در آزمایشگاه موجود است ؟
بلی □ خیر□

دستورالعمل شماره پنج: آزمایش مجدد لامهای ازمایش شده (Cross – check)

هدف از این روش تعیین میزان صحت و دقت تشخیص ازمایشگاه است که به شکل سطح به سطح قابل انجام است.

آزمایش مجدد لامهای ازمایش شده (Cross – check) به دو روش انجام می شود:

- شکل روتین که در قالب برنامه معمول ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی به شکل سطح به سطح قابل انجام است .
- در طی بازدید فیلد از ازمایشگاه (در قالب ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی و ارزیابی و ارزشیابی بیرونی قابل انجام است)

آزمایش مجدد لامهای ازمایش شده (Cross – check) به شکل روتین:

در این روش هر ازماشگاه که در نظام اعتبار گذاری رتبه پایین تری دارد توسط ازمایشگاه با رتبه بالاتر پوشش داده می شود. علاوه بر ازمایشگاه محیطی، ازمایشگاه های کنترل کننده و ازمایشگاههای رفرانس شهرستان توسط ازمایشگاه رفرانس دانشگاه/منطقه و ازمایشگاه دانشگاه/مرطقه توسط ازمایشگاه رفرانس کشوری پوشش داده می شود.

- در این روش هر یک از آزمایشگاههای کنترل شونده تمام لامهای آزمایش شده مثبت و تمام لامهای تعقیب موارد ماه قبل و همه لامهای ازمایش شده منفی در ماه قبل را به همراه مشخصات هر لام و نتیجه گزارش شده به آزمایشگاه سطح بالاتر ارسال خواهد نمود.
- در آزمایشگاه کنترل کننده ۱۰٪ لامهای منفی بطور اتفاقی (با استفاده از جدول اعداد تصادفی) انتخاب می شوند (اگر آزمایشگاه در یک ماه کمتر از ۵۰ لام آزمایش نموده باشد ۲۰٪ انتخاب شود) و به همراه تمام لامهای مثبت و تمام لامهای تعقیب توسط تکنسین ماهر آموزش دیده بازبینی می شوند . نکتهٔ مهم در این مرحله عدم آگاهی کنترل کننده از نتیجهٔ اولیه آزمایش لامها در فیلد است .
- آزمایشگاه کنترل کننده نیز همهٔ لامهای مثبت و ۱۰٪ از لامهای بازبینی شده و موارد عدم توافق تشخیص طی بازبینی را جهت بازبینی به آزمایشگاه سطح بالاتر ارسال می کند و همین روش تا سطح ازمایشگاه منطقه ای /کشوری ادامه خواهد یافت.
- آزمایشگاه کنترل کننده موظف خواهد بود موارد اشتباه در تشخیص اولیه را بلافاصله بصورت تلفنی به آزمایشگاه فیلد اعلام نموده و حداکثر تا نیمهٔ ماه بعد گزارش موارد اشتبا ه تشخیص اولیه را در قالب فرم مخصوص ، به آزمایشگاه کنترل شده ارسال نماید تا پیگیری فوری جهت بررسی و درمان بیماران مربوطه صورت گیرد.
- گزارش کنترل کیفیت لامها بصورت ماهیانه به تفکیک آزمایشگاههای بررسی شده توسط آزمایشگاه کنترل کنندهٔ به سطوح بالاتر ارسال خواهد شد.
- آزمایشگاه کنترل کننده موظف خواهد بود حداکثر در مدت یک ماه با تحلیل منظم داده های مربوط به بازبینی لامها نسبت به تعیین نیاز آموزشی و برگزاری جلسات رفع اشکال مستقیم در آزمایشگاههای محیطی اقدام نموده، گزارش فعالیتهای خود را به سطوح بالاتر ارسال نماید

کنترل کیفیت غیرمستقیم لامها موارد زیر را شامل خواهد بود:

- کیفیت نمونه شامل مقدار یا اندازه، موقعیت و ضخامت در هر دو گسترش ضخیم و نازک
- کیفیت رنگ آمیزی
- تشخیص اولیهٔ نوع انگل و سیر تکاملی آن (حتی الامکان قبل از اتمام بازبینی تکنسین بازبین از تشخیص اولیه مطلع نخواهد بود)

آزمایش مجدد لامهای ازمایش شده در طی بازدید فیلد

حداقل تعداد نمونه مورد نیاز جهت ازمایش مجدد در طی هر بار بازدید فیلدی ۱۰ اسلاید می باشد که به روش کاملا تصادفی انتخاب می شود. نمونه ها بایستی از دفتر ثبت آزمایشگاه انتخاب گردد . انتخاب اسلایدهای برای بررسی متقاطع نباید به طور مستقیم از جعبه ذخیره سازی اسلایدها صورت گیرد. در ارزیابی و ارزشیابی بیرونی حداقل ۴۰ لام توصیه می شود بازبینی شوند.

توجه: بدیهی است وقتی تعداد آزمایشات انجام شده کمتر از ده مورد باشد، تمام نمونه ها ازمایش مجدد می شوند.

روش انتخاب نمونه:

ناظر آزمایشگاه ۵ لام منفی را به صورت کاملا تصادفی با استفاده از جدول متقاطع (یا شماره اسکناس) انتخاب می کند:

- یک لام تعقیب منفی
- ۳ لام منفی را از لامهای مربوط به بیماران تب دار از دفتر پاسیو
- یک لام منفی را از بیماران تب دار از دفتر اکتیو

در صورت وجود ناظر آزمایشگاه ۵ لام مثبت را به صورت کاملا تصادفی با استفاده از جدول متقاطع (یا شماره اسکناس) انتخاب می کند:

- یک لام تعقیب مثبت
- یک لام مثبت میکس
- ۳ لام مثبت که یک انگل در ان تشخیص داده شده است .

توجه:

- دوره تحت بررسی ماه جاری و در صورت کمبود لام جهت انتخاب ماه قبل و یا در صورت لزوم ماههای قبل از ان می باشد. بدیهی است هر چه دوره زمانی بررسی لام به زمان بازدید نزدیکتر باشد مناسب تر است.
- در صورت درج شمارش انگلی انتخاب لامهای مثبت با شماره انگلی کمتر از ۲۰۰ انگل در میکرولیتر از اولویت برخوردار است.
- در صورت عدم وجود موارد میکس بجای ان یکی از موارد مثبت با گزار ش یک انگل انتخاب شود.
- در صورت عدم وجود موارد مثبت بجای ان موارد منفی انتخاب شود .ترجیحا موارد منفی که به دلیل شاخص های اپیدمیولوژیکی احتمال ابتلا به مالاریا در انها زیادتر است مثلا اتباع افغانستا ن و پاکستان، ساکنین مناطق

مالاریاخیز و یا کسانی که به مناطق مالاریاخیز سفر نموده اند و کسانی که به دلیل تب لامهای مکرر از انها گرفته شده است.

- ترجیحا دوره تحت بررسی باید به ۶ ماه گذشته محدود شود.

نکات مهم:

- تمام ۱۰ اسلاید باید از نظر حضور یا عدم حضور مراحل انگلی و صحت تمایز گونه انگل ها مورد بررسی متقاطع قرار گیرند.
- ازمایش مجدد توسط فردی با تجربه صورت گرفته باشد که صلاحیت علمی او با ازمون های استاندارد تایید شده باشد.

ثبت نتایج ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده

تمام نتایج باید در جدول ۲×۲ به صورت زیر ثبت گردد:

نتایج ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده براساس شناسایی مراحل غیر جنسی انگل های خونی (بدون شناسایی گونه ها)		
	نتیجه ازمایش مجدد توسط کنترل کننده	
نتایج اولیه آزمایشگاه	مثبت	منفی
مثبت	A	B
منفی	C	D

در این جا :

A= تعداد اسلایدهای گزارش شده به عنوان نتیجه مثبت توسط هر دو فرد آزمایش کننده

B= تعداد اسلایدهای گزارش شده با عنوان نتیجه مثبت در آزمایش روتین توسط آزمایشگاه اما در بررسی متقاطع نتیجه منفی اعلام شده است (مثبت کاذب).

C= تعداد اسلایدهای گزارش شده با عنوان نتی‌جه منفی در آزمایش روتین توسط آزمایشگاه اما در بررسی متقاطع نتیجه مثبت اعلام شده است (منفی کاذب).

D= تعداد اسلایدهای گزارش شده با نتیجه منفی توسط هر دو فرد آزمایش کننده

$$\frac{(A+D)\times 100}{A+B+C+D} \qquad \textit{درصدتوافق}$$

نتایج ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده براساس شناسایی گونه ها			
	بررسی متقاطع توسط کنترل کننده		
نتیجه اولیه آزمایشگاه	**روئیت فالسیپارم**	**روئیت ویواکس**	**روئیت میکس**
رؤیت فالسیپارم	**A**	**B**	**C**
رؤیت ویواکس	**D**	**E**	**F**
روئیت میکس	**G**	**H**	**I**

در این جا :

A= تعداد اسلایدهای گزارش شده توسط هر دو فرد آزمایش کننده که از نظر فالسیپارم مثبت می باشد.

B= تعداد اسلایدهای گزارش شده با نتیجه فالسیپارم در آزمایش اولیه توسط آزمایشگاه اما توسط بررسی کننده لام ، ویواکس گزارش شده است (شناسایی نادرست گونه)

C= تعداد اسلایدهای گزارش شده با نتیجه فالسیپارم در آزمایش اولیه توسط آزمایشگاه اما توسط بررسی کننده لام ، میکس گزارش شده است (شناسایی نادرست گونه)

D= تعداد اسلایدهای گزارش شده با نتیجه ویواکس در آزمایش اولیه توسط آزمایشگاه اما توسط بررسی کننده لام ، فالسیپارم گزارش شده است (شناسایی نادرست گونه

E= تعداد اسلایدهای گزارش شده توسط هر دو فرد آزمایش کننده که از نظر ویواکس مثبت می باشد.

F= تعداد اسلایدهای گزارش شده با نتیجه ویواکس در آزمایش اولیه توسط آزمایشگاه اما توسط بررسی کننده لام ، میکس گزارش شده است (شناسایی نادرست گونه)

G= تعداد اسلایدهای گزارش شده با نتیجه میکس در آزمایش اولیه توسط آزمایشگاه اما توسط بررسی کننده لام ، فالسیپارم گزارش شده است (شناسایی نادرست گونه

H= تعداد اسلایدهای گزارش شده با نتیجه میکس در آزمایش اولیه توسط آزمایشگاه اما توسط بررسی کننده لام ، ویواکس گزارش شده است (شناسایی نادرست گونه)

I= تعداد اسلایدهای گزارش شده با نتیجه میکس توسط هر دو فرد آزمایش کننده

$$\text{درصدتوافق} \qquad \frac{(A+E+I)\times 100}{A+B+C+D+E+F+G+H+I}$$

تحلیل نتایج:

- نبود خطا در تشخیص مثبت و منفی و کمتر از ۱٪ خطا در نوع گونه در یک دوره ۱۲ماه نتیجهٔ خوب و رضایتبخش در نظر گرفته می شود.
- مشاهده یک خطا و بیشتر در ۱۰ نتیجه به عنوان یک هشدار محسوب شده و نیازمند بررسی فوری می باشد.
- مشاهده نتیجه بهتر از نتایج قبل بایستی منجر به تشویق شود.
- کاهش پایدار یا پیشرونده در میزان درصد توافق نشاندهنده این است که عمل تصحیح گرانه مؤثر نبوده و بایستی مورد بازبینی قرار گیرد.

اقدامات لازم در مواجهه با نتایج متضاد

توصیه می شود تضاد تشخیص توسط فرد ماهر دیگری نیز کنترل شود و در صورت تایید خطا مورد ثبت و گزارش شود.

اسلایدهای میکروسکوپی فرستاده شده به آزمایشگاه رفرانس برای بررسی متقاطع در صورت امکان بایستی بعد از آزمایش به آزمایشگاه اولیه برگردانده شود.

فرم گزارش دهی نتایج ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده بر اساس درصد توافق تشخیص گونه

نام ازمایشگاه: **نام مرکز کنترل کننده:**	**نتایج درصد توافق در ۱۲ ماه گذشته**
نتایج ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده براساس شناسایی گونه ها در دوره شروع ماه ..... لغایت ماه ..... سال.....	

نتیجه اولیه آزمایشگاه	**بررسی متقاطع توسط کنترل کننده**			**درصد توافق**
	روئیت فالسیپارم	روئیت ویواکس	روئیت میکس	
رؤیت فالسیپارم	**A**	**B**	**C**	
رؤیت ویواکس	**D**	**E**	**F**	
روئیت میکس	**G**	**H**	**I**	
درصد توافق :				
توصیه اقدامات بعدی با توجه به نتایج ازمایش:				

فرم گزارش دهی نتایج ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده بر اساس درصد توافق تشخیص مثبت

<table>
<tr><td colspan="3">نام ازمایشگاه :
نام مرکز کنترل کننده :</td><td>نتایج درصد توافق در ۱۲ ماه گذشته</td></tr>
<tr><td colspan="4">نتایج ازمایش مجدد لامهای ازمایش شده براساس شناسایی گونه ها در دوره شروع ماه ..... لغایت ماه ..... سال.....</td></tr>
<tr><td rowspan="2">نتیجه اولیه آزمایشگاه</td><td colspan="2">بررسی متقاطع توسط کنترل کننده</td><td>درصد توافق</td></tr>
<tr><td>مثبت</td><td>منفی</td><td></td></tr>
<tr><td>مثبت</td><td>A</td><td>B</td><td></td></tr>
<tr><td>روئیت میکس</td><td>C</td><td>D</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="3">درصد توافق :</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="3">توصیه اقدامات بعدی با توجه به نتایج ازمایش: .....</td><td></td></tr>
</table>

چک لیست بازبینی لامهای مالاریا

شمارهٔ لام: ..... نوع لام:..... آزمایشگاه: ..... شهرستان: .....دانشگاه ..... آزمایش کننده:.....

ردیف	ویژگی	بلی	خیر
۱	گسترش نازک فیکسه شده است		
۲	گسترش نازک دارای شماره/کد می باشد		
۳	ضخامت گسترش نازک در همهٔ ۱۰ میدان بررسی شده بطور راندوم به اندازهٔ یک گلبول قرمز		
۴	در گسترش نازک زمینهٔ لام عاری از بقایای مواد/ رسوب/ آلودگی میکروبی /قارچی است		
۵	در گسترش نازک رنگ گلبول های قرمز صورتی مایل به خاکستری کم رنگ و هسته های نوتروفیل به رنگ ارغوانی تیره و دانه ها (گرانول ها) به خوبی در آن مشخص هستند		
۶	در گسترش نازک سطح لام عاری از خراشیدگی است		
۷	در گسترش نازک کروماتین انگل های مالاریا به رنگ قرمز ارغوانی تیره و سیتوپلاسم آنها به رنگ آبی مایل به ارغوانی روشن است		
۸	گسترش ضخیم فیکسه نشده است		
۹	هیچ قسمتی از گسترش ضخیم با شستن از بین نرفته و سطح لام عاری از خراشیدگی است		
۱۰	قطر گسترش ضخیم ۱/۵ الی ۲ سانتیمتر است		
۱۱	در گسترش ضخیم ۱۵ الی ۲۰ گلبول سفید در هر میدان میکروسکوپی دیده می شود		
۱۲	در گسترش ضخیم زمینهٔ لام عاری از بقایای مواد/ رسوب/ آلودگی میکروبی /قارچی است		
۱۳	در گسترش ضخیم هسته های گلبول های سفید رنگ ارغوانی تیره است		
۱۴	در گسترش ضخیم کروماتین انگل های مالاریا به رنگ قرمز ارغوانی تیره و سیتوپلاسم آنها به رنگ آبی مایل به ارغوانی روشن است		

۱۵ -تشخیص اولیه ۱: منفی □ پ. ویواکس □ پ.فالسیپاروم□ میکس□ سایر□ .....

۱۶ -تشخیص اولیه ۲ : مرحلهٔ تکاملی انگل در صورت مثبت بودن تشخیص اولیه: رینگ □ تروفوزوئیت درحال رشد/پیر□ گامتوسیت□ شیزونت□

۱۷ -تشخیص بازبینی ۱: منفی □ پ. ویواکس □ پ.فالسیپاروم□ میکس□ سایر□ .....

۱۸ -تشخیص بازبینی ۲ : مرحلهٔ تکاملی انگل در صورت مثبت بودن تشخیص بازبینی: رینگ □ تروفوزوئیت درحال رشد/پیر□ گامتوسیت□ شیزونت□

دستورالعمل شماره شش:اعتبارسنجی آزمایشگاهها مالاریا

فرایند اعتبارسنجی آزمایشگاهها مالاریا:

۱. فهرست آزمایشگاههای که بر اساس گزارشات ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهیواجد شرایط تایید اعتبار هستند توسط واحد امور آزمایشگاهها به اداره حذف مالاریا اعلام می شود .اداره کنترل مالاریا می تواند اسناد مربوط با اخرین ارزیابی را جهت بررسی درخواست نماید.

۲. اداره کنترل مالاریا فهرست آزمایشگاههای واجد شرایط اعتباربخشی را پس از تایید در اختیار ارزیاب خارجی می گذارد.

۳. ارزیاب خارجی جهت بازدید فیلد با اداره کنترل مالاریا هماهنگی می نماید.

۴. ارزیابی خارجی طی بازدید از فیلد ارزیابی آزمایشگاه و تعیین صلاحیت میکروسکوپیست را ا نجام می دهد و نتیجه ارزیابی را به کمیته تایید اعتبار ارائه می دهد.

۵. کمیته در مورد رتبه اعتبار آزمایشگاه تصمیم گیری می کند و موارد را به اداره کنترل مالاریا جهت صدور گواهی مزبور اعلام می نماید.

۶. اداره کنترل مالاریا نسبت به صدور گواهی صلاحیت میکروسکوپیست و گواهی اعتبار آزمایشگاه اقدام می نماید.

۷. واحد امور آزمایشگاهها نسبت به رفع موارد رد صلاحیت شده آزمایشگاه های مالاریا با هماهنگی اداره حذف مالاریا قدام می کند.

۸. واحد امور آزمایشگاهها نسبت به کنترل کیفی داخلی مجدد پس از رفع نقص اقدام می نماید.

۹. اگر نتایج کنترل کیفی رضایت بخش بود امور آزمایشگاهها نسبت به معرفی مجدد آزمایشگاه برای اخذ تاییدیه اعتبار اقدام می کند.

صدور گواهی آزمایشگاههای تایید اعتبار شده:

گواهی آزمایشگاههای اعتبارگذاری شده که بر اساس دستورالعمل کشوری واجد حداقل استانداردهای لازم تشخیص داده شده اند توسط مدیر کشوری برنامه کنترل مالاریا، مدیر مرکز کنترل بیماریهای واگیر و یکی از اعضاء کمیته کشوری تشخیص مالاریا تایید و صادر می گردد.

مکانیسم های تشویقی نظام اعتبارسنجی

آزمایشگاههای با رتبه بالاتر به عنوان آزمایشگاه مرجع برای کنترل کیفیت تشخیص در آزمایشگاه های محیطی در نظر گرفته می شوند و میکروسکوپیست های با رتبه صلاحیت بالاتر می توانند به عنوان مسئول کنترل کیفی تشخیص و نظارت بر آزمایشگاههای سطوح پایین تر عمل نموده و از مزایای مادی و معنوی ان بهره مند شوند.

فرایند اعتبارسنجی صلاحیت فنی میکروسکوپیستهای مالاریا:

اعتبارسنجی میکروسکوپیستهای مالاریا شامل سنجش آگاهی آنان در زمینهٔ انگل شناسی، اپیدمیولوژی، روشهای تشخیص، اصول مراقبت و درمان مالاریا و مهارت یا صلاحیت تشخیصی آنان برای تشخیص میکروسکوپی انگلهای مالاریا است.

منظور از **صلاحیت (Competency)** در میکروسکوپی مالاریا ، توانایی میکروسکوپیست برای انجام دقیق یک آزمایش و گزارش درست نتیجه ازمایش گسترش خونی از لحاظ انگل مالاریا است.

صلاحیت مورد نیاز میکروسکوپیستهای محیطی توانایی انجام موارد زیر به شکلی استاندارد است:

- **تهیه نمونه ازمایش** شامل : تهیهٔ گسترشهای ضخیم و نازک خون و نگهداری لامها
- **رنگ آمیزی** شامل : رقیق سازی صحیح، آزمایش کیفیت رنگ گیمسا ، استفاده از رنگ گیمسای غلیظ (ذخیره) و رنگ امیزی لام با استفاده از رنگ گیمسا
- **میکروسکوپ** شامل : نگهداری و تمیز کردن پایه ، تنظیم صحیح میکروسکوپ (نوردهی صحیح) و استفادهٔ صحیح از یک میکروسکوپ
- **تشخیص و مشاهده لام** :
  - شناسایی دقیق اشکال غیر جنسی
  - تمایز صحیح پلاسمودیوم فالسی پاروم از سایر پلاسمودیومها
  - شناسایی تمام گونه های موجود در منطقه
  - تشخیص گامتوسیتها
  - شمارش انگل
  - شمارش افتراقی گلبولهای سفید در گسترش ضخیم نوتروفیلها، لنفوسیتها، ائوزینوفیلها
  - تشخیص سایر انگلهای مهم خونی شایع در منطقه
- **داده** شامل: ثبت نتایج در دفاتر آزمایشگاه ، جمع آوری منظم داده ها و گزارش دهی
- **کیت تشخیص سریع** شامل: ازمایش با استفاده از کیت تشخیص سریع و شرایط استاندارد نگهداری کیت تشخیص سریع
- **سایر** : اصول کنترل موجودی و مدیریت ذخیره مواد، آشنایی با اصول خود ارزیابی و نحوه انجام ان و آشنایی با اصول ایمنی شغلی

با در اختیار داشتن استانداردهای فوق انتظار می رود کلیه میکروسکوپیست های شاغل بتوانند نقص های عملکردی خود را با توجه به استاندارد مزبور تعیین نموده و نسبت به رفع نقص اقدام نمایند.

آزمونهای تعیین صلاحیت میکروسکوپیستهای مالاریا

در آزمونهای عملی لامهای مالاریای مجهول (منفی و مثبت) در اختیار میکروسکوپیست قرار داده می شود . آزمون نظری توسط تعداد مشخصی سئوال استخراج شده از منابع آموزشی که قبلاً در اختیار میکروسکوپیستها قرار گرفته انجام می شود.

از این روش می توان در ارزیابی کارگاههای اموزشی (پیش ازمون و پس ازمون)، کنترل کیفی خارجی در راستای نظام اعتبارگذاری و ارزیابی و ارزشیابی درون دانشگاهی(در طی بازدید فیلد) استفاده نمود.

نکات مهم برای تعیین صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیستها برای تشخیص میکروسکوپی انگلهای مالاریا (آزمون عملی):

- لامها باید حاوی گونه های شایع مالاریا در کشور (پلاسمودیوم فالسیپارم، پلاسمودیوم ویواکس و میکس) و ترجیحاً پلاسمودیوم مالاریه باشد.
- لامها باید حاوی تعداد متفاوت انگل در خون باشند و حتما دو لام کم انگل (تعداد انگل کمتر از ۲۰۰ (۸۰-۲۰۰) در میکرولیتر وجود داشته باشد) .
- لامهای منفی هم باید در ارزشیابی گنجانیده شوند.
- لامها بر اساس استانداردهای سازمان جهانی بهداشت تهیه شده باشد.
- در صورت نیاز به ارسال، نحوه ارسال لام باید استاندارد باشد و لامها باید در محفظه های دارای درپوش گذاشته شوند.

پانل های ارسالی به آزمایشگاه باید از جهات گوناگون مشابه و کاملاً یکسان باشند (از لحاظ گونه و تعداد انگل) تا بتوان آزمایشگاهها را با هم مقایسه نمود . توصیه می شود پانل های ارسالی جهت بررسی صلاحیت میکروسکوپیسته ا حاوی ۱۰ لام شامل موارد زیر باشد:

۱. ۳ مورد پلاسمودیوم فالسیپارم که یک مورد آن پر انگل با بیش از ۱۰۰۰ انگل در هر میکرولیتر خون و دو مورد حاوی کمتر از ۲۰۰ انگل در هر میکرولیتر خون باشند. ترجیحاً یک لام دارای گامتوسیت باشد
۲. ۳ مورد پلاسمودیوم ویواکس که یک مورد آ ن پر انگل با بیش از ۱۰۰۰ انگل در هر میکرولیتر خون و دو مورد حاوی کمتر از ۲۰۰ انگل در هر میکرولیتر خون باشند.
۳. دو مورد منفی
۴. یک مورد لام میکس (حاوی پلاسمودیوم فالسیپارم و پلاسمودیوم ویواکس)
۵. یک مورد لام مالاریه

- برای ازمایش هر لام به طور متوسط ۱۰ دقیقه زمان لازم است لذا برای ۱۰ لام ۱۲۰ دقیقه با درنظر گرفتن استراحت بین کار تعیین می شود.
- نهایتاً هر میکروسکوپیست پرونده ی آموزش فردی و صلاحیت خواهد داشت . واحد امور آزمایشگاهها (منطقه ای/دانشگاهی) مسئولیت نگهداری این پرونده را داراست.

درجه بندی صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیست های مالاریا برای اعطاء گواهینامه

سطح اعتبار	صحت تشخیص پارازیتمی	صحت شناسایی گونه ها	صحت شمارش انگل*
رتبه یک(خبره)	٪۱۰۰	٪۱۰۰	بیش از ۸۰%
رتبه ۲(کارشناس)	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪60 **الی ۷۹٪**
رتبه ۳(تکنسین رتبه یک)	٪۹۰	٪۹۰ ≤	٪ 40 **الی ۵۹٪**
رتبه ۴ (تکنسین رتبه ۲)	٪۸۰	٪۸۰>	٪۲۰ **الی ۳۹٪**
رد صلاحیت شده	٪۸۰>	٪۸۰>	کمتر از ٪۲۰

* شمارس انگلی در محدوده ۲۵٪ عدد اعلام شده معیار محاسبه می شود. (مثلاً در مورد اول در ۸۰٪ لامها شمارش انگل حداکثر ۲۵٪ با شمارش اصلی اختلاف دارد)

اگر فرد در مورد سنجش پارازیتمی و نوع انگل درردیف های مختلفی قرار بگیرد ملاک سطح پایین خواهد بود . مثلا اگر فردی در تشخیص گونه در ردیف ۱ قرار گیرد و در سنجش پارازیتمی در ریدف ۲ ملاک ردیف ۲ خواهد بود.

مکانیسم رتبه بندی نهایی آزمایشگاه مالاریا

بر اساس نتیج تست صلاحیت میکروسکوپیست ها و نیز نتایج ارزیابی خارجی آزمایشگاههایی که کمبود لوازم اصلی و مواد مصرفی مورد نیاز در آنها گزارش نشده است و میکروسکوپیست های آنها صلاحیت تشخیص مالاریا را داشته باشند و در ازمون تئوری حد نصاب ۶۰٪ نمره و ازمون عملی حد نصاب ۷۰٪ نمره را کسب نمایند تایید اعتبار می شوند.

آزمایشگاههای تایید اعتبار شده به شرح زیر رتبه بندی می شوند:

رتبه آزمایشگاه	رتبه صلاحیت میکروسکوپیست	نتیجه بررسی لامها در زمینه تهیه لام و رنگ امیزی لام (لام تهیه شده توسط آزمایشگاه ملاک است)	درصد توافق ازمون مجدد لامهای ازمایش شده در زمینه تشخیص پارازیتمی	درصد توافق ازمون مجدد لامهای ازمایش شده در زمینه تشخیص گونه	درصد توافق ازمون مجدد لامهای ازمایش شده در زمینه شمارش انگلی	توضیحات
رتبه یک عالی	خبره	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	≥٪۵۰	در صورتی که در آزمایشگاه بیش از یک نفر تکنسین در زمینه مالاریا فعالیت دارند معیار رتبه بالاترین فرد است.
رتبه ۲ برتر	کارشناس	≥ ٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	≥٪ ۴۰- < ٪۵۰	
رتبه ۳ خوب	تکنسین رتبه یک	≥ ٪۹۰	≥ ٪۹۵	≥ ٪۹۰	٪ ۴۰- < ٪۳۰	
رتبه ۴ قابل قبول	تکنسین رتبه ۲	>٪۸۰	٪۹۰-<٪۹۵ ≥	>٪۸۰	<٪۳۰	

*در صورتی که در آزمایشگاه بیش از یک نفر تکنسین در زمینه مالاریا فعالیت دارند معیار رتبه بالاترین فرد است.

توجه:

در هر یک از موارد زیر آزمایشگاه رد اعتبار می گردد:

- میکروسکوپیست کمتر از ۶۰٪ امتیاز ازمون تئوری را کسب نماید.
- نتیجه ارزیابی میکروسکوپیست در ازمون عملی **صحت تشخیص پارازیتمی کمتر از ۸۰ درصد، صحت شناسایی گونه ها کمتر از ۸۰ درصد و صحت شمارش انگل کمتر از ۲۰٪ باشد.**

- تجهیزات و مواد مصرفی اساسی (میکروسکوپ، لام، لانست، رنگ) وجود نداشته باشد و یا استاندارد نباشند.
- نظام ثبت و گزارش دهی موارد مشکوک به مالاریا و نیز موارد مثبت استاندارد نباشد به نحوی که موارد مثبت و یا مشکوک قابل پیگیری نباشند و موارد مثبت به مراکز گزارش گیری گزارش نشود.
- میکروسکوپیست رد صلاحیت شده به تنهایی و بدون حضور یک میکروسکوپیست دارای صلاحیت در آزمایشگاه مشغول بکار می باشد (مواردی که صرفا جهت طی دروه های اموزشی در ان شاغل هستند و بطور مستقل نتیجه ازمایش را گزارش نمی کنند از این قانون مستثنی بوده و در اعتبارگذاری منظور نمی شوند)

دستورالعمل شماره هفت: ایجاد بانک لام کشوری

بدلیل نیاز به بهبود توانایی و عمل کرد میکروسکوپیستهای مالاریا تقاضا برای ایجاد یک مجموعه از لامهای کشوری مرجع با کیفیت بالا جهت آموزش مداوم و ارزیابی اولیه مالاریا و نیز تربیت میکروسکوپیستهای ماهر افزایش یافته است.

تاسیس یک بانک کشوری لام

بانک کشوری لام باید حاوی لامهایی استاندارد از همه گونه های مالاریا و درصورت عدم دسترسی حداقل حاوی انواع مالاریا که در حال حاضر در کشور وجود دارند (پلاسمودیوم فالسیپاروم و پلاسمودیوم ویواکس)، و همچنین، لامهای خونی که از لحاظ مالاریا منفی تشخیص داده شده اند باشد

مقدار لام مورد نیاز در بانک لام باید بر اساس ارزیابی نیازهای زیر در نظر گرفته شود :

- **تعداد دوره های آموزشی که در هر سال برگزار می شود.**

در هر دورهٔ آموزشی با متوسط ۱۵ شرکت کننده حداقل به لامهای زیر جهت آموزش نیاز خواهد بود (لامها مونته شده باشند):

- ۳۰ لام کم انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم
- ۳۰ لام پلاسمودیوم فالسیپاروم با تعداد متوسط انگل
- ۳۰ لام پر انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم
- ۲۰ لام پلاسمودیوم فالسیپاروم حاوی شیزونت

توجه: ۲۰حدود لام از بین لامهای پلاسمودیوم فالسیپاروم باید حاوی گامتوسیت باشد

- ۳۰ لام کم انگل پلاسمودیوم ویواکس
- ۳۰ لام پلاسمودیوم ویواکس با تعداد متوسط انگل
- ۳۰ لام پر انگل پلاسمودیوم ویواکس
- ۲۰ لام میکس (پلاسمودیوم فالسیپاروم و پلاسمودیوم ویواکس)
- ۲۰ لام پلاسمودیوم اوال
- ۲۰ لام پلاسمودیوم مالاریه
- ۲۰ لام پلاسمودیوم ناولزی (در صورت امکان)

- ۲۰ لام بورلیا
- ۲۰ لام با تهیه نمونه و رنگ امیزی بی کیفیت و غیر استاندارد
- ۲۰ لام منفی

در پایان هر دورهٔ آموزشی میبایستی یک جعبه لام حاوی لامهای زیر به میکروسکوپیست تحویل داده شود:

- ۳ لام کم انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم
- ۳ لام پلاسمودیوم فالسیپاروم با تعداد متوسط انگل
- ۳ لام پر انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم
- ۲ لام پلاسمودیوم فالسیپاروم حاوی شیزونت
- ۲ لام پلاسمودیوم فالسیپاروم حاوی گامتوسیت
- ۳ لام کم انگل پلاسمودیوم ویواکس
- ۳ لام پلاسمودیوم ویواکس با تعداد متوسط انگل
- ۳ لام پر انگل پلاسمودیوم ویواکس
- ۲ لام میکس (پلاسمودیوم فالسیپاروم و پلاسمودیوم ویواکس)
- ۲ لام پلاسمودیوم اوال
- ۲ لام پلاسمودیوم مالاریه
- ۲ لام بورلیا

- **آزمایشگاههای مالاریا در سطح کشور**

به تعداد آزمایشگاههای مالاریا در کشور یک بسته لام آموزشی مشابه بستهٔ تحویل داده شده به میکروسکوپیستها در دوره های اموزشی تحویل داده شود (در صورت تحویل بستهٔ لام آموزشی به میکروسکوپیست در خلال دورهٔ آموزشی نیازی به تحویل یک بستهٔ دیگر به آزمایشگاه مربوطه نخواهد بود).

- **تعداد تیم ارزشیابی / اعتباردهی کننده**

برای هر تیم ارزشیابی کننده (تعیین صلاحیت تشخیص میکروسکوپی مالاریا) دو بسته لام هریک حاوی لامه ای زیر کافی بنظر می رسد:

- دو لام کم انگل شمارش شده پلاسمودیوم فالسیپاروم
- دو لام پلاسمودیوم فالسیپاروم شمارش شده با تعداد متوسط انگل
- دو لام پر انگل شمارش شده پلاسمودیوم فالسیپاروم
- دو لام پلاسمودیوم فالسیپاروم شمارش شده حاوی شیزونت
- دو لام پلاسمودیوم فالسیپاروم شمارش شده حاوی گامتوسیت
- دو لام شمارش شده کم انگل پلاسمودیوم ویواکس
- دو لام شمارش شده پلاسمودیوم ویواکس با تعداد متوسط انگل
- دو لام شمارش شده پر انگل پلاسمودیوم ویواکس
- دو لام میکس (پلاسمودیوم فالسیپاروم و پلاسمودیوم ویواکس)
- دو لام پلاسمودیوم اوال
- دو لام پلاسمودیوم مالاریه
- دو لام منفی

- **کارشناسان مسئول استان و شهرستان** نیز هریک میبایستی یک بسته لام در اختیار داشته باشند تا در بازدیدهای فیلدی در صورت صلاحدید صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیست را در فیلد آزمون نمایند.

تشخیص همه گونه ها در لامها باید با مهارت کامل در آزمایشگاه های معتبر و و با تأیید حداقل سه نفر خبره در تشخیص میکروسکوپی مالاریا و در صورت امکان با روش PCR صورت گیرد.

تجهیزات و لوازم ضروری شامل موارد زیر هستند:

- جعبهٔ ذخیره سازی لام و یا کابینت (فلزی و یا چوبی)
- دستگاه نشانه گذاری و برچسب (نظیر بار کد و بار کد خوان)
- وسایل مونته کردن لام
- سینی لام
- لامهای میکروسکوپ
- ورقه های کاغذی برای لامهای مونته شده ، در اندازه های مختلف
- مواد شوینده
- میکروپیپت
- پارچه خشک برای خشک کردن لام
- سرنگ یک بار مصرف (ظرفیت ۵ میلی لیتر) و سر سوزن
- لوله های حاوی EDTA (ظرفیت ۵ میلی لیتر)
- دستکش های محافظ (بدون پودر)
- رنگ و بافر
- دسیکاتور و ژل سیلیکای فعال
- فرمهای ثبت داده (دارای کد) ،
- نشانگر عدسی شی ای
- دوربین های دیجیتال و ضمائم آن، برای میکروسکوپ (اختیاری)

مسئولیت سازماندهی، برنامه ریزی و اجرای فعالیتهای بانک لام باید به عهدهٔ حداقل یک متخصص آزمایشگاه مستقر در آزمایشگاه رفرانس مالاریا باشد . این متخصص باید در تمام فعالیت های تشخیصی انگل مالاریا بسیار ماهر و برای سازماندهی و نظارت بر کارکنانی که در عملیات بانک لام آموزش دیده اند دارای توانایی های اثبات شده باشد. حد اقل دو کارمند آزمایشگاه در طول مدت ایجاد بانک باید با متخصص آزمایشگاه بصورت تمام وقت همکاری نمایند . کارکنان بیشتری نیز ممکن است در مدت جمع آوری لام از فیلد مورد نیاز باشد که یک امر ثانوی است و با موافقت قبلی سازمان می تواند انجام شود. افراد برای انجام فعالیتهای مربوط به بانک کشوری لام باید بازآموزی گردند.

با توجه به شرایط محلی پیشنهاد می گردد در مناطقی که احتمال مواجه شدن شدن با بیمار مالاریا وجود دارد سایتهای محلی جمع آوری لام جهت بانک لام مالاریا ایجاد گردد. سایتهای زیر به این منظور پیشنهاد می گردد:

- در دانشگاه علوم پزشکی ایرانشهر مراکز بهداشت/بهداشتی درمانی سرباز و پیشین

- در دانشگاه علوم پزشکی زاهدان مراکز بهداشت/بهداشتی درمانی چابهار، سراوان، مهرستان
- در دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان مراکز بهداشت/بهداشتی درمانی ملی میناب، جاسک، بندرعباس، لنگه و قشم
- حداقل یک مرکز بهداشتی درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی جیرفت با بیشترین تعداد موارد مالاریا
- حداقل یک مرکز بهداشتی درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی فارس با بیشترین تعداد موارد مالاریا
-
- حداقل یک مرکز بهداشتی درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بوشهر با بیشترین تعداد موارد مالاریا
- حداقل یک مرکز بهداشتی درمانی وابسته به هز یک از دانشگاه علوم پزشکی تهران و شهید بهشتی با بیشترین تعداد موارد مالاریا
- حداقل یک مرکز بهداشتی درمانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی قم با بیشترین تعداد موارد مالاریا
- مرکز بهداشت استان اردبیل (جهت تهیهٔ لام بورلیا)

نکات مهم:

- رنگ آمیزی لامهای تهیه شده در سایتهای فیلدی ترجیحاً در مرکز بهداشت شهرستان و یا استان صورت گیرد.
- از تیمهای سیار دو نفره نیز می توان برای تهیهٔ لام از مناطق خارج از دسترس سایتها استفاده برد.
- کارکنان سطوح ستادی بانک لام در سطح شهرستان و استان باید حداقل دارای مدرک کاردانی علوم آزمایشگاه و صلاحیت تأیید شده تشخیص میکروسکوپی مالاریا در حد "خبرگی" باشند.
- کلرکنان بانک لام بهتر است در دو سطح آموزش ببینند:
  - بمدت دو روز در زمینهٔ تهیهٔ نمونه و رقیق کردن خون
  - حداقل ده روز برای رنگ آمیزی، تشخیص و شمارش انگل

تکنیکهای استاندارد انتخاب دهندهٔ خون مناسب، نمونه گیری، رنگ آمیزی و مونته کردن در کتاب " مالاریا، با مروری بر مباحث ژنتیک، روشهای تشخیص و تضمین کیفیت تشخیص میکروسکوپی " آورده شده است.

برنامهٔ اقدام (Action Plan) پیشنهادی برای تأسیس بانک لام کشوری

ردیف	فعالیت	مسؤل اجرا
۱	تشکیل کمیتهٔ اجرایی و تدوین سیاستها ، استراتژیها و برنامهٔ تفصیلی شامل براورد هزینه و توصیف وظایف	ادارهٔ کنترل مالاریا
۲	تعیین فضا ، تأمین تجهیزات و تهیهٔ SOP های مورد نیاز	ادارهٔ کنترل مالاریا
	انتخاب و آموزش کارکنان مسئول	ادارهٔ کنترل مالاریا
۳	تعیین مسائل اخلاقی مربوط به انتخاب دهندهٔ نمونهٔ خون و تعیین شرایط نگهداری و عرضه به استفاده کنندگان لام	ادارهٔ کنترل مالاریا

۴	جمع آوری نمونه، تهیهٔ گسترش و رنگ آمیزی	بانک کشوری لام
۵	تأیید لامها و نگهداری و توزیع آنها	بانک کشوری لام

دستورالعمل شماره هشت: نگهداری میکروسکوپ

نگهداری میکروسکوپها بصورت خوب و قابل اعتماد یک نیاز ضروری برای تشخیص میکروسکوپی دقیق مالاریا است . میکروسکوپ دو چشمی با عدسی چشمی X7 یا X10 و لنز (x100) روغن ایمرسیون با منبع نور الکتریکی استاندارد "طلایی" می باشد. استفاده از فیلترهای آبی برای تغییر نور لام پ های الکتریکی معمولی به نور سفید طبیعی تر نیز توصیه می شود. کیفیت روغن ایمرسیون با ضریب شکست ۱.۵ باید بالا بوده و بر اساس توصیه های شرکت سازنده از آن استفاده نمود.

دستور العمل فنی میکروسکوپ

نحوه نگهداری

میکروسکوپ باید در یک محیط تمیز نصب شود که دور از مواد شیمیایی، نور مستقیم خورشید، منبع حرارت یا رطوبت باشد. رطوبت و دمای بالا باعث رشد قارچ ها شده که می تواند به سطوح میکروسکوپ آسیب برسانند. نگهداری در یک محیط بسته باعث رشد قارچ می شود . در آب و هوای مرطوب و در یک محیط کوچک نیاز به مصرف مواد خشک کننده مثل کلرید کلسیم است.

بعد از استفاده از عدسی ایمرسیون باید آن را توسط ورقه های مخصوص پاک کردن عدسی (lens papers) یا کاغذ جاذب یا پارچه نرم یا پنبه بدون کرک پاک کنید . سایر عدسی ها(چشمی وشیئی) را که آلوده به روغن شدند باید با کمی محلول تمیز کننده شامل دی اتیلن اتر ۷۰٪ و اتانول ۳۰٪ پاک گردند.

عدسی ها نباید درالکل گذاشته شوند چون داربست آنها حل می شود . سایر قسمت ها با یک دترژانت خفیف پاک شود. روغن و چربی ابتدا توسط اتر پترولئوم وسپس محلول ۴۵٪ اتانول در آب مقطر تمیز شود.

اگر داخل عدسی چشمی غبار رفته باشد باید باز و تمیز گردد.

در صورت نیاز، کندانسور وعدسی دیافراگم با پارچه نرم آغشته به گزیلول یا تولوئن تمیز شود . آیینه با پارچه آغشته به الکل ۹۵٪ تمیز شود. مراقب باشید دیافراگم بسیار حساس بوده واگر آسیب ببیند معمولا تمیز نمی شود.

بخش های مکانیکی متحرک باید به سهولت حرکت کند. هرقسمتی که به سختی کار کند، نیاز به روغن کاری دارد. باید از روغن مناسب استفاده شود وتوجه به این نکته ضروری است که روغن گیاهی خشک شده وسفت می گردد . این عمل برای پیچ تنظیم coarse، پیچ تنظیم fine، حرکت کندانسور و صفحه لام انجام می گیرد . توصیه می شود به طور مرتب قسمت های متحرک تمیز و روغنکاری شود . این لغزندگی نه تنها باعث حرکت روان قسمت ها شده بلکه ساییدگی را کاهش داده و از خوردگی جلوگیری می کند . سطح ثابت صفحه لام باید خشک نگه داشته شود . اگر لامی خیس باشد به سختی حرکت می کند و در نتیجه به صفحه لام فشار آورده و به آن صدمه وارد می کند.

دستورالعمل شماره نه: نکات ایمنی در آزمایشگاه مالاریا

اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه

مقدمه

در آزمایشگاه انواع عوامل مخاطره که برخورد با آن ها بدون رعایت صحیح اصول ایمنی می تواند نه تنها سلامت کارکنان بلکه محیط زیست و جامعه را تهدید نماید.

نکات مهم:

- کارکنان در بخش های فنی و نمونه گیری باید از پوشش مناسبی برای محافظت در برابر آلودگی با توجه به نوع کار و امکان تماس با عوامل بیماریز بر اساس دستورالعمل های وزارت مبتوع و سازمان جهانی بهداشت استفاده نمایند،
- وسایل شخصی کارکنان ازمایشگاه باید در قفسه هایی که ترجیحاً خارج از بخش فنی نصب شده اند، قرار داده شوند.
- شست و شوی دست ها به عنوان یکی از مهم ترین اقدامات جهت پیشگیری از انتقال عوامل بیماری زا شناخته می شود، به همین منظور توصیه می گردد که کارکنان در کلیه مواردی که با بیماران یا نمونه های آن ها سر و

کار دارند، پس از تماس اتفاقی پوست با نمونه ها، در فاصله زمان ی تعویض دستکش ها، قبل از خوردن و آشامیدن و پس از اتمام کار روزانه و قبل از ترک آزمایشگاه دست ها را شست و شو دهند. جهت این کار استفاده از صابون مایع قویاً توصیه می گردد، مواد ضد عفونی کننده مناسب نیز باید در اختیار باشد.

- استعمال دخانیات در همه بخش های فنی آ زمایشگاه باید ممنوع گردد چرا که نه تنها خطر ایجاد آتش سوزی را در محیط آزمایشگاه به علت وجود مواد شیمیایی با خطر اشتغال زایی، بالا می برد بلکه می تواند عامل انتقال میکروارگانیسم ها و مواد توکسیک از سطوح کاری به کارکنان گردد.
- آزمایشگاه باید دارای جعبه کمک ه ای اولیه باشد، این جعبه باید در محل مناسبی قرار داشته و حاوی اقلام و داروهای مورد نیاز جهت برخورد با مواد غیر مترقبه باشد.
- در بدو استخدام همه کارکنان آزمایشگاه باید در برابر بیماری هپاتیت B واکسینه شوند.
- از خوردن و آشامیدن در بخش های فنی باید اجتناب گردد.
- از نگهداری مواد غذایی در یخچال های مستقر در بخش فنی که محتوی نمونه های بیماران هستند اکیداً باید خودداری گردد. یخچال های مخصوص مواد غذایی باید مجزا بوده و در فضای آبدارخانه قرار گیرند.
- پیپت کردن با دهان ممنوع است، همچنین نباید قطرات انتهایی نمونه با فش ار زیاد از پیپت خارج گردد زیرا ممکن است باعث ایجاد قطرات بسیار ریز معلق در هوا (آئروسل) شود.
- سوزن های استفاده شده یکبار مصرف نباید با دست از سرنگ جدا گردد و یا درپوش سرسوزن مجدداً روی آن قرار گیرد.
- احتیاط در هنگام کار با وسایل تیز و برنده مانند سرسوزن یا لانست ضروری است. بریدن، خم کردن یا شکستن سوزن های استفاده شده، نادرست است.
- هنگام کار با مواد الوده به ویروس و باکتری از تماس دستکش با دستگیره درب، گوشی تلفن و وسایل مشابه در آزمایشگاه باید خودداری شده و قبل از استفاده از این وسایل دستکش ها از دست خارج گردند. در موارد ضروری می توان جهت جلوگیری از آلودگی، از پوشش های پلاستیکی بر روی صفحه کلید کامپیوتر، تلفن ها و غیره، استفاده نمود.
- پوشیدن دستکش (در صورت لزوم دو دستکس) زمانی که امکان آلودگی با خون و مایعات بدن وجود دارد، توصیه می گردد. با وجود این هنگام استفاده از دستکش نیز باید لزوم حفاظت فیزیکی کافی در مقابل سوراخ شدن اتفاقی آنها به وسیله وسایل تیز مد نظر قرار گیرد.
- بیشتر کارکنان آزمایشگاه هنگام کار از دستکش های لاتکس استفاده می کنند ولی حدود ۶-۱۷٪ افراد ممکن است به لاتکس حساسیت داشته و درماتیت های تماسی آلرژیک در نتیجه وجود مواد شیمیایی موجود در طی مراحل تولید لاتکس با مواد دیگر موجود در این دستکش ها در آن ها دیده شود . استفاده از دستکش های نخی زیر دستکش های لاتکس و یا دستکش های بدون مواد شیمیایی معمولاً از بروز درماتیت های آلرژیک جلوگیری می کند. در صورت امکان می توان از، دستکش های بدون پودر و یا دستکش های ساخته شده از جنس نیتریل، پلی اتیلن و یا مواد دیگر نیز استفاده نمود.
- بعد از اتمام کار روزانه و هم چنین بعد از وقوع آلودگی باید سطوح کاری را فوراً با مواد ضدعفونی کننده مانند هیپوکلریت سدیم با رقت پنج گرم در لیتر یا ۰/۵ گرم درصد و یا هرگونه محلول سفید کننده خانگی که به

نسبت ۱/۱۰ رقیق شده باشد به شرط اینکه دارای کلر فعال ۵٪ باشند، و یا از محلول های تجاری ضدعفونی نمود.

- یخچال، فریزر، بن ماری، سانتریفوژ و غیره باید به طور مرتب تمیز شده و نیز به طور متناوب مطابق با برنامه زمان بندی که به وسیله مسئول آزمایشگاه تعیین می گردد، ضدعفونی گردند . مخصوصاً در صورتی که آلودگی مهمی به وجود آید باید فوراً این عمل انجام شود. جهت ضدعفونی نمودن وسایل و تجهیزات قبل از سرویس یا تعمیر آن ها در داخل آزمایشگاه و یا قبل از ارسال آ ن ها به خارج از آزمایشگاه می توان از محلول الکل ۷۰٪ و یا محلول های تجارتی استفاده نمود.
- جهت نظافت کف آزمایشگاه می توان از رقت ۱/۵۰ محلول سفید کننده خانگی به شرط اینکه دارای کلر فعال ۵٪ باشد و یا از محلول های تجارتی استفاده نمود.
- در هنگام تمیز کردن سطوح، کف و وسایل آزمایشگاه باید دستکش، گان و لباس های حفاظتی مناسب پوشیده شود.

نکته مهم: وسایل و تجهیزات قبل از انتقال به بیرون از آزمایشگاه جهت تعمیر و یا تعمیر در داخل آزمایشگاه باید با مواد ضدعفونی کننده مناسب، ضدعفونی گردند

- متانول (متیل الکل) بسیار سمی و قابل اشتعال است . متانول در صورت خورده شدن در هر مقداری می تواند باعث کوری و حتی مرگ شود. در مواقعی که استفاده نمی شود باید داخل قفسه ای قفل شده قرار گیرد

- **آلودگی با خون یک خطر بالقوه برای کارکنان و بیمار می باشد. اقدامات احتیاطی زیر را بکار بندید:**

  - ✓ هنگام کار با خون از دستکشهای محافظ استفاده کنید و قبل از ترک محیط کار یا نوشتن نکات آنها را از دستتان خارج کنید.
  - ✓ نگذارید انگشتان و یا دستها به خون مرطوب یا خشک برخورد نماید.
  - ✓ بریدگی ها را با یک پوشش ضد آب بپوشانید.
  - ✓ مانع مجروح شدن فرد یا ابزار تیز آلوده شوید.
  - ✓ لانستها و سرسوزنها را فقط یکبار استفاده کنید و پس از مصرف آنها را داخل یک محفظه مخصوص اجسام تیز قرار دهید.
  - ✓ پس ازاتمام هر کاری دستها را با آب و صابون بشوئید.
  - ✓ خون را از روی پوست بسرعت بوسیلۀ پنبه الکلی پاک کنید.

دستورالعمل استاندارد شماره ده: کیت های تشخیصی سریع

کیت های تشخیصی سریع امکان تشخیص مبتنی بر انگل بدون محدودیتهای تشخیص میکروسکوپی را فراهم آورده، فوائد چشمگیری را در مدیریت بیماریهای تبدار در مناطق دوردست بهمراه داشته اند . حساسیت و ویژگی کیت های تشخیص مالاریا که در کشور استفاده می گردد در حد قابل قبولی است . حساسیت برای تشخیص عفونت های ویواکس و فالسیپاروم با عفونت های شدید و متوسط در حد ۱۰۰ درصد بوده و برای تشخیص عفونت های کم انگل با کمتر از ۲۰۰ انگل در میکرولتیر حدود ۹۶٪ ارزیابی می گردد. در مجموع حساسیت کیت برای تشخیص فالسیپاروم ۹۸ درصد و برای وویواکس ۹۶٪ می باشد. ویژگی کیت های مورد استفاده در کشور در حد ۹۸٪ می باشد و با تشخیص میکروسکوپی توسط میکروسکوپیست ماهر برابری می کند . . به طور کلی، به نظر می رسد RDT ها یک ابزار تشخیصی بسیار با ارزش و سریع برای تشخیص مالاریا باشند، اما در حال حاضر از روشهای دیگر نیز بطور توأم برای تایید نتایج، تشخیص عفونت و پایش درمان باید استفاده نمود . امروزه بدلیل سادگی و قابلیت اطمینان، استفاده از RDT ها در مناطق مالاریا خیز روستایی، بیمارستانها ، مناطق غیر بومی از لحاظ مالاریا که متاثر از موارد مالاریای وارده افزایش یافته است.

این تستها بر اساس شناسایی آنتی ژنهای انگلهای مالاریا در خون لیز شده با استفاده از روشهای ایمنوکروماتوگرافی انجام می شوند. این کیت از یک dipstic یا استریپ پوشیده از مونوکلونال آنتی بادی فعال شده بر علیه Ag های هدف تشکیل شده اند و انجام آنها در مدت ۲۰ دقیقه ممکن است.

در کیت موجود در کشور از آنتی ژنهای زیر استفاده می کنند:

- Ag های رایج شامل Histidin-Rich Protein II قابل حل شدن در آب و تولید شده بوسیله تروفوزوئیت و گامتوسیت جوان پلاسمودیوم فالسی پاروم.
- لاکتات دهیدروژناز یا (pLDH) تولید شده توسط مراحل غیر جنسی و گامتوسیتهای کلیه انگلهای مالاریا.

فواید تستهای تشخیصی سریع :

- ساده
- سریع
- تفسیر ساده
- یادگیری ساده
- عدم تفسیر متفاوت توسط افراد مختلف
- عدم نیاز به تجهیزات مثل میکروسکوپ، فضا ، برق و ...
- قابل نگهداری در شرایط معمولی
- مفید برای تشخیص موارد Sequestered پلاسمودیوم فالسی پاروم

معایب تستهای تشخیصی سریع:

- در مورد پلاسمودیوم فالسی پاروم تا ۱۴روز مثبت است که با مقاومت دارویی اشتباه می شود.
- مثبت کاذب برای فاکتور روماتوئید
- کیفی است . کمیت را (شمارش انگلی) را نشان نمی دهد.
- قادر به تمایز عفونت میکس و افتراق بین ویواکس ، مالاریه و اوال نیست
- در شناسایی اشکال مختلف انگل در خون ناتوان است

. کیت

نکات مهم:

- یک کیت منفی موید عدم ابتلا به مالاریا نیست و توصیه می شود لام خون محیطی نیز در موارد شک شدید به مالاریا که کیت منفی است تهیه شود.
- توصیه می شود از همه مواردی که نتیجه ازمایش کیت مثبت است لام خون محیطی تهیه شود و امکان عفونت میکس با دقت بررسی شود.
- درمان بیمار دارای نتیجه مثبت کیت باید بلافاصله انجام شود و نباید منتظر نتیجه ازمایش لام خون محیطی ماند. در صورتی که نتیجه ازم‌ایش کیت مثبت ولی لام منفی بود درمان بیمار باید انجام شود و مورد به عنوان بیمار مبتلا به مالاریا گزارش می گردد.
- در بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپارم که انگل ها به جداره عروق چسبیده اند ممکن است لام خون محیطی منفی کاذب باشد اما کیت تشخیص سریع مثبت باشد . لذا توصیه می شود در بیمارانی که مشکوک به مالاریا هستند اما لام خون محیطی انها منفی است ضمن تکرار ازمایش لام خون محیطی (حداقل ۳ نوبت در فاصله ۴۸ ساعت) و در صورت دسترسی با کیت تشخیص سریع نیز ازمایش شوند.

کنترل کیفیت کیت تشخیص سریع:

- توصیه می شود علاوه بر انجام Lot test در مراکز همکار با سازمان جهانی بهداشت یک پایگاه دیده ور در یکی از آزمایشگاههای تایید اعتبار شده تاسیس شود و میزان حساسیت و اختصاصی بودن کیت های توزیع شده در محیط که عمر ان حدود یکسال می باشد در برابر استاندارد طلایی که می تواند نتیجه ازمایش میکروسکوپی (نتیجه ازمایش لام توسط دو میکروسکوپیست مستقل با تجربه تایید شود) چک شود. در این راستا توصیه می شود حداقل ۵۰ لام خون محیطی از هر Batch محصول به این روش تست شود. نمونه ها به صورت مساوی از انبار مرکزی و نیز فیلد به صورت تصادفی انتخاب شود.
- معیار قضاوت در مورد کارایی کیت دستورالعمل های سازمان جهانی بهداشت می باشد.

شرایط آزمایشگاهی و فیلدی مناسب برای کاربرد RDT:

- نور و درجه حرارت مناسب
- قفسهٔ اختصاصی برای ذخیره سازی.
- فضای کافی روی میز کار برای انجام آزمایش و ثبت نتایج و تکمیل فرمها
- صندلی برای بیمار و آزمایش کننده.

• فضای کافی روی دیوار برای نصب bench aids و راهنماها

• این کیتها هنگامی که در درجه حرارت بالاتر یا پایین تر از آنچه شرکت سازنده توصیه کرده قرار بگیرند بسر عت کیفیتشان پایین می آید لذا رعایت این موضوع ضروری است . محل ذخیرۀ RDTs باید دارای ترمومتر و رطوبت سنج باشد.درجه حرارت اتاق باید روزانه اندازه گیری و ثبت شود . در حمل و نگهداری کیت ها باید دقت شود که محد.وده دمایی ۴ تا ۳۰ درجه سانتی گراد حفظ شود . از یخ زدگی و یا قرار گرفتن کیت در دمای طولانی باید اجتناب شود. توصیه می شود کیت ها به تدریج در سطوح محیطی توزیع و از دپوی مقدار زیادی در خارج از انبارهای شهرستان و استان خودداری شود. تاکید می گردد که کیت ها در انبار دارویی که دمای ان کنترل شده است نگهداری شود و در مراکزی که از کیت استفاده می کنند مانند خانه های بهداشت، ازمایشگاهها و مراکز بهداشتی درمانی در مناطق گرمسیر در قسمت پایین یخچال در محدوده دمایی بالای ۴ درجه نگهداری شود.

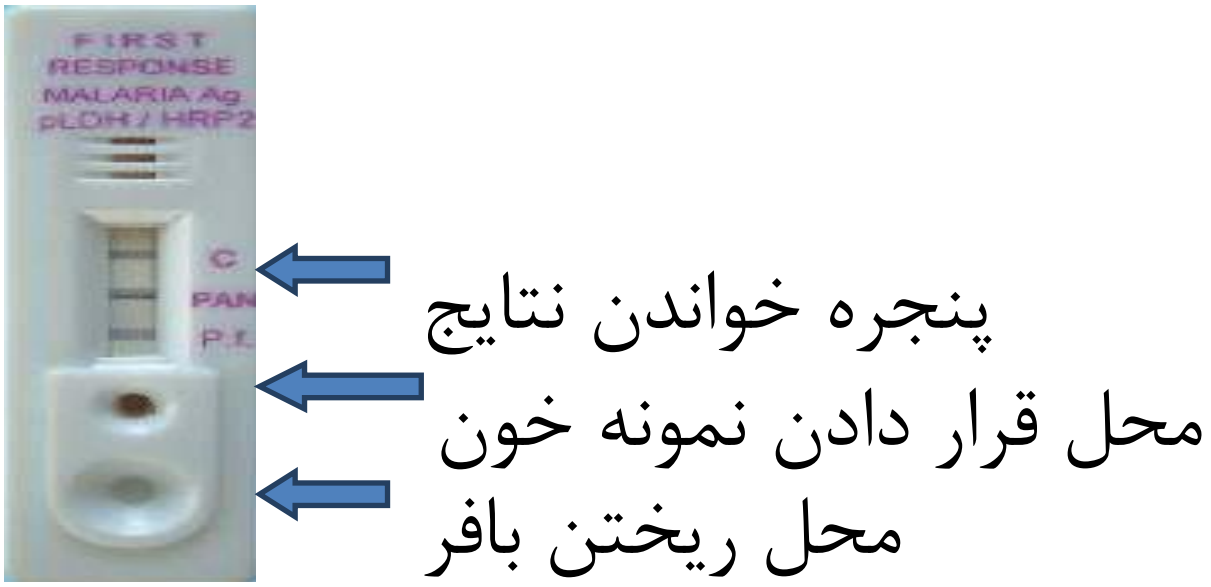
• قبل از باز کردن بسته بندی RDT، آزمایش کننده باید اطمینان حاصل کند که تاریخ مصرف RDT تمام نشده است و این که بسته بندی آسیب ندیده است.

• هر Batch از کیت ممکن است حاوی تغییراتی در طرز مصرف باشد لذا این موضوع باید توسط مسئولان مربوطه بدقت مورد توجه ق رار گیرد و در صورت وجود تغییرات هر چند جزئی راهنمای مربوطه در بسته بندی گنجانیده شود. همۀ راهنما ها ی قبلی باید بایگانی و راهنمای جدید جایگزین شوند.

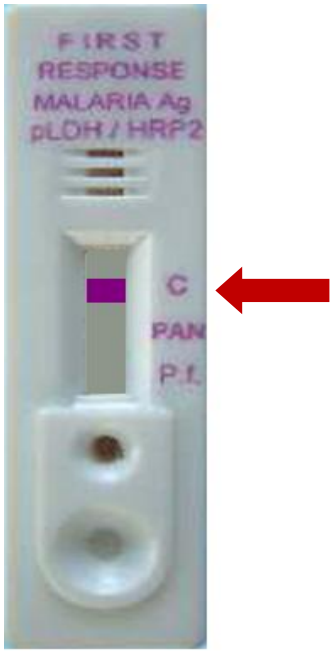
• وجود باند کنترل برای تأیید صحت نتیجه ضروری است و در صورت عدم وجود آن نتایج بهیجوجه قابل قبول نمی باشد

• گاه ی اوقات امکان بروز منفی کاذب علیرغم وجود علایم مالاریا وجود دارد . در این حالت حتماً آزمایش تکرار شود و یا از روش تشخیص میکروسکوپی استفاده شود.

• در پارازیتمی کمتر از ۲۰۰ انگل در هر میکرولیتر خون نیز ممکن است منفی کاذب اتفاق بیفتد.

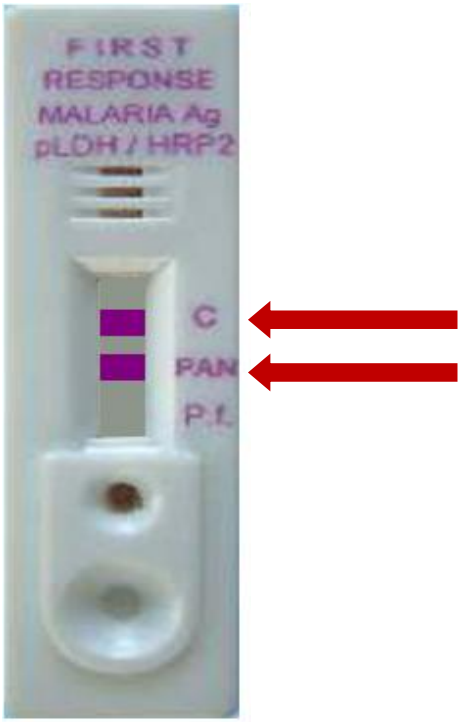


تصویر...: نحوهٔ خواندن نتایج RDT



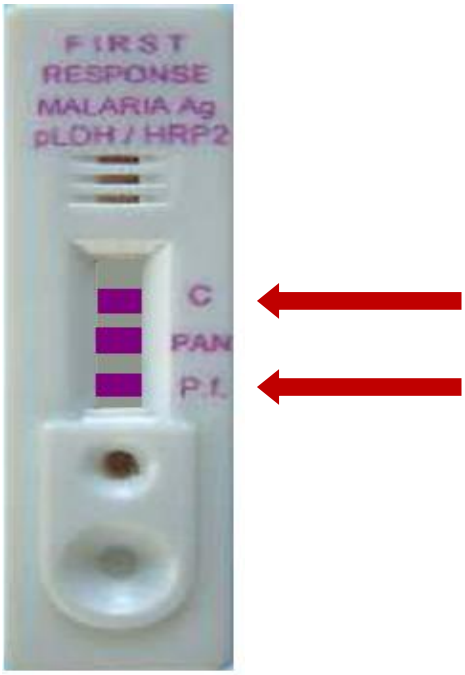
نتیجه منفی:

فقط یک نوار صورتی-بنفش در قسمت کنترل (قسمت C) از قسمت نتایج کیت مشاهده می‌شود.



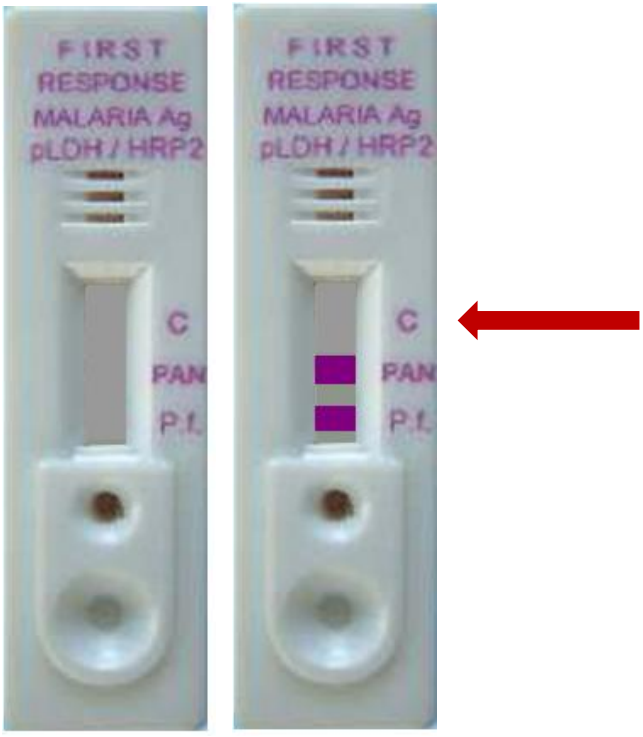
نتیجه مثبت پلاسمودیوم ویواکس:

دو نوار صورتی-بنفش در قسمت علامت گذاری شده PAN و کنترل (C) مشاهده می شود



نتیجه مثبت پلاسمودیوم فالسیپاروم:

یا سه نوار صورتی-بنفش در قسمت علامت گذاری شده P.f.، PAN و کنترل (C) مشاهده می شود



در صورتی که هیچ نوار رنگی بر روی تست روی قست کنترل پدید نیاید، ، تست فاقد اعتبار بوده و می بایست با کیت دیگری آزمایش شود.

دستورالعمل شماره یازده: تشخیص دقیق میکروسکوپی

کاهش موارد منفی کاذب و کاهش اشتباه در تشخیص موارد عفونت میکس

تشخیص صحیح لامهای مالاریای کم انگل و عفونت میکس از جمله چالشهای مهم تشخیص میکروسکوپی مالاریا هستند . بررسی های انجام شده نشان می دهد که درصد قابل توجهی از اشتباهات تشخیصی میکروسکوپیستهای مالاریا، که منجر به رد صلاحیت تشخیصی آنان گردید، مربوط به عدم تشخیص صحیح لامهای کم انگل بخصوص مربوط به پلاسمودیوم فالسی پاروم و عدم تشخیص موارد عفونت میکس پلاسمودیوم فالسی پاروم و پلاسمودیوم ویواکس بود ه است. جهت رفع این نقیصه، علاوه بر ضرورت توجه به کلیهٔ توصیه ها و رعایت تمام استانداردهای مورد اشاره در این مجموعه بویژه استانداردهای تهیهٔ نمونه و رنگ آمیزی و نیز استفاده از مواد و وسایل با کیفیت و استاندارد، بررسی بیش از ۲۰۰ فیلد جهت تشخیص لام در موارد زیر مورد تأکید است:

- لامهای تعقیب موارد
- لامهای موارد افغانی و پاکستانی
- لامهای کسانی که سابقه مالاریا در گذشته دارند
- لام کسانی که برای بیش از ۲ هفته بدون دلیل مشخص تب داشته اند
- لام کسانی که از نظر بالینی قویا تشخیص مالاریا مطرح بوده ولی نتیجه لام منفی است . بدیهی است در این موارد ضمن بررسی دقیق لام خون محیطی می توان ازمایش را تکرار نمود.

ضروری است جهت کاهش موارد منفی کاذب و کاهش اشتباه در تشخیص موارد عفونت میکس، کلیهٔ لامهای مثبت، حد اقل ۵۰٪ لامهای تعقیب موارد و حد اقل ۱٪ لامهای منفی بویژه در کانونهای در معرض خطر با روش مولکولی (PCR) در یک آزمایشگاه مولکولی استاندارد توسط متخصصان ذیصلاح مجدداً آزمایش شوند. همچنین استفاده از روش مولکولی برای یافتن ذخایر پنهان در افراد بدون علامت و یا با پارازیتمی کمتر از ۲۰۰ انگل در میکرولیتر در کانونهای فعال قدیمی توصیه می شود.

دوره های بازآموزی تشخیص میکروسکوپی مالاریا

در این دوره ها باید تلاش نمود صلاحیت را افزایش داد و آنرا ارزیابی نمود . در هر صورت، زمان اختصاص داده شده به ارزیابی باید به اندازهٔ کافی باشد تا این اطمینان ایجاد شود که به میکروسکوپیستهای ضعیف اعتبار صلاحیت بالا داده نشود و میکروسکوپیستهای ماهر هم بخوبی شناسایی شوند.

- آموزش نفر به نفر بین مربی / تسهیل کننده و شرکت کنندگان ضروری است . بنابر این، تعداد شرکت کنندگان باید بشدت محدود باشد، مثلاً حداکثر ۱۲ نفر در هر گروه.
- مدت دوره باید حداقل ۵ روز باشد تا زمان کافی برای ارزیابی و افزایش مهارتهای مورد نیاز وجود داشته باشد و در عین حال فقدان میکروسکوپیست در محیط کار لطمه زیادی به آن وارد ننماید.
- دوره های بازآموزی باید حداقل شامل موارد زیر باشد:
  - تهیه و رنگ آمیزی گسترشهای خونی
  - فرایندهای حفظ سلامتی هنگام کار کردن با مواد بیولوژیک (biosafety)
  - استفادهٔ صحیح و نگهداری میکروسکوپ
  - تضمین کیفیت و کنترل کیفیت صحیح
- این برنامه باید شامل پیش آزمون نظری و عملی در آغاز دوره (با بازخوراند سریع) و یک ارزیابی عملی باشد که منجر به اعتباردهی گردد.
- جلساتی نیز برای مرور تشخیص شبه انگلها، شامل گسترشهای حاوی باکتری و قارچ و خطاهای شایع رنگ آمیزی باید در نظر گرفته شود.

- باید یک ماه قبل از تشکیل دوره یک کپی از برنامهٔ آموزشی دوره و مطالب کمک اموزشی مناسب به شرکت کنندگان ارائه شود تا فرصت نمایند که آنها را مطالعه کنند. در صورت امکان، سایر منابع آموزشی از قبیل سی دی لامهای گسترشهای خونی، یا سری لامهای مالاریا نیز در اختیار شرکت کنندگان قرار گیرد.
- تمام برنامه های آموزشی تشخیص مالاریا باید روشهای اجرایی استاندارد (SOPs) داشته باشند که در برگیرندهٔ اصول نگهداری میکروسکوپ، نحوهٔ تهیهٔ گسترش خونی و رنگ آمیزی باشند . همهٔ روشهای اجرایی استاندارد مورد استفاده در دوره بهمراه برنامهٔ دوره، حداقل یکماه قبل از برگزاری باید در اختیار شرکت کنندگان قرار گیرد.
- صلاحیت تمام شرکت کنندگان باید قبل و در پایان هر دوره ارزیابی شود. ارزیابی نهایی باید گسترده تر و مبنایی برای اعتباردهی به صلاحیت باشد. مرور عناصر اساسی میکروسکوپی مالاریا، و بازبینی تک تک لامهای مشکل و مطالعهٔ اشتباهات پیش آزمون هم باید در دوره گنجانده شود.
- فضای آرام برای آزمون مهم است و شرکت کنندگان باید فرصت آشنا یی با محیط و تجهیزات را قبل از آغاز ارزیابی داشته باشند. برای حفظ سکوت، آ رامش و عدم افشای موارد آزمون باید شرایط آزمون جدی و سختگیرانه باشد.
- برای هر کدام از شرکت کنندگان باید میکروسکوپهای دو چشمی با نور الکتریکی با کیفیت بالا فراهم نمود و زمان کافی برای آزمایش هر یک از لامهای مورد آزمون را در اختیارشان قرار داد . هر لام ارزیابی باید یک رمز (کد) تصادفی داشته باشد .
- استفاده از منابع نوشتاری و تصویری در طول آزمون می بایستی مجاز باشد زیرا هدف ارزشیابی صلاحیت شرکت کنندگان در محیط طبیعی کار است نه ارزشیابی حافظهٔ شرکت کنندگان . بنابر این هر شرکت کننده باید به منابعی نظیر راهنماهای تشخیص مالاریا دسترسی داشته و بتواند آنها را در طول آزمون بهمراه داشته باشد. با این حال، دقت و صحت هر گونه مستندات اضافی باید توسط مربی / تسهیل کننده بررسی شود.
- ارزیابی قبل از دوره (پیش آزمون) هر شرکت کننده باید مبتنی بر یک آزمون نظری کتبی و یک آزمون عملی، برای بررسی صلاحیت شرکت کنندگان در آزمایش یک پانل مشابه ولی کوچکتر از ارزیابی نهایی باشد. با این کار می توان نتایج پیش آزمون و ارزیابی نهایی را مقایسه کرد.

توصیه می شود که:

- تمام میکروسکوپیستهای مالاریا بفاصلهٔ حداکثر هر ۲ سال مهارت آموزی مروری شوند
- طول دورهٔ مهارت آموزی مروری باید حداقل یک پنج روز باشد
- در دوره های مهارت آموزی مروری باید در مورد شناسایی گونه ها و شمارش انگل تاکید شود و کلیه میکرووسکوپیست ها باید توانایی شمارش انگل را داشته باشند
- ارزیابی مجدد صلاحیت میکروسکوپیستها از طریق آزمون هر سه سال یکبار بسیار مهم است.
- اگر طی بررسی لامها عملکرد میکروسکوپیستها ضعیف تشخیص داده شد و ثابت شد که ضعف در تشخیص بعلت صلاحیت ناکافی میکروسکوپیست بوده است، پس از بررسی کار آنان طی بازدیدهای فیلدی، اقدامات زیر باید انجام گیرد:
  - بازدیدهای مشورتی بیشتری برای آموزشهای اصلاحی ترتیب داده شود
  - ۳-۲ ماه فرصت به میکروسکوپیست داده شود تا کار خود را اصلاح نماید
  - در صورت امکان بازآموزی رسمی باید انجام شود (از جمله حضور در دورهٔ بعدی)
  - اگر عملکرد فرد ضعیف است، بینایی او بررسی شود

- اگر با وجود اقدامات ذکر شده شخص نتواند عملکرد خود را بهبود بخشد، نباید به وی اجازهٔ آزمایش و گزارش لامهای مالاریا داده شود.

تصویر شماره ۱۰: آزمونهای نظری و عملی تعیین صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیستهای مالاریا (گیلان، ۱۳۹۳)

تصویر .شماره ۱۱: آزمونهای نظری و عملی تعیین صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیستهای مالاریا (...، ۱۳۹۳)

تصویر شماره ۱۲ آزمونهای نظری و عملی تعیین صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیستهای مالاریا (...، ۱۳۹۳)

یک نمونه از دورهٔ مهارت آموزی برای ارزیابی صلاحیت میکروسکوپیستهای سطح محیطی در ادامه آورده شد ه است

طرح درس دوره بازاموزی میکروسکوپیستی :

ه نام خدا

کارگاه فشرده تشخیص میکروسکوپی پایهٔ مالاریا

مرکز بهداشت استان .....

..... لغایت .... ماه سال .....

روز اول

ساعت	موضوع	نحوه اجرا	مدرس
۹ – ۸/۳۰	تلاوت آیات قرآن مجید ، خیرمقدم وافتتاح کارگاه		
۱۲- ۹	پیش آزمون نظری و عملی		
۱۴ – ۱۲/۳۰	نماز و نهار		
۱۴/۳۰ - ۱۴	مالاریا (وضعیت در جهان و کشور ،عوامل ،بیماریزایی ، تشخیص آزمایشگاهی)	سخنرانی	
۱۵ – ۱۴/۳۰	تضمین کیفیت تشخیص میکروسکوپی و جایگاه آن در برنامهٔ حذف مالاریا	سخنرانی	
۱۵/۳۰ – ۱۵	دستورالعملها و استانداردهای ثبت نام بیماران و نظام گزارش دهی مالاریا ، نشانه های ازمایشگاهی و بالینی مالاریای شدید و افراد در معرض خطر	سخنرانی	

۱۷– ۱۵/۳۰	محلول سازی، تهیه نمونه و رنگ آمیزی گسترشهای خونی	کار در آزمایشگاه	

روز دوم

ساعت	موضوع	نحوه اجرا	مدرس
۸/۲۰ - ۸	ویژگیهای مورفولوژیک پلاسمودیوم ویواکس در گسترشهای نازک و ضخیم خون	سخنرانی	
۱۰ – ۸/۲۰	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم ویواکس در گسترش نازک خون	کار در آزمایشگاه	
۱۰/۲۰ – ۱۰	پذیرایی		
۱۲/۳۰–۱۰/۲۰	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم ویواکس در گسترش ضخیم خون	کار در آزمایشگاه	
۱۲/۳۰-۱۴	نماز و ناهار		
۱۴/۲۰ –۱۴	ویژگیهای مورفولوژیک پلاسمودیوم فالسیپاروم در گسترشهای نازک و ضخیم خون	سخنرانی	
۱۵ – ۱۴/۲۰	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم فالسیپاروم در گسترش نازک خون	کار در آزمایشگاه	
۱۷ – ۱۵	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم فالسیپاروم در گسترش ضخیم خون	کار در آزمایشگاه	

روز سوم

۸/۳۰ - ۸	ویژگیهای مورفولوژیک پلاسمودیوم مالاریه در گسترشهای نازک و ضخیم خون	سخنرانی	
۱۰– ۸/۳۰	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم مالاریه در گسترش نازک خون	کار در آزمایشگاه	
۱۰/۲۰ – ۱۰	پذیرایی		
۱۲/۳۰ – ۱۰/۲۰	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم مالاریه در گسترش ضخیم خون	کار در آزمایشگاه	
۱۲/۳۰-۱۴	نماز و ناهار		
۱۷ - ۱۴	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم فالسیپاروم و پلاسمودیوم ویواکس و پلاسمودیوم مالاریه در گسترش ضخیم خون	کار در آزمایشگاه	

روز چهارم

ساعت	موضوع	نحوه اجرا	مدرس
۱۰ – ۸	مرور مطالب مهم و کاربردی در زمینهٔ انگل شناسی ، تشخیص میکروسکوپی و درمان مالاریا	سخنرانی و پرسش و پاسخ	
۱۰/۲۰–۱۰	پذیرایی		
۱۰/۴۵ – ۱۰/۲۰	روشهای شمارش انگل مالاریا در گسترش خون	سخنرانی	
۱۲/۳۰-۱۰/۴۵	شمارش انگل مالاریا در گسترش خون	کار در آزمایشگاه	
۱۴-۱۲/۳۰	نماز و ناهار		
۱۵-۱۴	کنترل کیفیت داخلی آزمایشگاه مالاریا و چک لیست مربوطه	سخنرانی و بحث گروهی	
۱۷ - ۱۵	مشاهدهٔ لامهای مثبت با کیفیت نامناسب	کار در آزمایشگاه	

روز چهارم

ساعت	موضوع	نحوه اجرا	مدرس
۱۰ – ۸	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم فالسیپاروم در گسترشهای نازک وضخیم خون	کار در آزمایشگاه	
۱۰/۲۰–۱۰	پذیرایی		
۱۲/۳۰ – ۱۰/۲۰	مطالعه میکروسکوپی پلاسمودیوم ویواکس در گسترشهای نازک وضخیم خون	کار در آزمایشگاه	
۱۴-۱۲/۳۰	نماز و ناهار		
۱۷-۱۴	مطالعه میکروسکوپی کلیهٔ پلاسمودیومها در گسترشهای نازک وضخیم خون	کار در آزمایشگاه	

روز پنجم

ساعت	موضوع	نحوه اجرا	مدرس
۱۲ – ۸/۳۰	آزمون پایان دوره نطری و عملی		
۱۲	اختتامیه		

مجموعه نکات آموزشی مهم در مورد مالاریا

(سئوالات آزمون نظری تعیین صلاحیت تشخیصی میکروسکوپیستهای مالاریا)

سؤالات کلیات و سیر تکاملی انگلهای مالاریا

1. **مالاریا یک بیماری عفونی است که لرز، تب ، کم خونی ، سردرد، تهوع استفراغ و درد بدن از نشانه ها ی ان است و می تواند کشنده باشد.**

صحیح O غلط O

2. **پلاسمودیوم عامل ایجاد مالاریا است.** **صحیح O غلط O**
3. **شیزوگونی در میزبان مهره دار و اسپوروگونی در حشره ناقل در همهٔ پلاسمودیومهاانجام می شود .**

صحیح O غلط O

4. **در میزبان مهره دار شیزوگونی هم داخل گلبولهای قرمز (شیزوگونی داخل گلبولی) و هم در سایر بافتها (شیزوگونی خارج گلبولی) انجام می شود .** **صحیح O غلط O**
5. **پشه آنوفل ماده ناقل مالاریا است .** **صحیح O غلط O**
6. **اکثر انگلهای مالاریا بوسیله پشه ها منتقل می شود و انگلهای انسانیمنحصراً بوسیله آنوفل ها انتقال می یابند.**

صحیح O غلط O

7. **شایعه ترین نوع مالاریا در ایران مالاریای ویواکس است.** **صحیح O غلط O**
8. **بیشترین موارد مالاریا در کشور مربوط به استانها سیستان و بلوچستان است.** **صحیح O غلط O**
9. **بیماران مبتلا به مالاریا به دلیل سهولت مسافرت می تواند از مناطق مالاریاخیز به هر نقطه از کشور سفر نمایند و به ازمایشگاه شما مراجعه نمایند، حتی اگر منطقه شما پاک از مالاریا شناخته شده است. .** **صحیح O غلط O**

10. **مالاریای می تواند تمام سنین را مبتلا می کند.** **صحیح O غلط O**
11. **هنگانی که پشهٔ ماده فرد آلوده ای را می گزد خون وی را که احتمالاً حاوی گامتوسیت های نر و ماده است به درون معد ۀ خود می مکد. که بعدا به اسپروزوئیت تبدیل می شود .** **صحیح O**

غلط O

12. **اسپوروزوئیت های از طریق گزش پشه وارد جریان خون شده در مدت 40 دقیقه گردش خون عروقی را ترک کرده و متعاقب آن بی درنگ وارد سلولهای کبد می شوند** **صحیح O غلط O**
13. **تکثیر غیر جنسی یا شیزوگونی (schizogony) در کبد منجر به تولید هزاران مروزوئیت کوچک در هر شیزونت می گردد که با پاره شدن سلولهای کبدی آلوده در جریان خون رها می شوند.** **صحیح O غلط O**
14. **گلبولهای قرمز آلوده در پایان چرخه شیزوگونی پاره شده، مروزوئیتها (merozoites) آزاد گشته، آنها نیز به نوبه خود گلبول های قرمز جدیدی را آلوده می نمایند .** **صحیح O غلط O**
15. **Recrudesence یا ظهور مجدد در فالسیپاروم و مالاریه اتفاق می افتد.** **صحیح O غلط O**
16. **تكثير غير جنسي در هر 4 گونه در سلولهاي كبدي انجام مي گيرد اما در ويواكس و اوال تعدادي از اسپروزوئيتها قبل از تكثير غير جنسي وارد مرحله استراحت مي شوند (هيپنوزوئيت).**

صحیح O غلط O

17. **در ويواكس و اوال فعال شدن مجدد هيپنوزوئيتها پس از هفته ها يا ماهها از سر گرفته مي شود كه سبب عود اختصاصي در اين گونه ها مي شود(Relaps) .** **صحیح O غلط O**

18. هیپنوزوئیتها در P.f و P.m وجود ندارند، عود واقعي هم بوسيله اين گونه ها رخ نمي دهد. صحیح O غلط O
19. در درمان ناقص يا مقاومت انگل نسبت به دارو يا مصونيت نسبي تعداد كمي از اشكال شيزوگوني خوني باقي مي مانند كه با ازبين رفتن عوامل بازدارنده شيزوگوني خوني شروع شده و حملات ثانويه بوجود مي آيد(Recrudescence).

صحیح O غلط O

20. در ویواکس و اووال و مالاریه دو تا سه روز بعد از شروع شیزوگونی خونی گامتوسیتها در خون ظاهر و یکی دو روز بعد از آن از خون حذف می شوند. صحیح O غلط O
21. در فالسی پاروم یک هفته بعد از شروع شیزوگونی خونی گامتوسیتها به همراه رینگها در خون ظاهر و حدود 4 هفته بعد از آن در خون دیده می شوند ولی قدرت آلوده کنندگی آنها در زمانی که نارس هستند و یا پیر هستند کمتر است.

صحیح O غلط O

22. Recrudescence از یکماه تا دو سال ممکن است طول بکشد و در مالاریه گاهی تا آخر عمر. صحیح O غلط O
23. در مالاریای فالسی پاروم در پارازیتمی بالا و در عفونتهای شدید همهٔ اشکال انگل دیده می شوند ودرزمان حملات بیشتر اشکال رینگ و در فاصلهٔ دو حمله اشکال پیر و شیزونت. صحیح O غلط O
24. مالاریای ناشی از پلاسمودیوم مالاریه بیش از سایرین از طریق انتقال خون منتقل می گردد. صحیح O غلط O
25. ویواکس بیشتر به RBC های جوان و رتیکوسیتها، مالاریه به پیرها و کوچکتر ها و فالسیپاروم به همهٔ سنین RBC حمله میکند.

صحیح O غلط O

- تعداد سیکل خونی :

26. فالسی پاروم در هر 48 ساعت یکبار صحیح O غلط O
27. ویواکس در هر 48 ساعت یکبار صحیح O غلط O
28. اووال در هر 48 ساعت یکبار صحیح O غلط O
29. مالاریه درهر 72 ساعت یکبار صحیح O غلط O

سؤالات تشخیص مالاریا

30. تشخیص میکروسکوپی هنوز هم روش انتخابی و استاندارد طلایی است. صحیح O غلط O
31. رنگ آمیزی گسترش های خونی روش استاندارد طلایی تشخیص مالاریا است. صحیح O غلط O
32. با توجه به وجود موارد کم انگل که به راحتی تشخیص داده نمی شود برای تشخیص انگل مالاریا در گسترش ضخیم خون حداقل 200 میدان میکروسکوپی در مدت حداقل 10 دقیقه باید دیده شود.

صحیح O غلط O

33. گسترش نازک خون با الکل متیلیک (متانول) فیکسه می شود. صحیح O غلط O
34. رنگ های رومانفسکی (منجمله گیمسا) بهترین رنگ برای تشخیص مالاریا هستند. صحیح O غلط O
35. برای تشخیص انگل های مالاریا، یک گسترش نازک خون باید حاوی یک طبقه گلبول قرمز باشد صحیح O غلط O
36. برای تهیهٔ آب بافر دار از دی هیدرو فسفات پتاسیم (KH2PO4) + هیدرو فسفات سدیم (Na2HPO4 استفاده می شود.

صحیح O غلط O

37. بهترین PH آب برای تهیهٔ رنگ گیمسای رقیق 7/2 است. صحیح O غلط O
38. در بین رنگ ها رنگهای گروه رومانوفسکی که هسته را قرمز و سیتوپلاسم را آبی می کنند قابل اعتماد تر هستند.

صحیح O غلط O

39. از بین رنگهای گروه رومانوفسکی ، گیمسا با دوامتر است. صحیح O غلط O

40. تشخیص میکروسکوپی با رنگ آمیزی گسترش های خونی امکان تعیین گونهٔ انگل، تعیین تعداد انگل و شناسایی اشکال غیر جنسی را فراهم می آورد . صحیح O غلط O

41. با روش تشخیص میکروسکوپی می توان تغییرات شکل انگل ناشی از درمان دارویی را نیز شناسایی کرد.
صحیح O غلط O

42. تعداد انگل به ازای گلبول سفید و یا گلبول قرمز برای اثبات هایپر پارازیتمی (در مالاریای شدید) و یا ارزیابی پاسخ انگل به دارو نیاز هستند.
صحیح O غلط O

43. انجام شمارش انگلی برای هر لام مثبت الزامی است و باید انجام شود. صحیح O غلط O

44. در گسترش نازك شكل انگل قابل شناسائي است . صحیح O غلط O

- تغییرات RBC در اثر ابتلا به پلاسمودیوم ویواکس :

45. بزرگ شدن صحیح O غلط O

46. نامنظم شدن و کم رنگ شدن RBC ها بعلت مصرف HB صحیح O غلط O

47. بروز نقاط صورتی، نارنجی و یا خرمایی بر روی RBC بنام Schuffner`s dot که حفرات ریزی در غشای RBC حاوی پروتنینهای انگل هستند. صحیح O غلط O

48. نقاط درشت تر و پررنگ تر به تعداد کمتر بصورت نقطه یا خطوط کوتاه بنام Maurer`s cleft که به شکل شکافهای ریزی در داخل سیتوپلاسم گلبول قرمز انگلدار دیده می شوند از جمله تغییرات RBC در اثر ابتلا به پلاسمودیوم فالسی پاروم هستند.
صحیح O غلط O

49. کوچک شدن RBC از جمله تغییرات RBC در اثر ابتلا به پلاسمودیوم مالاریه هستند. صحیح O غلط O

50. در مواردی پررنگ تر شدن RBC بعلت تغییرات PH در آن از جمله تغییرات RBC در اثر ابتلا به پلاسمودیوم مالاریه هستند.
صحیح O غلط O

51. Ziemann`s dot از جمله تغییرات RBC در اثر ابتلا به پلاسمودیوم مالاریه هستند. صحیح O غلط O

52. - RBC تخم مرغی و ریشه دار (Fimbriated margins) از جمله تغییرات RBC در اثر ابتلا به پلاسمودیوم اووال هستند.
صحیح O غلط O

53. Jame`s dot پررنگ تر و درشت تر از Schuffner`s dot از جمله تغییرات RBC در اثر ابتلا به پلاسمودیوم اووال هستند.
صحیح O غلط O

54. گامتوسیتهای فالسی پاروم هلالی یا سوسیسی شکل هستند. صحیح O غلط O

55. اندازهٔ گامتوسیتها ی فالسی پاروم یک و نیم برابر قطر RBC است. صحیح O غلط O

56. سیتوپلاسم ماکرو گامتوسیتها ی فالسی پاروم در رنگ آمیزی گیمسا معمولا تیره تر و آبی پر رنگ است. صحیح O غلط O

57. سیتوپلاسم میکروگامتوسیتها ی فالسی پاروم معمولا رنگ پریده تر است. صحیح O غلط O

58. کروماتینها ی فالسی پاروم قرمز است. صحیح O غلط O

59. رنگدانه در ماکرو گامتوسیتها ی فالسی پاروم درشت تر و متراکمتر است. صحیح O غلط O

60. رینگهای ویواکس معمولا دارای سیتوپلاسم ضخیم با دانهٔ کروماتینی بزرگ و منفرد هستند. صحیح O غلط O

61. تمایز رینگهای ویواکس از اووال مشکل است. صحیح O غلط O

62. سیتوپلاسم ویواکس آمبوئید می شود. صحیح O غلط O

63. دانه های شافنر در تروفوزوئیت رسیده ویواکس دیده می شوند. صحیح O غلط O

64. گلبولهای قرمز آلوده به ویواکس بزرگتر می شوند. صحیح O غلط O

65. عفونت مضاعف در ویواکس دیده می شود. صحیح O غلط O

66. شیزونت در حال رشد ویواکس بزرگ و آمیبوئیدی است. صحیح O غلط O

67. در ویواکس دو یا چند تودهٔ کروماتینی و پیگمان وجود دارد. صحیح O غلط O

68. شیزونت بالغ ویواکس 12-24 مروزوئیت دارد که هر کدام دارای یک کروماتین و سیتوپلاسم هستند. صحیح O غلط O

69. ماکروگامتوسیتهای ویواکس گرد تا بیضی شکل بوده و معمولا گلبول قرمز را پر می کنند. صحیح O غلط O

70. سیتوپلاسم ویواکس آبی تیره و در سرتاسر دارای پیگمانهای ظریف قهوه ای است . دانه های شافنر ممکن است با رنگ آمیزی مناسب دیده شود. صحیح O غلط O

71. ماکروگامتوسیتهای ویواکس معمولا به اندازهٔ گلبولهای قرمز غیر آلوده هستند و سیتوپلاسم آبی تیره ، خاکستری و یا صورتی است. صحیح O غلط O

72. کشیده شدن به شکل بیضی و fimbriation در اووال رایج است. صحیح O غلط O

73. با رنگ آمیزی صحیح می توان دانه های شافنر را در اووال دید. صحیح O غلط O

74. اووال پیگمان مشابه ویواکس ولی روشنتر و ظریفتر است. صحیح O غلط O

75. شیزونتهای اووال می تواند شبیه ویواکس ولی کمی کوچکتر باشد(4-16 ومتوسط 8 عدد). صحیح O غلط O

76. تمایزگامتوسیتهای اووال از ویواکس تا حدی مشکل است ، اگرچه بزرگ شدن گلبولهای قرمز در اووال کمتر دیده می شود. صحیح O غلط O

77. ماکروگامتوسیتهای اوال گلبولهای قرمزآلوده را پر می کنند. صحیح O غلط O

78. میکروگامتوسیتها ی اوال کوچکتراز ویواکس هستند. صحیح O غلط O

79. اندازه شیزونت پلاسمودیوم مالاریه کوچک و فشرده است: صحیح O غلط O

80. در شیزونت بالغ 6-12 مروزوئیت و معمولا 8 عدد بشکل خوشه های غیر متراکم و برخی ظاهرا بدون سیتوپلاسم: صحیح O غلط O

81. مالاریای اووال مخصوص مناطق افریقایی است. صحیح O غلط O

82. رنگدانه در مالاریا متمرکز است : صحیح O غلط O

83. رینگ های مالاریه یک (به ندرت دو) نقطهٔ کروماتین و یک حلقه سیتوپلاسم دارند که ضخیمتر از فالسی پاروم هستند. صحیح O غلط O

84. اشکال " چشم پرنده " 'Bird's-eye' forms ممکن است در مالاریه ظاهر شوند. صحیح O غلط O

85. در مالاریه گلبولهای قرمز بزرگتر نمی شوند. صحیح O غلط O

86. در تروفوزوئیت در حال رشد مالاریه کروماتین گرد یا ناصاف و سیتوپلاسم فشرده و بدون واکوئول است. صحیح O غلط O

87. در تروفوزوئیت در حال رشد مالاریه پیگمان ممکن است درشت و محیطی باشد. صحیح O غلط O

88. در مالاریه همچنانکه تروفوزوئیت تکامل می یابد سیتوپلاسم ممکن است طویل شده به شکل نواری در بیاید و یا بیضوی شده با یک واکوئول به شکل سبد 'basket-form' شود. صحیح O غلط O

89. در مالاریه کروماتین معمولاً یک تودهٔ منفرد است. صحیح O غلط O

90. شیزونتهای مالاریه اغلب به شکل روزت و یا خوشه های نامنظم چیده شده اند. صحیح O غلط O

91. شیزونتهای بالغ مالاریه تقریبا گلبولهای قرمز میزبان را پر می کنند. صحیح O غلط O

92. شیزونتهای مالاریه می تواند در خون محیطی فراوان باشند. صحیح O غلط O

93. گامتوسیتهای مالاریه جمع و جور هستند و تمایل دارند گلبولهای قرمز میزبان را پرنمایند. صحیح O غلط O

94. در گامتوسیتهای مالاریه گلبولهای قرمز آلوده بزرگ نمی شوند و در برخی موارد کاهش در حجم هم وجود دارد.

صحیح O غلط O

95. سیتوپلاسم گامتوسیتهای مالاریه آبی و کروماتین صورتی تا قرمز رنگ می گیردد. صحیح O غلط O

96. برای رنگ آمیزی گسترشهای خونی برای تشخیص مالاریا لازم است همة لام هاي جديد تميز شود حتي لام هاي تجاري.

صحیح O غلط O

97. برای تمیز کردن لام ها آنها را باید در آب حاوي يك مادة پاك كنندة مطمئن فرو برد و سپس به مدت چند ساعت در آب تميز قرار داد.

صحیح O غلط O

98. براي تميز كردن عدسي هاي چشمي از پارچه هايي استفاده نكنيد كه براي تميز كردن عدسي هاي شيئي به كار رفته و به روغن آغشته شده ا ند. صحیح O غلط O

99. براي تميز كردن سطوح رنگ شدة ميكروسكوپ از الكل استفاده كنيد. صحیح O غلط O

100. .فرمول رنگ گیمسا عبارتند از پودر گیمسا 3 /8 گرم، متانول 250 میلي ليتر، گليسرول 250 ميلي ليتر. صحیح O غلط O

101. تأخير زمان تثبيت گسترش نازك ممكن است نمايان شدن دانه هاي شوفنر(Schuffner's dots)) و مارر (Maurer's spots) را دشوار سازد . صحیح O غلط O

102. در يك گسترش ضخيم رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب زمينة لام بايد تميز و عاري از ذرات باشد و از لكه هاي خاكستري پررنگ ناشي از گلبول قرمز ليزشده پاك باشد. صحیح O غلط O

103. در يك گسترش ضخيم رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب هسته هاي گلبول سفيد به رنگ ارغواني تيره باشد. صحیح O غلط O

104. در يك گسترش ضخيم رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب انگل هاي مالاريا بايد با كروماتين كاملاً قرمز و سيتوپلاسم آبي ارغواني كم رنگ به خوبي مشخص باشند. صحیح O غلط O

105. در يك گسترش ضخيم رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب در عفونت هاي پلاسموديوم ويواكس وپلاسموديوم اوال دانه هاي شوفنر در زمينة گلبول هاي قرمز« ميزبان » به ويژه در لبه هاي لام مشاهده می شود. صحیح O غلط O

106. لام هاي گسترش ضخيم بايد كاملاً خشك شوند. صحیح O غلط O

107. گسترش هاي ضخيم را به كمك باد زن يا قراردادن درمعرض گرمای ملايم مثل گرماي لامپ ميكروسكوپ يا هواي گرم سشواربا يد خشك كرد . صحیح O غلط O

108. گرما دادن بيش از حد گسترش ضخيم به وسيلة باعث تثبيت گسترش خواهد شد. صحیح O غلط O

109. در يك گسترش نازك رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب زمينة لام بايد تميز و عاري از هر گونه بقاياي مواد باشد.

صحیح O غلط O

110. در يك گسترش نازك رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب رنگ گلبول هاي قرمز به رنگ صورتي مايل به خاكستري كم رنگ است.

صحیح O غلط O

111. در يك گسترش نازك رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب هسته هاي گلبول هاي سفيد نوتروفيل به رنگ ارغواني تيره و دانه ها(گرانول ها) به خوبي در آن مشخص هستند. صحیح O غلط O

112. در يك گسترش نازك رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب كروماتين انگل هاي مالاريا به رنگ قرمز ارغواني تيره وسيتوپلاسم آنها به رنگ آبي مايل به ارغواني روشن است. صحیح O غلط O

113. در يك گسترش نازك رنگ آميزي شده با كيفيت مطلوب در گلبول هاي قرمز حاوي پلاسموديوم ويواكس يا پلاسموديوم اوال نقاطي به نام دانه هاي شوفنر به خوبي مشخص هستند. صحیح O غلط O

114. در گلبول هاي قرمز حاوي اشكال رينگ بزرگ پلاسموديوم فالسيپاروم نقاطي به نام دانه هاي مارر به خوبي مشخص هستند.

صحیح O غلط O

115. شمارش انگل ها در هر ميكروليتر خون براساس شمارش تعداد انگل ها در هر ميكروليتر خون در يك گسترش ضخيم پايه گذاري شده است. صحیح O غلط O

116 . در شمارش انگل ها به طور متوسط تعداد 8000 گلبول سفید در هر میکرولیتر به عنوان استاندارد درنظر گرفته شده ا ست .

صحیح O غلط O

117 . برای شمارش انگل ها دو شمارندة مشابه براي شمارش جداگانة تعداد انگل و گلبول هاي سفيد نياز است. صحیح O غلط O

118 . در شمارش انگل ها اگر پس از شمارش 200 گلبول سفید، 10 عدد یا بیشتر انگل وجود داشته باشد بیان کنندة تعداد انگل در هر 200 گلبول سفید است. صحیح O غلط O

119 . در شمارش انگل ها اگر شمارندة انگل پس از شمارش 200 گلبول سفید، 9 انگل یا تعداد کمتر را نشان دهد، شمارش گلبول سفید را تا 500عدد ادامه دهید و تعداد انگل هاي شمارش شده در هر 500 گلبول را ثبت می نماییم. صحیح O غلط O

120 . در شمارش انگل ها در لام هاي گسترش ضخیم خون تعداد انگل ها در 200 گلبول سفید را ضرب در 40 و اگر 500 گلبول سفید را شمرده باشیم، تعداد انگل ها را ضرب در 16 می کنیم تا تعداد انگل ها در هرمیکرولیتر خون به دست آید. صحیح O غلط O

- درشمارش انگل ها به کمك سیستم جمع که انگل هاي شمارش شده را با یك تا چهار علامت(+) بر حسب تعداد انگل نشان مي دهيم:

121 . 10انگل در هر 100 فیلد گسترش ضخیم = + صحیح O غلط O

122 . 100انگل در هر 100 فیلد گسترش ضخیم = + + صحیح O غلط O

123 . 10انگل در یک فیلد گسترش ضخیم = +++ صحیح O غلط O

124 . 100انگل در یک فیلد گسترش ضخیم = ++++ صحیح O غلط O

125 . برای تهیة گسترش هاي ضخیم کف دست چپ بیمار را به طرف بالا نگه می داریم و انگشت سوم انتخاب می شود.

صحیح O غلط O

126 . برای تهیة گسترش هاي ضخیم از نوزادان از انگشت شست پا استفاده می شود. صحیح O غلط O

127 . برای تهیة گسترش هاي ضخیم هرگز نباید از انگشت شست دست نوزادان و بزرگسالان استفاده می شود. صحیح O غلط O

128 . برای تهیة گسترش هاي ضخیم اولین قطره خوني را که از انگشت خارج مي شود، به کمك یك پنبة خشك پاك میکنیم .

صحیح O غلط O

129 . برای تهیة گسترش هاي ضخیم ا زکاربرد سوزن هاي زیرجلدي یا لانست هایي که فقط با الکل استریل شده ا ند، خودداري شود.

صحیح O غلط O

130 . در عرض قسمت ضخیم تر گسترش نازك خشك، نام یا شمارة بیمار و تاریخ تهیة لام را با مداد نرم می نویسیم.

صحیح O غلط O

131 . روي گسترش خونی نباید با خودکار بنویسیم . صحیح O غلط O

132 . در خون محیطي آلوده به پلاسمودیوم ویواکس پلاسمودیوم اوال پلاسمودیوم مالاریه همة مراحل دیده مي شود. صحیح O غلط O

133 . آزمایش لام خون محیطي بهترین راه تشخیص آزمایشگاهي مالاریا است. صحیح O غلط O

134 . نمونه هاي ارسالي به آزمایشگاه حتماً باید در همان روز آزمایش شوند. صحیح O غلط O

135 . کنترل مجدد % 10 لام هاي منفي، تمام لام هاي مثبت و تمام لام هاي تعقیب ضروري است. صحیح O غلط O

136 . لازم است تمام لام هاي آزمایش شده(منفي و مثبت) در بیمارستان ها به مدت 24 ساعت پس از تهیه توسط یك میکروسکوپیست دیگر دوباره کنترل شود. صحیح O غلط O

مراقبت مالاریا

137 . احتمال وجود لام کم انگل در اتباع افغانستان و پاکستان زیاد است و نیازمند توجه بیشتر براي تشخیص مالاریا هستند و ترجیحا بیش از 200میدان میکروسکوپی ازمایش دقیق شود. صحیح O غلط O

138 . احتمال وجود لام کم انگل در افرادیکه سابقه ابتلا به مالاریا در گذشته را دارند زیاد بوده و نیازمند توجه بیشتر براي تشخیص مالاریا هستند و ترجیحا بیش از 200میدان میکروسکوپی ازمایش دقیق شود. صحیح O غلط O

139 . احتمال وجود لام کم انگل در لامهای تعقیب زیاد بوده و نیازمند توجه بیشتر براي تشخیص مالاریا هستند و ترجیحا بیش از 200میدان میکروسکوپی ازمایش دقیق شود.

صحیح O غلط O

140 . کسانی که سابقه مسافرت به مناطق مالاریا خیز را در 18 ماه گذشته دارند نیاز به توجه دقیق در تشخیص دارند .

صحیح O غلط O

141 . ساکنان مناطق مالارياخیز جزء گروه هاي پرخطر نیازمند توجه بیشتر براي تشخیص مالاریا هستند. صحیح O غلط O

142 . تمام بیماران مبتلا به مالارياي فالیسپاروم یا عفونت میکس براي اطمینان از بهبودي کامل پیگیري شوند و در روزهاي سوم، هفتم،چهاردهم، بیست ویکم و بیست وهشتم از آنها لام خون محیطي تهیه شود. صحیح O غلط O

143 . درصورت بروز تب در روزهاي سوم تا بیست وهشتم درمان تهیة لام خون محیطي در همان روز الزامي است.

صحیح O غلط O

144 . تهیة لام خون محیطي در فاصلة روزهاي چهلم و شصتم شروع درمان توصیه مي شود. صحیح O غلط O

145 . توصیه مي شود از تمام موارد ویواکس در فاصلة روزهاي چهاردهم تا بیست وهشتم پس از شروع درمان یك نوبت لام تعقیب تهیه شود.

صحیح O غلط O

146 . درصورت کشف موارد مالاریا، براي کشف موارد احتمالي در منطقه مراقبت بررسي کانون براي تهیة لام بررسي انجام می شود.

صحیح O غلط O

147 . درصورت کشف موارد مالاریا حداقل 4 نوبت مراقبت بیماریابي فعال به فاصلة یك هفته در کانون انجام شود. صحیح O غلط O

148 . اولین نوبت بیماریابي باید در فاصلة 24 ساعت پس از کشف مورد مالاریا باشد. صحیح O غلط O

149 . در روستاهاي با جمعیت کمتر از 50 خانوار، تمام روستا و در شهر و روستاهاي داراي بالاي 50 خانوار، حداقل 50 خانوار در مجاورت محل سکونت بیمار مالاریا مراقبت می شوند. صحیح O

غلط O

150 . در مراقبت بررسي کانون از کساني که احساس کسالت مي کنند و علائم مالاریا دارند لام بررسي تهیه می شود.

صحیح O غلط O

151 . در مراقبت بررسي کانون از کساني که در یك ماه گذشته بیمار بوده ا ند لام بررسي تهیه می شود. صحیح O غلط O

152 . در مراقبت بررسي کانون از کساني که سابقة ابتلا به مالاریا دارند، حتي در صورتیکه درحال حاضر علائم ندارند لام بررسي تهیه می شود. صحیح O غلط O

153 . در مراقبت بررسي کانون از اتباع افغانستان و پاکستان حتي اگر علائم ندارند لام بررسي تهیه می شود. صحیح O غلط O

سؤالات علائم بالینی، درمان و بررسی مقاومت دارویی مالاریا

154 . خستگی از نشانه های اولیه مالاریا است. صحیح O غلط O

155. سردرد از نشانه های اولیه مالاریا است. صحیح O غلط O

156. تهوع از نشانه های اولیه مالاریا است. صحیح O غلط O

157. استفراغ از نشانه های اولیه مالاریا است. صحیح O غلط O

158. درد کمر از از نشانه های اولیه مالاریا است. صحیح O غلط O

159. تب از نشانه های اولیه مالاریا است. صحیح O غلط O

160 . درمان بيمار مبتلا به مالاريا بايد در كمتر از 24 ساعت پس از تشخيص شروع شود. صحيح O غلط O

161 . براي پرهيز از هرگونه اشتباه توصيه شده است هر بيمار مبتلا به مالاريا به ويژه مالارياي فالسيپاروم ترجيحاً توسط پزشك معاينه شود.
صحيح O غلط O

162 . اگر بیماری هر یک از ع لائم مالارياي شديد را درهر مرحله از درمان دارا بود بايد سريعاً به پزشك ارجاع شود
صحيح O غلط O

163 . ناتواني در خوردن، آشاميدن، نشستن و ايستادن از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است.
صحيح O غلط O

164 . استفراغ مكرر از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است. صحيح O غلط O

165 . اختلال هوشياري و گيجي از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است. صحيح O غلط O

166 . تشنج از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است. صحيح O غلط O

167 . اختلال تنفسي(افزايش تعداد تنفس) از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است. صحيح O غلط O

168 . شوك و از حال رفتن بيمار از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است. صحيح O غلط O

169 . تب شديد از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است. صحيح O غلط O

170 . زردي از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است. صحيح O غلط O

171 . رنگ پريدگي كف دست يا ناخن ها از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است. صحيح O غلط O

172 . ادرار تيره رنگ از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است و بيمار بايد سريعا به پزشک ارجاع شود . صحيح O غلط O

173 . خونريزی غيرعادی ، لکه های خونريزی زير پوست و خونريزي لثه و بيني از نشانه هاي خطر در بيماري مالاريا است.
صحيح O غلط O

174 . مالاريا بخصوص فالسيپارم می تواند بدخيم و كشنده باشد. صحيح O غلط O

175 . در خط دوم درمان مالاريای فالسيپارم از كوارتم استفاده ميشود. صحيح O غلط O

176 . پس از تهية لام تعقيب روز سوم از مبتلايان به مالاريای فالسيپاروم اگر بيمار تب دارد درمان با خط بعدي انجام می شود.
صحيح O غلط O

177 . اگر تعداد انگل در روز سوم درمان بيش از 25درصد روز اول باشد شكست درمان تلقی می شود درمان با خط بعدي انجام می شود.
صحيح O غلط O

178 . ثبت مشخصات كامل بيمارانی كه برای ازمايش مالاريا به ازمايشگاه حضوری مراجعه می كنند به نحوی گه قابل پيگيری باشند توسط ازمايشگاه الزامی است .
صحيح O غلط O

179 . گزارش فوری موارد مثبت مالاريا به مركز بهداشت شهرستان مربوطه الزامی است
صحيح O غلط O

180 . توصيه می شود از اتباع افغانستان و پاكستان در اولين فرصت پس از ورود به كشور و در بتدای فصول انتقال در طی دو سال بعد ازمايش مالاااريا انجام شود. صحيح O غلط O

181 . در مواجهه با اتباع افغانستان و پاكستان به انان بايد توصيه كرد برای ازمايش مالاريا هر زمان كه دچار كسالت شدند فورا به ازمايشگاه مالاريا يا پزشک مراجعه نمايند. صحيح O غلط O

182 . اتباع ایرانی که مکررا به پاکستان سفر می کنند باید توجیه شوند که به محض بروز تب و احساس کسالت برای ازمایش مالاریا به ازمایشگاه مالاریا یا پزشک مراجعه نمایند .

صحیح O غلط O

183 . اتباع ایرانی که مکررا به پاکستان سفر می کنند باید در ابتدای فصول انتقال مالاریا یک نوبت تحت ازمایش مالاریا قرار بگیرند. صحیح O غلط O

184 . توصیه می شود بیماران مشکوک به مالاریا توسط ازمایش لام و یا کیت تحت ازمایش قرار بگیرند . انجام هر دو ازمایش برای بیماران بطور معمول توصیه نمی شود مگر در مواردی که شک بالینی زیادی وجود داشته با شد.

صحیح O

غلط O

185 . اگر کیت مثبت و لام منفی بود مورد مثبت تلقی شده و درمان ان شروع می شود و به عنوان م ثبت گزارش می گردد.

صحیح O غلط O

186 . اگر لام مثبت و کیت منفی بود مورد مثبت تلقی شده و درمان ان شروع می شود و به عنوان مثبت گزارش می گردد .

صحیح O غلط O

187 . برای تمام مواردی که کیت انها مثبت است لام نیز باید تهیه و ازمایش شود و احتمال عفونت میکس با دقت بررسی شود. صحیح O غلط O

188 . شایعترین اشتباه میکروسکوپیست ها در کشور گزارش منفی موارد کم انگل و گزارش ویواکس در عفونت های میکس می باشد

صحیح O غلط O

189 . اگر لام بی کیفیت است ازمایش انجام و لی ازمایشگاه موظف است توصیه نماید که لام مجدد استاندارد از بیمار تههی شود.

صحیح O

غلط O

190 . لام مثبت در هريك از روزهاي هفتم تا بيست وهشتم شكست درمان تلقی می شود و درمان با خط بعدي توصيه مي شود.

صحیح O غلط O

منابع: