

مجموعه کتاب آموزشی تشخیص مالاریا

تهیه و تدوین:



سازمان جهانی بهداشت

ترجمه و گردآوری:

دکتر منصور رنجبر
مهندس مصطفی علیزاده
لیلا فرجی
دکتر احمد رئیسی

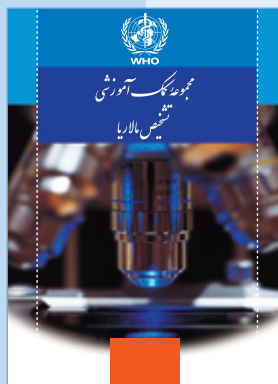


دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان
معاونت امور بهداشتی
مرکز بهداشت استان

مرکز نشر
میدرا



عنوان و نام پدیدآور	: مجموعه کمک آموزشی تشخیص مالاریا / سازمان جهانی بهداشت
ترجمه و گردآوری	: منصور رنجبر، مصطفی علیزاده، لیلا فرجی و احمد رئیسی
مشخصات نشر	: تهران: مرکز نشر صدا، ۱۳۸۶.
مشخصات ظاهری	: ۲۸ ص.
شابک	: ۹۷۸-۹۶۴-۳۵۹-۲۱۲-۷
وضعیت فهرست نویسی	: فیپا
موضوع	: مالاریا- تشخیص- دستنامه های آزمایشگاهی
شناسه افزوده	: ایران. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت سلامت؛ مرکز مدیریت بیماری ها؛ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان.
رده بندی کنگره	: RC ۱۵۸/۲ ۱۳۸۶
رده بندی دیویی	: ۶۱۶/۹۳۶۲۰۷۵
شماره کتاب شناسی ملی	: ۱۰۳۵۷۵۴



مجموعه کمک آموزشی تشخیص مالاریا

تهیه و تدوین:

سازمان جهانی بهداشت

ترجمه و گردآوری:

دکتر منصور رنجبر

مهندس مصطفی علیزاده

لیلا فرجی

دکتر احمد رئیسی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان
(معاونت امور بهداشتی)

خدمات طراحی، چاپ و نشر: مرکز نشر صدا

طراح گرافیک: محمودرضا طالبزاده

نوبت چاپ: اول (۱۳۸۶)

شمارگان: ۵۰۰۰ نسخه

شابک: ۹۷۸-۹۶۴-۳۵۹-۲۱۲-۷

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

«حق چاپ و نشر برای ناشر محفوظ است.»

مرکز نشر
صدا

مرکز نشر صدا

تهران، تقاطع خیابان ولی عصر با مطهری،

خیابان منصور، شماره ۷۷

۸۸۵۵۳۴۲۹ و ۸۸۵۵۳۴۰۳ - دورنگار: ۸۷۱۳۶۵۳



سرآغاز

از نظر انتشار و میزان ابتلا و مرگومیر، مالاریا مهم‌ترین بیماری انگلی در جهان است. در کشور ما با وجود سال‌ها مبارزه، این بیماری هنوز یکی از معضلات مهم بهداشتی به‌ویژه در جنوب شرقی کشور محسوب می‌شود. بنابراین، بدیهی است ارتقای سطح علمی دست‌اندرکاران امور بهداشتی نقش مهمی در تشخیص، درمان و مبارزه با این بیماری ایفا می‌کند.

هر چند موارد بیماری در کشور از حدود پنج میلیون نفر در پنجاه سال پیش به ۱۵۷۵۳ مورد در سال ۱۳۸۵ کاهش یافته‌است، اما سهولت مسافرت و افزایش تبادلات جمعیتی، امکان مشاهده بیمار مبتلا به مالاریا و بازگشت انتقال بیماری در همه مناطق دارای پتانسیل انتقال را فراهم نموده‌است.

به‌منظور آموزش روش‌های تهیه نمونه و تشخیص انگل مالاریا، تدوین یک راهنمای مصور آزمایشگاهی که در دسترس همکاران گرامی باشد، ضروری می‌نمود. بنابراین، برآن شدیم تا مجموعه کمک‌آموزشی تشخیص مالاریا را آماده کنیم که مورد استفاده بیشتر علاقه‌مندان باشد.

در اینجا لازم می‌دانیم از مساعدت‌های بی‌شائبه جناب آقای دکتر کمال حیدری معاون محترم امور بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان و جناب آقای دکتر رضا فدایی نوبری مدیر محترم گروه مبارزه با بیماری‌های مرکز بهداشت استان اصفهان که زمینه لازم برای نشر این مجموعه را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی نماییم. همچنین، از زحمات جناب آقای مهندس مصطفی علیزاده در ترجمه متن اصلی سازمان جهانی بهداشت کمال تشکر را داریم.

امید است این مجموعه گامی هر چند کوچک در جهت اعتلای سطح علمی و آموزشی جامعه بهداشتی کشور باشد.

اداره کنترل بیماری‌های منتقله توسط ناقلین (مالاریا)

تصویرها

- ۱۶..... تصویر شماره ۱.....
شناسایی گونه‌های انگل مالاریا در
گسترش‌های ضخیم خون، رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا
- ۱۷..... تصویر شماره ۲.....
نمای ظاهری مراحل پلاسمودیوم فالسیپاروم در
گسترش‌های ضخیم و نازک خون
رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا
- ۱۸..... تصویر شماره ۳.....
نمای ظاهری مراحل مختلف پلاسمودیوم ویواکس در
گسترش‌های ضخیم و نازک خون
رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا
- ۱۹..... تصویر شماره ۴.....
نمای ظاهری مراحل پلاسمودیوم اوآل در
گسترش‌های ضخیم و نازک خون
رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا
- ۲۰..... تصویر شماره ۵.....
نمای ظاهری مراحل پلاسمودیوم مالاریه در
گسترش‌های ضخیم و نازک خون
رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا
- ۲۱..... تصویر شماره ۶.....
اشکال عناصر سلولی در گسترش‌های ضخیم و
نازک خون رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا
- ۲۱..... تصویر شماره ۷.....
تأثیر pH روی انگل‌های مالاریا در رنگ‌آمیزی گیمسا
- ۲۲..... تصویر شماره ۸.....
عناصر اشتباه‌برانگیز در تشخیص انگل
- ۷..... تمیز کردن و نگهداری لام‌های میکروسکوپی
- ۸..... مراقبت از میکروسکوپ
- ۹..... تهیه محلول‌های بافر برای رنگ‌آمیزی انگل‌های مالاریا
- ۱۰..... تهیه محلول استوک رنگ گیمسا
- ۱۱..... تکنیک‌های رنگ‌آمیزی گیمسا (روش رایج)
- ۱۲..... تکنیک‌های رنگ‌آمیزی گیمسا (روش سریع)
- ۱۳..... روش شمارش انگل‌های مالاریا در لام‌های گسترش
ضخیم خون
- ۱۴..... طرز تهیه گسترش‌های ضخیم و نازک خون روی لام
- ۲۴..... نکته‌های مهم در راستای تشخیص، درمان و پیگیری مالاریا
- ۲۶..... دیاگرام درمان و پیگیری مبتلایان به مالاریا
- ۲۷..... دیاگرام پیگیری بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم
- ۲۸..... منابع





مجموعه کمک آموزشی تشخیص مالاریا

نکته‌های تکنیکی برای تهیه رنگ گیمسا به روش سریع و رایج در صفحه‌های ۱۱ و ۱۲ ارائه شده است. در صفحه ۱۶ ویژگی‌های ظاهری گسترش ضخیم فاز خونی تروفوزوئیت، شیزونت و گامتوسیت چهارگونه پلاسمودیوم انسانی (به همراه یک متن خلاصه) با یکدیگر مقایسه شده است. در صفحه ۱۳ دو روش شمارش انگل‌های مالاریا در لام‌های گسترش ضخیم شرح داده شده است.

نسخه اصلی این جزوه به زبان‌های انگلیسی، فرانسه و اسپانیایی در دسترس است.

مطالبی درباره تهیه‌کننده تصویرها

این تصویرها را آقای یاپ لوی فونگ (Yap Loy Fong) تکنولوژیست علوم آزمایشگاهی انستیتو تحقیقات پزشکی در کوالالمپور مالزی (۱۹۸۱-۱۹۴۶) با همکاری دکتر جان دبلیو فیلد (John W. Field) تهیه کرده است. ایشان در زمینه تهیه یک مجموعه مصور کار می‌کردند که از مطالعات انجام‌شده روی مرفولوژی پلاسمودیوم‌های انسانی در گسترش‌های ضخیم و نازک خون رنگ‌آمیزی‌شده به روش رومانوفسکی به دست آمده بود.

حاصل ۳۵ سال تجربه و مهارت تشخیصی یاپ به‌عنوان تصویرگر و انگل‌شناس، در مجموعه کمک آموزشی تشخیص مالاریا گرد آمده است.

این مجموعه را بخش مبارزه با مالاریای سازمان جهانی بهداشت به‌عنوان راهنمایی برای تشخیص میکروسکوپی مالاریای انسان تهیه کرده و شامل تصویرهای رنگی و نکته‌های تکنیکی ضروری به‌منظور فعالیت‌های آزمایشگاهی کنترل مالاریا است.

این راهنما برای میکروسکوپیست‌های تمام سطوح خدمات بهداشتی و دانشجویان پزشکی، طب گرمسیری و انگل‌شناسی مفید و ارزشمند است. از صفحه ۱۷ تا ۲۰ مشتمل بر تصویرهایی برای نمایش مراحل زندگی چهارگونه انگل مالاریای انسان در لام‌های گسترش ضخیم و نازک خون (که با گیمسا رنگ‌آمیزی شده) است.

در ابتدا، نکته‌های تکنیکی به‌منظور تمیز کردن، مراقبت و نگهداری از اسلایدهای میکروسکوپی و میکروسکوپ و همچنین، نحوه تهیه محلول‌های بافر برای رنگ‌آمیزی نمونه‌های مشکوک به مالاریا و چگونگی تهیه محلول استوک رنگ گیمسا ارائه شده است.

در صفحه‌های ۱۴ و ۱۵ چگونگی تهیه گسترش‌های ضخیم و نازک خون روی لام، همراه با تصویر توضیح داده شده است. صفحه ۲۱ عناصر سلولی خون انسان را در گسترش‌های ضخیم و نازک رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا و تأثیرات pH را روی انگل‌های مالاریا (رنگ شده با گیمسا) نشان می‌دهد. صفحه ۲۲ تعدادی از عواملی را نمایش می‌دهد که اغلب سبب اختلال در تشخیص گسترش ضخیم می‌شود.

«این مجموعه برای میکروسکوپیست‌های مجرب و مبتدیان ارزش زیادی دارد و در تلاش است برخی انگل‌های دارای مرفولوژی مشکوک را با تصاویر کامل مراحل نمویافته گونه‌های مختلف پلاسمودیوم مقایسه کند. این مجموعه رنگی برای آموزش میکروسکوپی مالاریا مناسب خواهد بود.»

پزشک گرمسیری



تمیز کردن و نگهداری از لام‌های میکروسکوپی

۱. تمیز کردن

از خارج کردن از آب، یکی یکی به کمک قطعه‌ای گاز یا پنبه، پاک و تمیز کنید تا همه اثرها و نشانه‌های گسترش خون یا روغن پاک شود. سپس لام‌ها را ابتدا در یک محلول پاک‌کننده تازه فروبرید و بعد از آن در زیر آب لوله‌کشی جاری بگیرید یا چند نوبت در آب تمیز قرار دهید. در آخر، لام‌ها را با یک پارچه تمیز خشک کنید. لام‌هایی که به‌طور مختصر خراشیده شده‌اند (خش دارند) و برای تهیه گسترش‌های خون نامناسب هستند، ممکن است هنوز برای کارهای معمول آزمایشگاهی در بخش حشره‌شناسی مفید و قابل استفاده باشند.

۲. نگهداری لام‌ها

لام‌های شیشه‌ای 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 شبنم‌زدگی از بین خواهد رفت. بهتر است لام‌ها بعد از تمیز شدن در یک مکان خشک یا یک کمد هوای گرم نگهداری شوند.

توصیه می‌شود لام‌های تمیز شده را در بسته‌های ده‌تایی در کاغذ نازک بپیچید و با چسب نواری سلولزی یا پلاستیکی بچسبانید، طوری که برای استفاده آماده باشند. می‌توان لام‌های بسته‌بندی شده را در جعبه‌های مقوایی مخصوص لام یا در جعبه‌های مناسب دیگر بگذارید و با قراردادن صفحه‌های مقوایی، پلی‌استرن یا پنبه‌ای بین آنها، برای پست کردن یا انتقال آنها اقدام کنید.

به‌منظور تهیه نمونه‌های خونی برای مطالعات میکروسکوپی باید به استفاده از لام‌های شیشه‌ای تمیز و با کیفیت بالا اهمیت داده شود. همه لام‌ها باید به دقت و وسواس زیادی تمیز و از رطوبت و چربی پاک شود. این عمل باعث برطرف شدن مواد زایدی می‌شود که موجب اختلال در رنگ‌آمیزی و تشخیص انگل می‌شوند. لام‌های معیوب زیر را کنار بگذارید:

- الف) لام‌هایی که ظاهر شبنم‌زده یا زمینه رنگین‌کمانی دارند؛
- ب) لام‌هایی (اعم از قدیمی و جدید) که ناقص تمیز شده‌اند؛
- ج) لام‌های قدیمی که لبه‌های مضرس یا سطح خراشیده دارند.

۱-۱. لام‌های جدید

لازم است با احتیاط همه لام‌های جدید را تمیز کنید (حتی لام‌های تجاری که قبلاً تمیز شده است). لام‌ها را در آب حاوی یک ماده پاک‌کننده^۱ مطمئن فروبرید و سپس به مدت چند ساعت در آب تمیز قرار دهید. آب را چند نوبت عوض کنید و زیر آب لوله‌کشی جاری قرار دهید. پس از آن، هر لام را با یک پارچه نخی به‌خوبی خشک و تمیز نمایید. همیشه لبه‌های لام‌های تمیز را بگیرید تا اثر انگشت یا چربی روی آنها ایجاد نشود.

۲-۱. لام‌های استفاده شده

توصیه شده است لام‌های استفاده شده را ابتدا در آب محتوی یک محلول پاک‌کننده قرار دهید. وقتی لام‌ها به‌خوبی غوطه‌ور شدند، پس

۱. کاربرد اسید بیکرومات به‌عنوان یک محلول تمیزکننده توصیه نمی‌شود.



مراقبت از میکروسکوپ

انجام دهید:

۴. عدسی‌های شیئی آلوده به روغن ایمرسیون را هر روز تمیز کنید. برای این کار، ابتدا یک پارچه نرم نمناک با گزیل را به عدسی‌ها بکشید و سپس آنها را به کمک یک پارچه کتان تمیز جلا دهید.
۵. عدسی‌های چشمی را با یک پارچه کتان نرم یا دستمال لنز تمیز کنید.
۶. پیچ محافظ میکروسکوپ را که در پایه جعبه آن تعبیه شده است، کامل ببندید تا میکروسکوپ در هنگام حمل و نقل و جابه‌جایی آسیب نبیند.
۷. شماره مدل و در صورت امکان، شماره قطعات و لوازم میکروسکوپ را یادداشت کنید تا در صورت نیاز به تعویض قطعات از آن استفاده کنید.

انجام ندهید:

۱. برای تمیز کردن عدسی‌های چشمی از پارچه‌هایی استفاده نکنید که برای تمیز کردن عدسی‌های شیئی به کار رفته و به روغن آغشته شده‌اند.
۲. برای تمیز کردن سطوح رنگ‌شده میکروسکوپ از الکل استفاده نکنید.
۳. از باز بستن یا تمیز کردن قسمت‌هایی از میکروسکوپ که دسترسی به آنها دشوار است خودداری کنید؛ مگر در این زمینه آموزش دیده باشید.
۴. قطعات عدسی را بدون پوشش نگذارید و با پوشش مناسب یا پلاسترهای چسبان بپوشانید.
۵. عدسی میکروسکوپ‌های کارخانجات مختلف را با یکدیگر تعویض نکنید؛ زیرا حتی برخی مدل‌های ساخته شده یک کارخانه نیز مشخصات متفاوتی دارند.

۱. هنگامی که از میکروسکوپ استفاده نمی‌کنید، آن را با یک پوشش پلاستیکی یا پارچه‌ای تمیز بپوشانید.
۲. در هوای گرم و خشک برای حفاظت از میکروسکوپ در مقابل گرد و غبار مراقبت بیشتری به عمل آورید.
۳. در هوای گرم و مرطوب، برای جلوگیری از رشد قارچ‌ها روی عدسی‌ها و منشورهای میکروسکوپ مراقبت بیشتری شود.

به این منظور کارهای زیر انجام شود:

- ۱-۳. در صورت امکان، میکروسکوپ در اتاقی نگهداری شود که تهویه مطبوع دارد.
- ۲-۳. میکروسکوپ در یک اتاق مخصوص و بدون رطوبت نگهداری شود. برای این کار می‌توان از یک دستگاه رطوبت‌زدای الکتریکی استفاده کرد که قیمت آن حدود نصف قیمت دستگاه تهویه مطبوع است.
- ۳-۳. درون یک قفسه که درهای آن محکم بسته می‌شوند، تعدادی لامپ ۱۵ تا ۲۵ وات متصل به هم قرار دهید.
- ۴-۳. در جعبه میکروسکوپ‌های منفرد که مانند یک قفسه گرم عمل می‌کند، یک لامپ ۱۵ وات قرار دهید.
- ۵-۳. در مناطقی که برق ندارند، جعبه میکروسکوپ را داخل یک قفسه و در ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری بالای دودکش یخچال‌ها یا فریزرهای نفتی قرار دهید. بدین ترتیب، می‌توان از رشد قارچ‌ها روی عدسی‌های میکروسکوپ جلوگیری کرد.



تهیهٔ محلول‌های بافر برای رنگ‌آمیزی انگل‌های مالاریا

یک محلول بافر فسفات با pH صحیح برابر با ۷/۲ برای رنگ‌آمیزی انگل‌های مالاریا با رنگ گیمسا لازم است.

۱. تهیهٔ محلول بافر برای مصرف روزانه

۱-۱. یک گرم دی‌سدیم هیدروژن فسفات (Na_2HPO_4) خشک را با ۰/۷ گرم پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) در یک لیتر آب مقطر یا آب غیر یونیزه یا آب باران صاف شده و در صورت در دسترس نبودن این آب‌ها، در آب لوله‌کشی شهری حل کنید.

۲-۱. pH محلول حاصل را بررسی کنید (ممکن است این کار با pH متر یا یک معرف رنگی مانند مقایسه‌گر لایوباند (Lovibond) انجام شود).

۳-۱. pH محلول را با افزایش مقادیر کم از محلول ۰/۲ Na_2HPO_4 تا ۷/۲ بالا ببرید و در صورت بالا بودن pH با افزایش مقادیری از محلول ۰/۲ KH_2PO_4 آن را پایین بیاورید تا به pH ۷/۲ برسد.

۴-۱. وقتی pH محلول به ۷/۲ رسید، آن را در یک بطری بریزید که در آن محکم بسته شده است (بهتر است از بطری تیره رنگ استفاده شود). سپس آن را در مکانی خنک و دور از نور مستقیم خورشید نگهداری کنید. این محلول برای مصرف چند هفته مناسب است. ولی لازم است تا چند هفته به‌طور منظم کنترل شود تا مطمئن شوید کپک روی آن رشد نکرده است. محلول را تکان دهید و در صورت کدر شدن آن را دور بریزید.

۲. تهیهٔ یک محلول غلیظ استوک

این محلول برای مسافرت‌های صحرائی یا ارسال به مناطق دور مناسب است.

۱-۲. ۳ گرم Na_2HPO_4 خشک و ۲/۱ گرم KH_2PO_4 را در ۲۵ میلی‌گرم آب مقطر یا آب غیر یونیزه حل کنید.

۲-۲. pH را طبق روش ۱-۳ تا ۷/۲ تنظیم کنید.

۳-۲. محلول تهیه‌شده را در یک بطری شیشه‌ای تیره و دور از نور مستقیم خورشید نگهداری کنید. این محلول تا چند هفته برای مصرف مناسب است.

۴-۲. برای تهیهٔ محلول، هنگام کار یک میلی‌لیتر از محلول غلیظ تهیه‌شده را با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر یا غیر یونیزه رقیق کنید.

۳. تهیهٔ بسته‌های از پیش توزین‌شده

می‌توانید دو نمک فسفات را از قبل توزین کنید و سپس داخل یک لوله یا کیسهٔ پلاستیکی قرار دهید که در آن محکم بسته شده است. روی آن برچسب بزنید و آن را داخل یک شیشهٔ درپوش‌دار نگهداری کنید. وقتی محتویات بسته به یک لیتر آب اضافه شود، pH آن را تا ۷/۲ برسانید و به روش معمول استفاده کنید.



تهیهٔ محلول استوک رنگ گیمسا

۱. مقدمه

در رنگ‌آمیزی معمول لام‌های خون به‌منظور تشخیص انگل مالاریا، گیمسا رنگ استاندارد و مطمئنی است. به هر حال، کیفیت این رنگ چه به‌صورت محلول آماده و چه به‌صورت پودر به منبع تهیهٔ آن بستگی دارد. از این رو، توصیه‌می‌شود که محلول گیمسا از یک سازندهٔ مطمئن فراهم‌شود. حتی لازم است قبل از رنگ‌آمیزی معمولی تعداد زیادی از لام‌ها، کیفیت هر بستهٔ رنگی را بررسی و آزمایش‌کنید و سپس رنگ ساخته‌شود.

۱-۱. فرمول رنگ

پودر گیمسا ۳/۸ گرم
متانول ۲۵۰ میلی‌لیتر
گلیسرول ۲۵۰ میلی‌لیتر

۲-۱. تهیه و ساخت

ترجیحاً یک بطری شیشه‌ای تیره و در صورت دسترسی نداشتن، یک بطری پلی‌اتیلن یا یک بطری شیشه‌ای شفاف، تمیز، خشک و عاری از مواد شیمیایی و در اندازهٔ مناسب تهیه‌کنید. علاوه بر آن لازم است حدود ۵۰ مهرهٔ شیشه‌ای با قطر حدود ۵ میلی‌متر تهیه‌نمایید.

(الف) مهره‌های شیشه‌ای را داخل بطری قرار دهید و مقداری متانول معین و اندازه‌گیری‌شده روی آن بریزید. سپس پودر گیمسا را به آن اضافه‌کنید.

(ب) در بطری را محکم ببندید و اجازه‌دهید پودر گیمسا به آرامی در متانول وارد و در کف بطری ته‌نشین شود. با حرکت چرخشی بطری را ۲ تا ۳ دقیقه تکان‌دهید.

(ج) به این مخلوط مقداری گلیسرول اندازه‌گیری‌شده اضافه‌کنید و شیشه را دوباره تکان‌دهید. هر نیم ساعت به مدت ۲ تا ۳ دقیقه حداقل شش بار شیشه را تکان‌دهید.

(د) بطری را ۲ تا ۳ روز در یک محل مناسب قرار دهید. هر روز ۳ تا ۴ مرتبه آن را تکان‌دهید تا رنگ کامل مخلوط‌شود. بهتر است برای مصرف روزانه مقدار کمی از این محلول را در ظرف کوچک دیگری بریزید و از آن استفاده‌کنید تا محلول استوک از آلودگی محافظت‌شود. هر سری محلول استوک تهیه‌شدهٔ جدید باید برچسب مناسب داشته‌باشد و زمان تهیهٔ محلول روی آن نوشته‌شود. همین‌طور زمان رنگ‌آمیزی و قدرت آن باید آزمایش‌شود.

ظرف استوک همیشه باید در جای خنک و دور از نور مستقیم خورشید در بطری‌هایی نگهداری شود که در آن محکم بسته‌شده‌است. در صورتی که بطری استوک شیشه‌ای شفاف باشد، بهتر است آن را با یک کاغذ تیرهٔ ضخیم بپوشانید تا از نور محافظت‌شود.



تکنیک‌های

رنگ‌آمیزی گیمسا:

روش رایج

گسترش‌های ضخیم و نازک روی یک لام

۴. رنگ را به آرامی داخل ظرف بریزید تا لام‌ها را کامل بپوشاند.
۵. اجازه دهید تا رنگ برای ۳۰ تا ۴۵ دقیقه دور از نور خورشید بماند.
۶. آب تمیز را به آرامی داخل ظرف بریزید تا کف‌های رنگین‌کمانی روی سطح رنگ شناور شود و همه ظرف را داخل یک ظرف پر از آب تمیز قرار دهید.
۷. به آرامی رنگ‌های باقی‌مانده در ظرف رنگ‌آمیزی را خالی و مجدد آبکشی نمایید و پس از چند ثانیه آب ظرف را خالی کنید.
۸. لام‌ها را یکی یکی بردارید و آنها را در یک ریل لام بگذارید تا آبیگری و خشک شوند. لام‌ها را به پایین متمایل کنید و مطمئن شوید که گسترش با ریل تماس پیدا نکند.

توجه: ارزیابی یک گسترش ضخیم رنگ‌آمیزی شده با کیفیت مطلوب

- الف)** زمینه لام باید تمیز و عاری از ذرات باشد و از لکه‌های خاکستری پررنگ ناشی از گلبول قرمز لیز شده پاک باشد.
- ب)** هسته‌های گلبول سفید به رنگ ارغوانی تیره باشد.
- ج)** انگل‌های مالاریا باید با کروماتین کاملاً قرمز و سیتوپلاسم آبی ارغوانی کم‌رنگ به خوبی مشخص باشند. در عفونت‌های پلاسمودیوم ویواکس و پلاسمودیوم اولال دانه‌های شوفر در زمینه گلبول‌های قرمز «میزبان» به ویژه در لبه‌های لام مشاهده شود.

برای رنگ‌آمیزی بهتر گسترش‌های ضخیم و نازک باید روی لام‌های مجزا تهیه شوند و غلظت متفاوت با زمان‌های مختلف برای رنگ‌آمیزی آن استفاده شود. البته غالباً این کار امکان‌پذیر نیست و معمولاً گسترش‌های ضخیم و نازک روی یک لام تهیه می‌شوند. در این صورت، رنگ‌آمیزی گسترش ضخیم با کیفیت خوب از اهمیت بیشتری برخوردار است. بهترین نتیجه هنگامی حاصل می‌شوند که گسترش‌های خون طی یک شب خشک شوند.

روش رنگ‌آمیزی ۲۰ لام یا بیشتر

۱. گسترش‌های نازک را به آرامی با یک پارچه نازک کتان آغشته با متانول مرطوب نموده یا به وسیله فرو کردن آن برای چند ثانیه در یک ظرف متانول تثبیت کنید. تأخیر زمان تثبیت ممکن است نمایان شدن دانه‌های شوفر (Schuffner's dots) و مارر (Maurer's spots) را دشوار سازد. به منظور ایجاد دهموگلوبینه شدن گسترش ضخیم نباید آن را تثبیت کرد؛ بنابراین، باید از تماس متانول یا بخار متانول با گسترش ضخیم خودداری نمود.
۲. لام‌ها را پشت سر هم در یک ظرف رنگ‌آمیزی قرار دهید.
۳. یک محلول گیمسا ۳٪ در آب مقطر یا غیر یونیزه با pH ۷/۲ به مقدار کافی برای چند ظرف مورد استفاده تهیه کنید. رنگ را به خوبی مخلوط کنید.



تکنیک‌های رنگ‌آمیزی گیمسا:

روش سریع

گسترش‌های ضخیم و نازک خون روی یک لام

این روش برای رنگ‌آمیزی سریع گسترش‌های ضخیم در یک آزمایشگاه شلوغ و پرکار مناسب است؛ به‌ویژه موقعی که نتایج به‌سرعت نیاز باشد. اما در این روش رنگ بسیار زیادی مصرف می‌شود.

روش رنگ‌آمیزی لام‌های منفرد

۱. اجازه دهید لام‌های گسترش ضخیم کاملاً خشک شوند، ولی در صورتی که دستیابی سریع به نتایج ضروری باشد، می‌توان گسترش‌های ضخیم را به کمک بادزن یا قراردادن در معرض گرمای ملایم (مثل گرمای لامپ میکروسکوپ یا هوای گرم سشوار) خشک کرد. البته مراقب باشید تا از گرمادادن بیش از حد پرهیز شود، در غیر این صورت، گسترش ضخیم به وسیله گرمای تثبیت خواهد شد.

۲. لام‌های گسترش نازک از طریق مربوط کردن آرام آنها به کمک مالش یک پارچه کتان مرطوب شده با متانول یا غوطه‌ور کردن لام در یک ظرف حاوی متانول برای چند ثانیه تثبیت می‌شوند. به منظور هموگلوبینه شدن گسترش ضخیم نباید آن را تثبیت کرد، بنابراین باید از تماس متانول یا بخار آن با گسترش ضخیم خودداری نمود.

۳. یک محلول گیمسای ۱۰٪ را در بافری از آب مقطر یا غیر یونیزه با pH ۷/۲ تهیه کنید. اگر مقدار کمی از آن محلول نیاز باشد، ۳ قطره از رنگ را به هر میلی‌لیتر آب بافر اضافه کنید تا غلظت مناسب محلول گیمسا به دست آید. هر لام حدود ۳ میلی‌لیتر از محلول رنگی تهیه شده را نیاز دارد (۹ قطره گیمسا در ۳ میلی‌لیتر آب).

۴. به آرامی رنگ را روی لام بریزید. برای این کار می‌توان از یک پیپت استفاده کرد، یا می‌توان لام‌ها را رو به پایین در یک صفحه مقعر رنگ‌آمیزی قرار داد و در زیر لام رنگ ریخت.

۵. رنگ تا ۱۰ دقیقه روی لام باقی بماند.

۶. با افزودن قطره‌های آب تمیز، رنگ را به آرامی از روی لام بشوید. در هنگام شستن لام، هیچ‌گاه لام رنگ‌شده را کج نکنید؛ زیرا باعث چسبیدن مقداری از بقایای رنگ روی نمونه می‌شود.

۷. به منظور چکیدن آب و خشک کردن لام‌ها، آنها را روی یک ریل و به سمت پایین قرار دهید تا آب آن چکیده و خشک شوند. دقت کنید تا گسترش‌ها با ریل تماس نداشته باشند.

توجه: ارزیابی یک گسترش نازک رنگ‌آمیزی شده با کیفیت مطلوب

(الف) زمینه لام باید تمیز و عاری از هر گونه بقایای مواد باشد. رنگ گلبول‌های قرمز به رنگ صورتی مایل به خاکستری کم‌رنگ است.

(ب) هسته‌های گلبول‌های سفید نوتروفیل به رنگ ارغوانی تیره و دانه‌ها (گرانول‌ها) به خوبی در آن مشخص هستند.

(ج) کروماتین انگل‌های مالاریا به رنگ قرمز ارغوانی تیره و سیتوپلاسم آنها به رنگ آبی مایل به ارغوانی روشن است.

(د) در گلبول‌های قرمز حاوی پلاسمودیوم ویواکس یا پلاسمودیوم اوآل نقاطی به نام دانه‌های شوفر در گلبول‌های قرمز حاوی اشکال رینگ بزرگ پلاسمودیوم فالسیپاروم نقاطی به نام دانه‌های مارر به خوبی مشخص هستند.



**روش شمارش
انگل‌های مالاریا
در لام‌های گسترش ضخیم خون**

۳. می‌توان تعداد انگل‌های هر میکرولیتر خون را با فرمول ساده زیر محاسبه کرد:

$$\frac{\text{تعداد انگل شمارش شده}}{\text{تعداد گلبول‌های سفید شمارش شده}} \times 8000 = \text{تعداد انگل‌ها در هر میکرولیتر خون} = 8000 \times$$

به عبارت دیگر، اگر ۲۰۰ گلبول سفید را شمرده‌اید، تعداد انگل‌ها را ضرب در ۴۰ و اگر ۵۰۰ گلبول سفید را شمرده‌اید، تعداد انگل‌ها را ضرب در ۱۶ کنید تا تعداد انگل‌ها در هر میکرولیتر خون به دست آید. ۴. این روش برای شمارش تمام گونه‌های انگل و فرم‌های جنسی و غیرجنسی معمول است. البته گاهی گامتوسیت‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم مجزا شمرده می‌شوند. در این صورت، باید جزء شمارش عمومی انگل نیز محسوب شود. به ندرت ممکن است گامتوسیت‌های پلاسمودیوم ویواکس یا پلاسمودیوم مالاریه از انگل‌های غیرجنسی، به طور مجزا شمارش شوند.

II. شمارش انگل‌ها به کمک سیستم جمع

سیستم جمع روشی ساده‌تر است که برای شمارش انگل‌ها در گسترش ضخیم خون به کار می‌رود. در این روش، انگل‌های شمارش شده را با یک تا چهار علامت (-) بر حسب تعداد انگل به شرح زیر نشان می‌دهیم:

$$+ = 1-10 \text{ انگل در هر } 100 \text{ فیلد گسترش ضخیم}$$

$$++ = 11-100 \text{ انگل در هر } 100 \text{ فیلد گسترش ضخیم}$$

$$+++ = 1-10 \text{ انگل در یک فیلد گسترش ضخیم}$$

$$++++ = \text{بیش از } 10 \text{ انگل در یک فیلد گسترش ضخیم}$$

این سیستم فقط زمانی استفاده می‌شود که روش مقبول‌تر شمارش تعداد انگل در هر میکرولیتر خون امکان‌پذیر نباشد.

I. شمارش انگل‌ها در هر میکرولیتر خون

در اینجا یک روش عملی با دقت کافی ارائه می‌شود. این روش بر اساس شمارش تعداد انگل‌ها در هر میکرولیتر خون در یک گسترش ضخیم پایه‌گذاری شده است. این انگل‌ها در ارتباط با تعداد گلبول‌های سفید از پیش تعیین شده شمارش می‌شوند.

به طور متوسط تعداد ۸۰۰۰ گلبول سفید در هر میکرولیتر به عنوان استاندارد در نظر 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 می‌کند. قبل از شروع شمارش مقدار ۰/۲۵ میکرولیتر خون (حدود ۱۰۰ فیلد میکروسکوپ با عدسی چشمی با بزرگ‌نمایی ۷ و عدسی شیئی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ با روغن ایمرسیون) را در گسترش ضخیم آزمایشی بررسی کنید تا گونه‌های انگل و مراحل انگلی موجود تعیین شود. سپس، روش مناسب شمارش انگل در لام‌های مثبت را براساس اصول زیر انجام دهید:

۱. دو شمارنده مشابه برای شمارش جداگانه تعداد انگل و گلبول‌های سفید نیاز است.

۲- الف) اگر پس از شمارش ۲۰۰ گلبول سفید، ۱۰ عدد یا بیشتر انگل وجود داشته باشد، نتایج در فرم ثبت مشخصات یادداشت می‌شود که بیان‌کننده تعداد انگل در هر ۲۰۰ گلبول سفید است.

۲- ب) اگر شمارنده انگل پس از شمارش ۲۰۰ گلبول سفید، ۹ انگل یا تعداد کمتر را نشان دهد، شمارش گلبول سفید را تا ۵۰۰ عدد ادامه دهید. تعداد انگل‌های شمارش شده در هر ۵۰۰ گلبول را ثبت نمایید.

طرز تهیه گسترش‌های ضخیم و

نازک خون روی لام



به منظور انجام کارهای میکروسکوپی معمول و رایج در تشخیص مالاریا، یک گسترش ضخیم و یک گسترش نازک روی یک لام تهیه می‌شوند، گسترش‌های نازک مانند برچسب به کار می‌رود، ولی اگر خوب تهیه شده باشند، برای تعیین گونه‌های انگل نیز کاربرد خواهند داشت. بهتر است به منظور بررسی انگل مالاریا از گسترش ضخیم استفاده شود.

وسایل و مواد لازم برای گسترش خون

■ پارچه کتانی تمیز	■ لام‌های بسته‌بندی شده تمیز
■ جعبه لام با پوشش محافظ گسترش‌های خشک شده خون	■ لانست‌های استریل
■ مداد نرم	(از کاربرد سوزن‌های زیرجلدی یا لانست‌هایی که فقط با الکل استریل شده‌اند، خودداری شود)
■ فرم ثبت یا بایگانی	■ متانول ۷۰٪
■ خودکار	■ پنبه تمیز جاذب رطوبت

پس از ثبت اطلاعات بیمار در فرم پذیرش، گسترش‌های خون به روش زیر تهیه می‌شود:

۱. کف دست چپ بیمار را به طرف بالا نگه دارید و انگشت سوم را انتخاب کنید (برای نوزادان می‌توانید از انگشت شست پا استفاده کنید. هرگز نباید از انگشت شست دست نوزادان و بزرگسالان استفاده شود).
 ۲. به وسیله 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 می‌شود، به کمک یک پنبه خشک پاک کنید. مطمئن شوید رشته‌های پنبه روی انگشت باقی نماند تا با خون مخلوط شود.
۱. کف دست چپ بیمار را با یک قطعه پنبه آغشته به الکل تمیز کنید.
 ۲. پنبه را محکم روی انگشت بیمار بکشید تا جرم و چربی آن پاک شود.



۳. فوری عمل کنید و لام‌های تمیز را از لبه نگاه‌دارید و مطابق روش زیر خون بگیرید:

■ با فشار دادن ملایم انگشت، یک قطره کوچک و منفرد از خون به اندازه ● در وسط قرار دهید. این قطره برای گسترش نازک به کار می‌رود.

■ فشار بیشتری به انگشت وارد کنید تا خون بیشتری خارج شود. سپس ۲ تا ۳ قطره بزرگتر به اندازه ● در فاصله یک سانتی‌متری از قطره خون منفرد روی لام قرار دهید.

■ بقایای خونی را که از انگشت خارج می‌شود، با یک تکه پنبه پاک کنید.

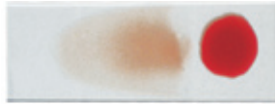


۴. **گسترش نازک.** از یک لام تمیز دیگر به‌عنوان پخش‌کننده استفاده کنید. لام حاوی خون را روی یک سطح صاف و سخت قرار دهید. «پخش‌کننده» را با قطره کوچک خون تماس دهید تا خون در طول لبه لایه پخش شود. سپس لام پخش‌کننده را با زاویه ۴۵° نگاه‌دارید و محکم به سطح لام بکشید (از سمت مخالف قطرات مخصوص گسترش ضخیم) تا خون در سطح لام پخش شود. مراقب باشید در حین تهیه گسترش لبه پخش‌کننده با سطح لام در تماس دائم باشد.



۵. **گسترش ضخیم.** همیشه لام را به‌وسیله لبه‌های آن یا یک گوشه آن بردارید و بگذارید تا گسترش ضخیم مطابق روش زیر تهیه شود:

■ با گوشه لام پخش‌کننده به‌سرعت قطره‌های خون را به هم متصل و سپس آنها را پخش کنید تا گسترش ضخیم یکنواختی به‌دست‌آید. خون نباید با شدت زیاد هم‌زده شود، بلکه با ۳ تا ۶ حرکت می‌تواند به شکل دایره یا مستطیل گسترش یابد.



۶. در عرض قسمت ضخیم‌تر گسترش نازک خشک، نام یا شماره بیمار و تاریخ تهیه 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.




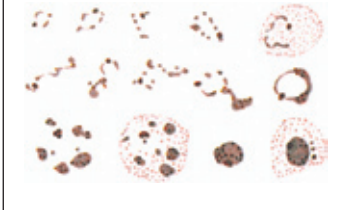
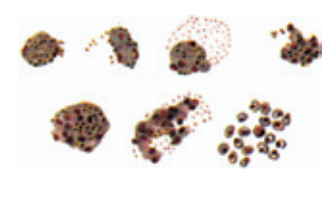

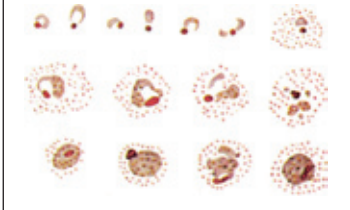
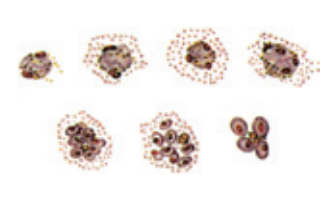




۷. این گسترش را در فرم پذیرش و ثبت بیمار پیچیده و در اولین فرصت به آزمایشگاه منتقل کنید.

۸. اکنون لام استفاده‌شده برای پخش کردن خون را می‌توان برای بیمار بعدی استفاده کرد و یک لام تمیز دیگر به‌عنوان پخش‌کننده استفاده خواهد شد.

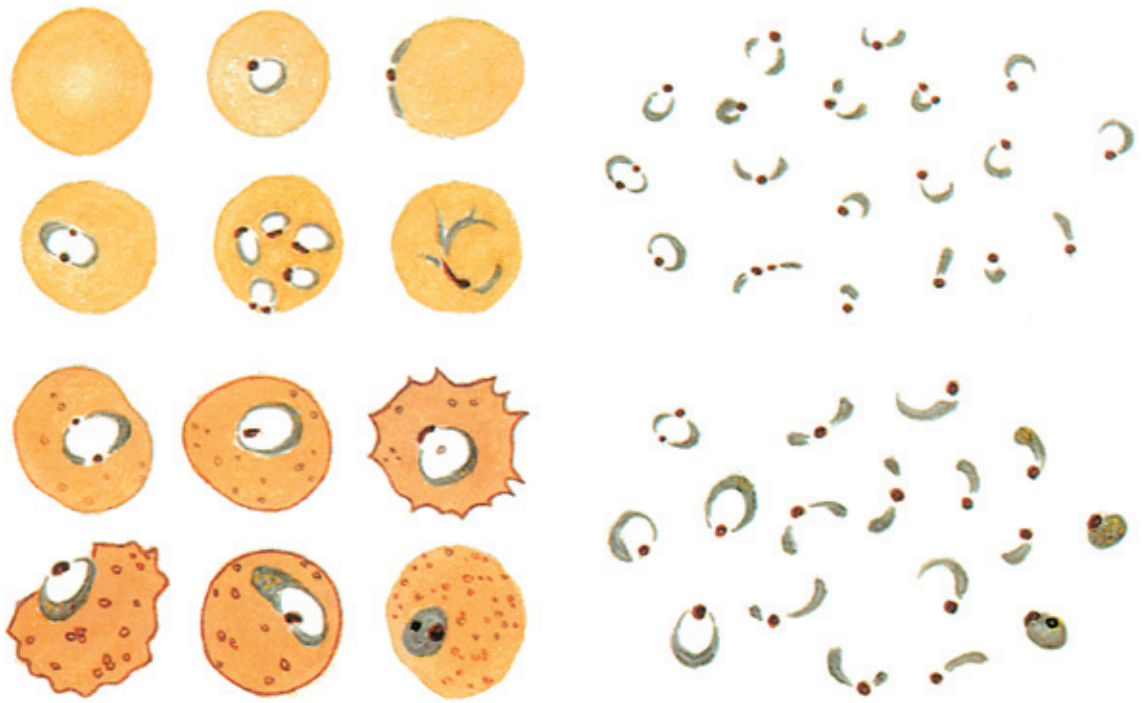


نمونه‌ای از یک گسترش ضخیم و نازک که به‌طور صحیح تهیه شده‌است.

مراحل انگل در خون محیطی

گونه‌ها	تروفوزوئیت	شیزونت	گامتوسیت
<p>پلاسمودیوم فالسیپاروم</p> <p>به‌طور معمول تروفوزوئیت‌های در حال رشد جوان با گامتوسیت‌های بالغ دیده می‌شوند.</p>	 <p>اندازه: کوچک تا متوسط تعداد: اغلب فراوان شکل: عموماً حلقوی کامل و کاماشکل کروماتین: اغلب دونقطه‌ای سیتوپلاسم: منظم، ظریف تا گوشتی شکل‌های بالغ: گاهی در مالاریای شدید وجود دارد، فشرده با رنگدانه به‌صورت یک توده یا چند دانه پراکنده</p>	 <p>به‌طور معمول با تعدادی شکل‌های حلقوی جوان مرتبط است. اندازه: کوچک و فشرده تعداد: کم و ناشایع، به‌طور معمول در مالاریای شدید شکل‌های بالغ: ۱۲ تا ۳۰ مروزوئیت یا بیشتر به‌صورت خوشه فشرده رنگدانه: توده تیره منفرد</p>	 <p>شکل‌های نابالغ: به شکل انتهای نوک تیز شایع نیست. شکل‌های بالغ: موزی شکل یا گرد کروماتین: منفرد و کاملاً واضح رنگدانه: پراکنده، درشت، شبیه دانه برنج در برخی موارد زائده برجسته صورتی‌رنگ وجود دارد. اغلب شکل‌های ساییده شده فقط با کروماتین و رنگدانه دیده می‌شوند.</p>
<p>پلاسمودیوم ویواکس</p> <p>همه مراحل دیده می‌شود: دانه‌های شونتر در زمینه گلبول‌های قرمز میزبان به‌ویژه در لبه گسترش دیده می‌شود.</p>	 <p>اندازه: کوچک تا بزرگ تعداد: کم تا متوسط شکل: عموماً حلقوی شکسته تا شکل‌های نامنظم معمول است کروماتین: یک و گاهی دو تا سیتوپلاسم: نامنظم یا قطعه‌قطعه شکل‌های بالغ: فشرده و متراکم رنگدانه: پراکنده و ظریف</p>	 <p>اندازه: بزرگ تعداد: کم تا متوسط شکل‌های بالغ: ۱۲ تا ۲۴ مروزوئیت و به‌طور معمول ۱۶ عدد در خوشه نامنظم رنگدانه: توده غیرمتراکم</p>	 <p>شکل‌های نابالغ: تشخیص تروفوزوئیت‌های بالغ از نابالغ دشوار است. شکل‌های بالغ: گرد و بزرگ کروماتین: منفرد و کاملاً واضح رنگدانه: پراکنده، ظریف و شکل‌های فرسوده با سیتوپلاسم کم یا بدون سیتوپلاسم و فقط کروماتین و رنگدانه وجود دارد.</p>
<p>پلاسمودیوم اول</p> <p>همه مراحل دیده می‌شوند: دانه‌های شونتر به‌طور مشهود و مشخص در گلبول‌های قرمز به‌ویژه در لبه گسترش دیده می‌شود.</p>	 <p>اندازه: ممکن است از پلاسمودیوم ویواکس کوچک‌تر باشد. تعداد: به‌طور معمول کم شکل: حلقوی تا گرد و فشرده کروماتین: منفرد و برجسته سیتوپلاسم: نسبتاً واضح، منظم و گوشتی رنگدانه: پراکنده و ضخیم</p>	 <p>اندازه: بیشتر شبیه پلاسمودیوم مالاریه تعداد: کم شکل‌های بالغ: ۴ تا ۱۲ مروزوئیت و به‌طور معمول ۸ عدد در خوشه غیرمتراکم رنگدانه: توده متمرکز</p>	 <p>شکل‌های نابالغ: تشخیص تروفوزوئیت‌های بالغ از نابالغ دشوار است. شکل‌های بالغ: گرد و ممکن است از پلاسمودیوم ویواکس کوچک‌تر باشد. کروماتین: منفرد و کاملاً واضح رنگدانه: پراکنده، ضخیم و شکل‌های فرسوده فقط با کروماتین و رنگدانه وجود دارد.</p>
<p>پلاسمودیوم مالاریه</p> <p>همه مراحل دیده می‌شود.</p>	 <p>اندازه: کوچک تعداد: به‌طور معمول کم شکل: حلقوی تا گرد و فشرده کروماتین: منفرد و بزرگ سیتوپلاسم: منظم و متراکم رنگدانه: پراکنده، فراوان، و در شکل‌های قدیمی تر زرد کم‌رنگ</p>	 <p>اندازه: کوچک و فشرده تعداد: کم شکل‌های بالغ: ۶ تا ۱۲ مروزوئیت و به‌طور معمول ۸ عدد شکل خوشه‌های غیرمتراکم و برخی ظاهراً بدون سیتوپلاسم رنگدانه: متمرکز</p>	 <p>تشخیص شکل‌های نابالغ و برخی شکل‌های واقعاً بالغ از تروفوزوئیت‌ها دشوار است. شکل‌های بالغ: گرد و فشرده کروماتین: منفرد و کاملاً واضح رنگدانه: پراکنده، ضخیم و ممکن است محیطی پراکنده شده باشد شکل‌های فرسوده: فقط با کروماتین و رنگدانه وجود دارد.</p>

تصویر شماره ۱
شناسایی گونه‌های انگل مالاریا در گسترش‌های ضخیم خون
رنگ‌آمیزی شده با گیمسا



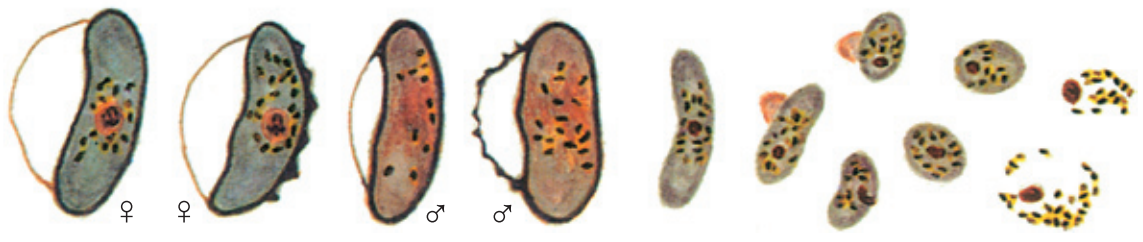
تروفوزوئیت‌ها



شیزونت‌ها



گامتوسیت‌ها



گسترش نازک

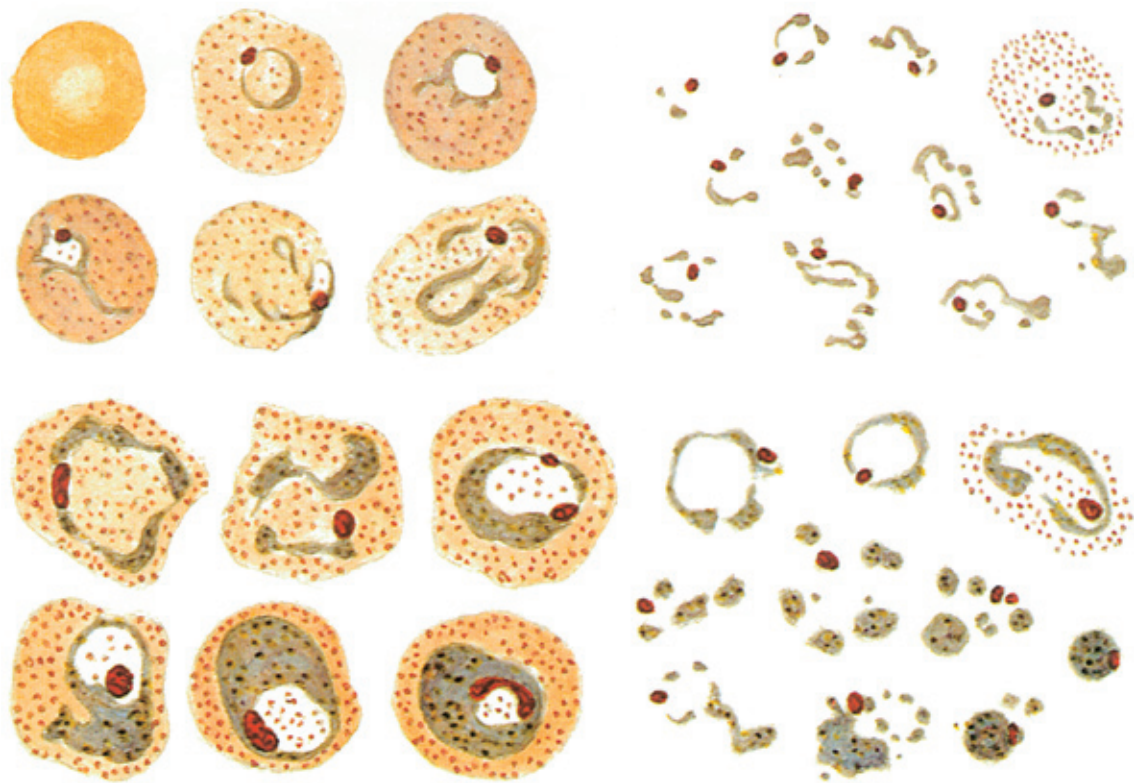
گسترش ضخیم

پلاسمودیوم فالسیپاروم

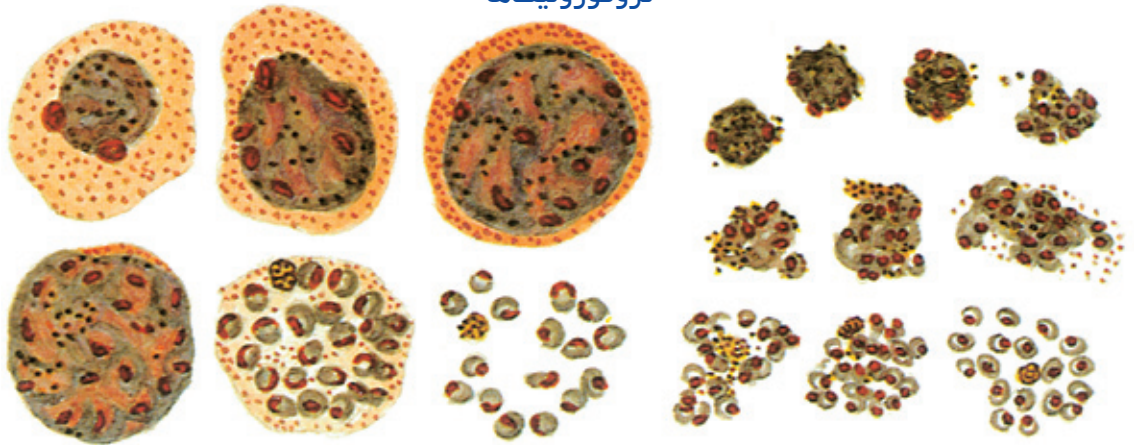
تصویر شماره ۲

نمای ظاهری مراحل مختلف در

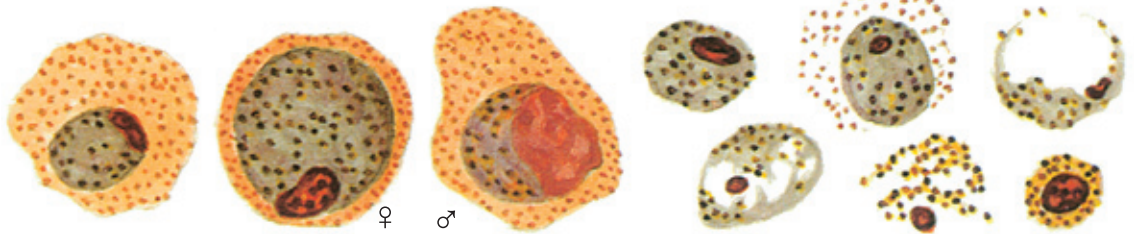
گسترش‌های نازک و ضخیم خون رنگ‌آمیزی شده با گیمسا



تروفوزوئیت‌ها



شیزونت‌ها



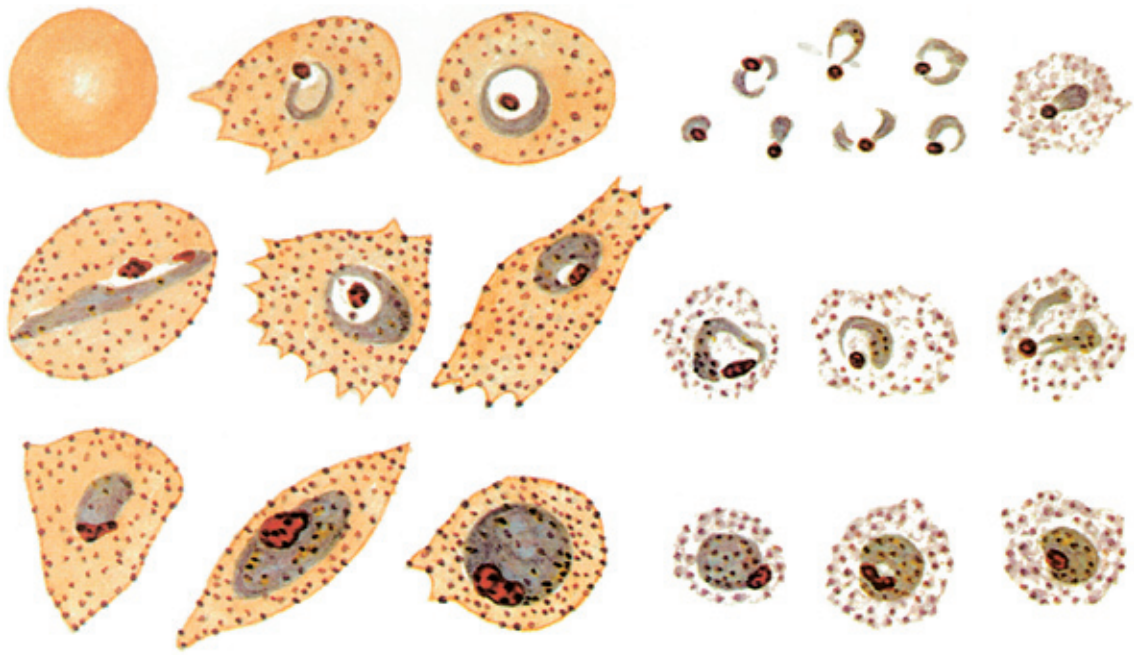
گامتوسیت‌ها

گسترش نازک

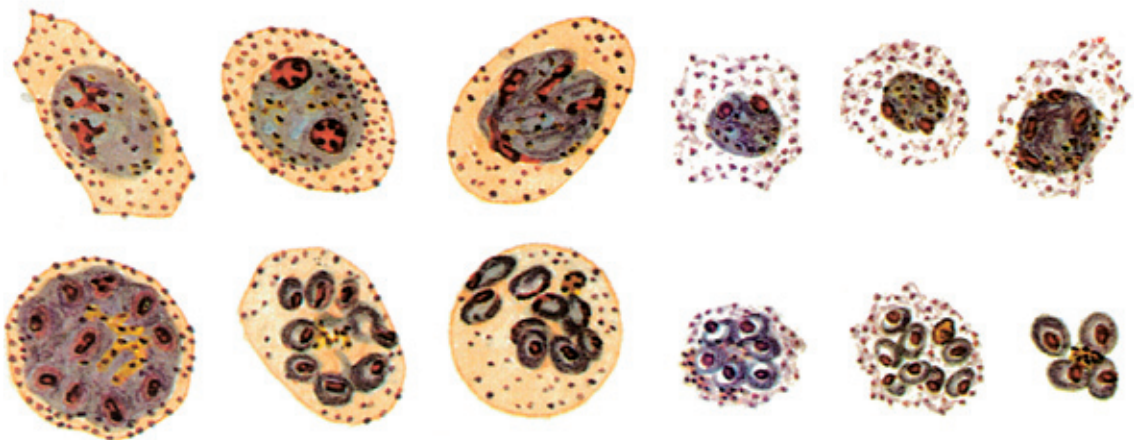
گسترش ضخیم

پلاسمودیوم ویواکس

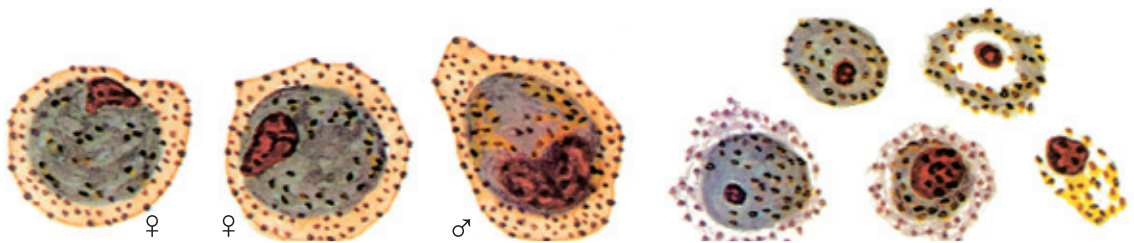
تصویر شماره ۳
 نمای ظاهری مراحل مختلف در
 گسترش‌های نازک و ضخیم و رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا



تروفوزوئیت‌ها



شیزونت‌ها



گامتوسیت‌ها

گسترش نازک

گسترش ضخیم

پلاسمودیوم اووال

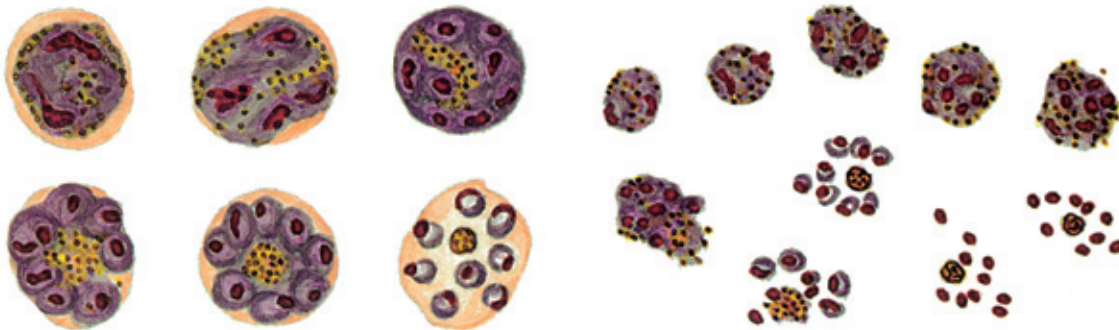
تصویر شماره ۴

نمای ظاهری مراحل مختلف در

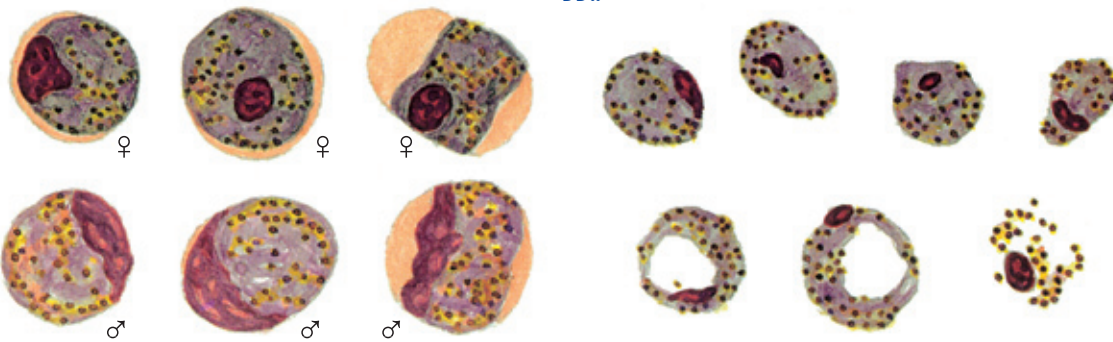
گسترش‌های نازک و ضخیم و رنگ‌آمیزی شده با گیمسا



تروفوزوئیت‌ها



شیزونت‌ها



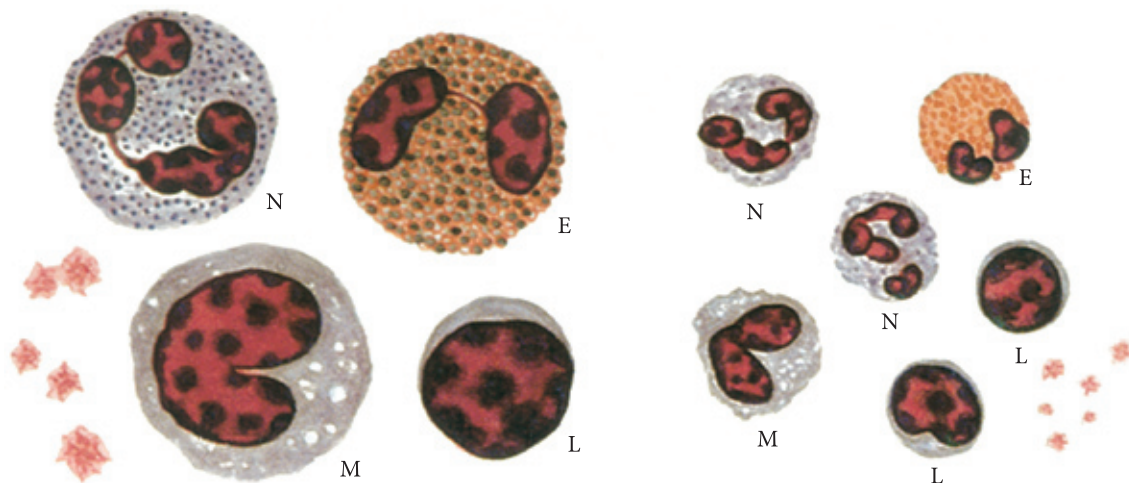
گسترش نازک

گامتوسیت‌ها

گسترش ضخیم

پلاسمودیوم مالاریه

تصویر شماره ۵
 نمای ظاهری مراحل مختلف در
 گسترش‌های نازک و ضخیم و رنگ‌آمیزی شده با گیمسا



گلبول‌های سفید

گسترش نازک

گسترش ضخیم

N = نوتروفیل

E = ائوزینوفیل

M = مونوسیت

L = لنفوسیت

P = پلاکت



گلبول‌های قرمز

گسترش نازک

گسترش ضخیم

MC = میکروسیت

PM = ماکروسیت پلی‌کروماتیک

PC = پویکیلوسیت

PB = بازوفیلیای نقطه‌ای

RC = ابرهای شبکه‌ای و اجسام کروماتوئید در کم‌خونی شدید

NC = نورموسیت (گلبول قرمز طبیعی)

CR = رینگ کابوت HJ = اجسام هاول جولی

تصویر شماره ۶

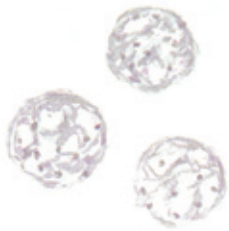
اشکال عناصر سلولی در گسترش‌های ضخیم و

نازک خون رنگ‌آمیزی شده با گیمسا

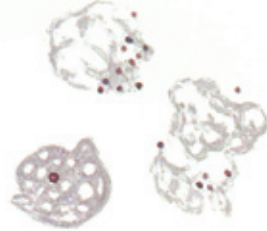


تصویر شماره ۷

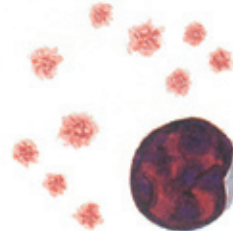
تأثیر pH روی انگل‌های مالاریا در رنگ‌آمیزی گیمسا



توده‌ها و زواید کروماتوئید
حاصل از گلبول‌های قرمز نابالغ
در کم‌خونی شدید



گروه‌های مجزا از
گراتول‌های انوزینوفیل

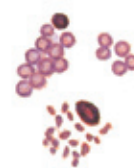
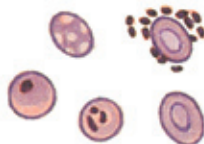


پلاکت‌های خون لنفوسیت
برای مقایسهٔ اندازهٔ آن
با پلاکت

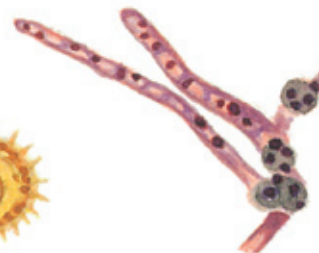
عناصر خونی



باکتری‌ها



هاگ‌ها



سلول‌های گیاهی

ریسه و اسپورهای قارچ



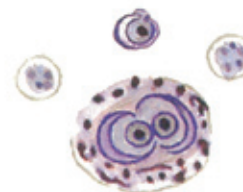
ذرات گرد و خاک



کریستال‌های
رنگ‌آمیزی گیمسا



خراش‌های دنده‌ای شکل در
لام‌های شیشه‌ای



حفره‌های کریستالین
در لام بلوری

منابع مختلف

تصویر شماره ۸

عناصر اشتباه‌برانگیز در تشخیص انگل





نکته‌های مهم در راستای تشخیص، درمان و پیگیری مالاریا

الف) تشخیص

- آزمایش لام خون محیطی بهترین راه تشخیص آزمایشگاهی مالاریا است.
- یک لام خون منفی نمی‌تواند نشانه مبتلانی بودن به مالاریا باشد. توصیه می‌شود در مواردی که بیمار به ابتلا به مالاریا مشکوک است، ولی لام خون محیطی منفی است (به‌ویژه در گروه‌های پرخطر)، روزهای بعد نیز آزمایش لام خون محیطی تکرار شود.
- نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه حتماً باید در همان روز آزمایش شوند.
- آموزش مسئولان مراقب و بهورزان برای لام‌گیری از وظایف میکروسکوپیست است.
- کنترل مجدد ۱۰٪ تا ۳۰٪ لام‌های منفی، تمام لام‌های مثبت و تمام لام‌های تعقیب ضروری است.
- لازم است تمام لام‌های آزمایش‌شده (منفی و مثبت) در بیمارستان‌ها به مدت ۲۴ ساعت پس از تهیه توسط یک میکروسکوپیست دیگر دوباره کنترل شود.
- در مواجهه با موارد تبار و بیماران با اختلال هوشیاری احتمال ابتلا به مالاریا را مدنظر داشته باشید.

گروه‌های پرخطر که نیازمند توجه بیشتر برای تشخیص هستند:

- اتباع افغانستان و پاکستان،
- بیماران با سابقه ابتلا به مالاریا،
- افراد با سابقه مسافرت به مناطق مالاریاخیز در یک سال گذشته،
- ساکنان مناطق مالاریاخیز.

ب) درمان

- درمان بیمار مبتلا به مالاریا باید در کمتر از ۲۴ ساعت پس از تشخیص شروع شود.
- درمان موارد مالاریا براساس راهنمای کشوری درمان مالاریا و تجویز برنامه دارویی توصیه شده ضروری است.
- ثبت اطلاعات مربوط و تکمیل دقیق فرم درمان مالاریا ضروری است.

مالاریای شدید

- برای پرهیز از هرگونه اشتباه توصیه می‌شود هر بیمار مبتلا به مالاریا به‌ویژه مالاریای فالسیپاروم ترجیحاً توسط پزشک معاینه شود.
- وجود علائم مالاریای شدید را در هر بیمار مبتلا به مالاریا در هر مرحله از درمان یا در زمان تهیه لام تعقیب بررسی کنید و موارد مشکوک به مالاریای شدید را سریع به پزشک ارجاع دهید.



نشانه‌های خطر در بیماری مالاریا (بالینی و آزمایشگاهی)

بالینی

- ناتوانی در خوردن، آشامیدن، نشستن و ایستادن؛
- استفراغ مکرر؛
- اختلال هوشیاری و گیجی؛
- تشنج؛
- اختلال تنفسی (افزایش تعداد تنفس)؛
- کلاپس عروقی و شوک؛
- هایپرپیرکسی؛
- (حرارت رکتال بالاتر از ۴۰ یا زیر بغل بیش از ۳۹/۵ درجه سانتی‌گراد)؛
- ایکتر (زردی اسکلرا)؛
- رنگ‌پریدگی کف دست یا ناخن‌ها؛
- ادرار تیره‌رنگ؛
- خونریزی غیرعادی، پتشی، پورپورا و خونریزی لثه و بینی.

آزمایشگاهی

- پارازیمی بیشتر از ۴ درصد در لام خون محیطی؛
- کاهش قند خون (کمتر از ۴۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر یا ۲/۲ میلی‌مول/لیتر)؛
- کم‌خونی شدید نورموسیتیک (هموگلوبین کمتر از ۵ گرم/دسی‌لیتر و هماتوکریت کمتر از ۱۵ درصد)؛
- اسیدوز (بی‌کربنات کمتر از ۱۵ میلی‌مول/لیتر)؛
- افزایش لاکتات خون (بیشتر از ۵ میلی‌مول/لیتر)؛
- نارسایی کلیه (کراتینین بیشتر از ۳ میلی‌گرم/دسی‌لیتر)؛
- هموگلوبینوری؛
- وجود شواهد رادیولوژیک از ادم ریوی.

ج) پیگیری

- به بیماران مبتلا به مالاریا توصیه کنید که در اسرع وقت به آزمایشگاه مراجعه نمایند.
- تمام بیماران مبتلا به مالاریای فالیپاروم یا عفونت میکس برای اطمینان از بهبودی کامل پیگیری شوند و در روزهای سوم، هفتم، چهاردهم، بیست‌ویکم و بیست‌وهشتم از آنها لام خون محیطی تهیه شود.
- در صورت بروز تب در روزهای سوم تا بیست‌وهشتم درمان تهیه لام خون محیطی در همان روز الزامی است.
- تهیه لام خون محیطی در فاصله روزهای چهلیم و شصتم شروع درمان توصیه می‌شود.
- توصیه می‌شود از تمام موارد ویواکس در فاصله روزهای چهاردهم تا بیست‌وهشتم پس از شروع درمان یک نوبت لام تعقیب تهیه شود.

مراقبت بررسی کانون

توصیه می‌شود در صورت کشف موارد مالاریا، برای کشف موارد احتمالی در منطقه مراقبت بررسی کانون برای تهیه لام بررسی انجام شود.

دفعات زمانی بیماریابی مراقبت بررسی کانون:

- حداقل ۴ نوبت مراقبت بیماریابی فعال به فاصله یک هفته انجام شود.
- اولین نوبت بیماریابی باید در فاصله ۲۴ ساعت پس از کشف مورد مالاریا باشد.

محدوده جغرافیایی مراقبت بررسی کانون:

- در روستاهای با جمعیت کمتر از ۵۰ خانوار، تمام روستا و در شهر و روستاهای دارای بالای ۵۰ خانوار، حداقل ۵۰ خانوار در مجاورت مالاریا مراقبت شوند.

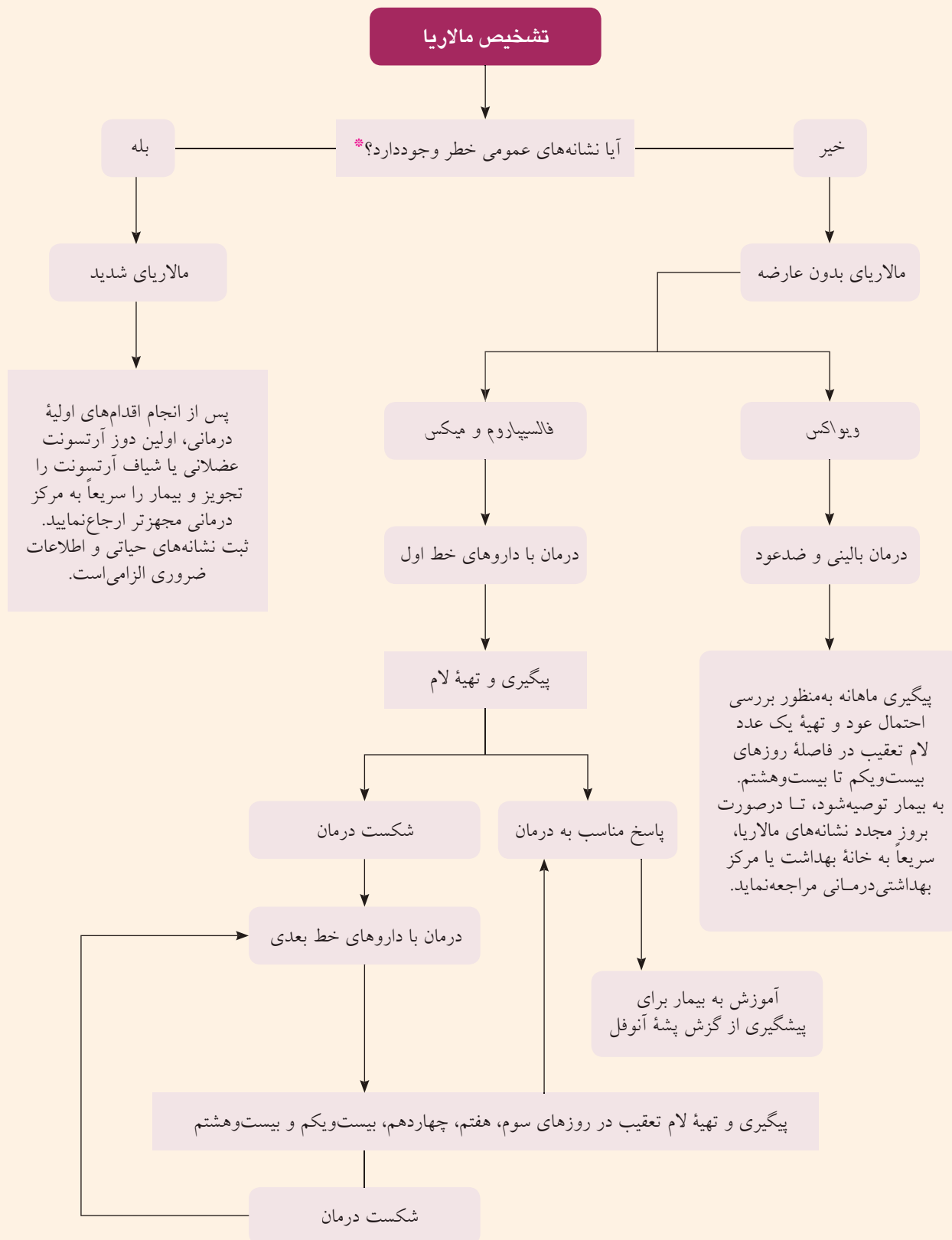
در مراقبت بررسی کانون از چه افرادی لام بررسی تهیه شود؟

- از کسانی که احساس کسالت می‌کنند و علائم مالاریا دارند.
- از کسانی که در یک ماه گذشته بیمار بوده‌اند.
- از کسانی که سابقه ابتلا به مالاریا دارند، حتی چنانچه در حال حاضر علائم ندارند.
- از اتباع افغانستان و پاکستان حتی اگر علائم ندارند.

مالاریای ویواکس

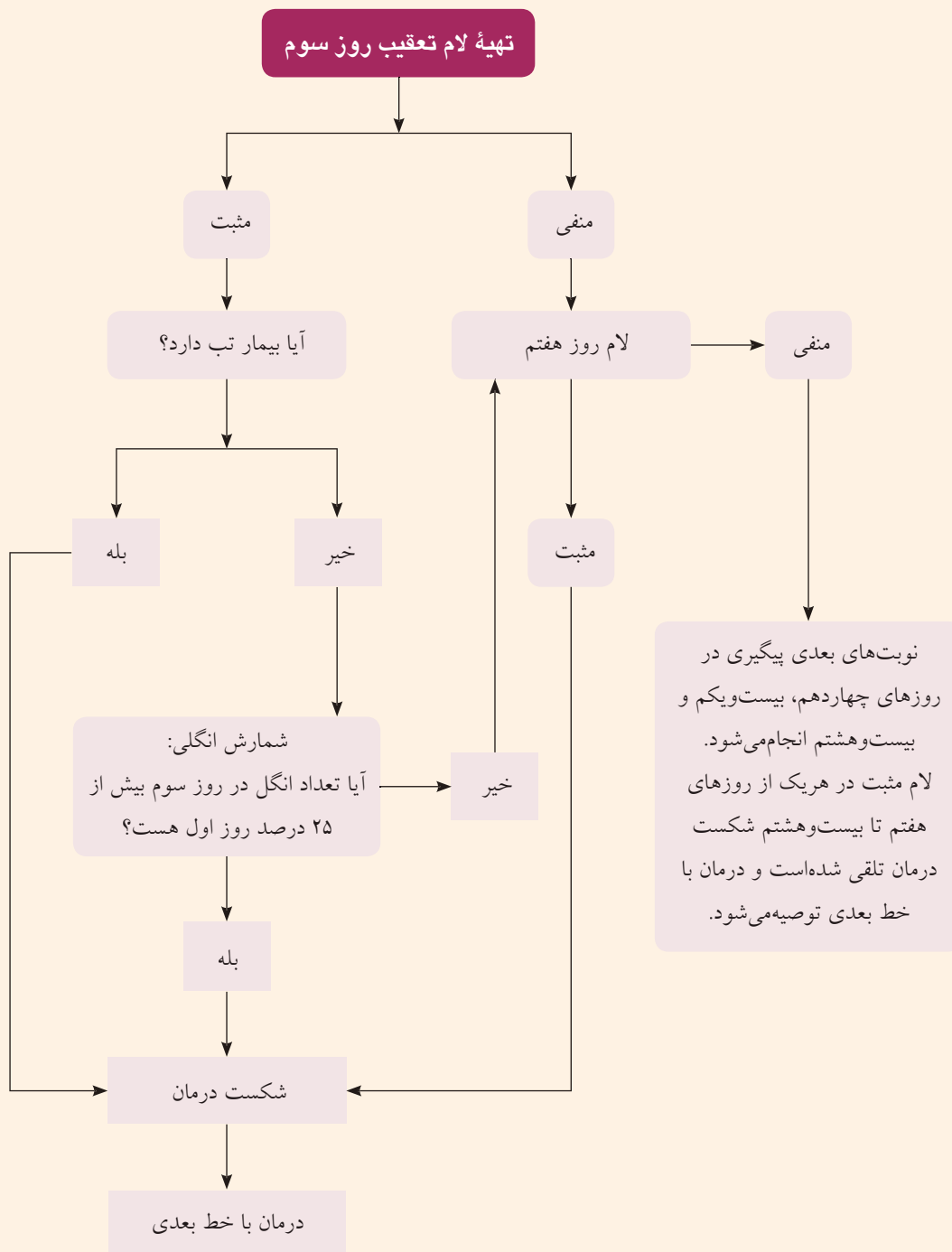
- در صورت مواجهه با بیمار مبتلا به ویواکس که لام تعقیب آن مثبت بوده یا علائم بهبودی نداشته‌است:
- امکان عفونت میکس را بررسی کنید.
- سریع مورد را برای پیگیری‌های بیشتر به واحد پیشگیری و کنترل مالاریای شهرستان و دانشگاه گزارش کنید.

دیگرام درمان و پیگیری مبتلایان به مالاریا



* در هر نوبت درمان یا پیگیری، ضروری است بیمار از نظر نشانه‌های عمومی خطر ارزیابی شود و در صورت مشاهده هر یک از نشانه‌های خطر، طبق توصیه مذکور اقدام شود.

دیاگرام پیگیری بیمار مبتلا به مالاریای فالسیپاروم



منابع

1. WHO; *Bench aids for the diagnosis of malaria*, Malaysia; 1995.

۲. صائبی، اسماعیل و دیگران؛ راهنمای درمان مالاریا (در جمهوری اسلامی ایران)؛ صدا؛ چاپ دوم؛ تهران؛ ۱۳۸۵.