

مجموعه کتب آموزشی تشخیص مالاریا

عنوان و نام پدیدآوردگان : مجموعه کمک آموزشی تشخیص مالاریا
پدیدآوردگان: ناهید حسین زاده سردارآبادی و محمد تقی سطوت. (برای وزارت
بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
معاونت سلامت، مرکز مدیریت بیماری های واگیردار - اداره کنترل مالاریا

مشخصات ظاهری: ۵۶ صفحه، مصور، جدول و نمودار
یادداشت کنندگان: ناهید حسین زاده سردارآبادی - محمد تقی سطوت

مجموعه کمک آموزشی تشخیص مالاریا

پدیدآوردگان

ناهید حسین زاده سردارآبادی

مهندس محمدتقی سطوت

چاپ اول: شهریور ۱۳۹۷

شمارگان: ۳۰۰۰ جلد

حق چاپ برای مرکز مدیریت بیماری های واگیر محفوظ است.

فهرست

صفحه	عنوان
۴	پیشگفتار
۵	تشکر و قدردانی
۶	مقدمه
۸	انگل های مالاریا انسانی
۹	دوره زندگی انگل های مالاریا
۱۰	آماده کردن وسایل لازم در آزمایشگاه
۱۳	تهیه محلول بافر
۱۴	تهیه محلول استوک گیمسا
۱۵	تهیه گسترش های خون
۱۷	رنگ آمیزی گسترش های خون
۲۲	آشنایی و مراقبت از میکروسکپ
۲۲	مورفولوژی میکروسکوپی انگل مالاریا
۲۳	ارزیابی فنی میکروسکوپیست ها
۲۵	روش های شمارش انگل مالاریا در گسترش خون
۲۶	نکات ضروری تشخیص سریع مالاریا
۲۷	نکات ضروری تشخیص میکروسکوپی مالاریا
۳۰	شناسایی انگل مالاریا در گسترش های خون
۴۶	نکات ضروری تشخیص، درمان و پیگیری موارد مالاریا
۵۴	دیاگرام درمان و پیگیری موارد مبتلا به مالاریا
۵۶	رفرانس

پیشگفتار

یکی از استراتژی‌های کاربردی برای کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری مالاریا در جهان تشخیص سریع و درمان کامل و موثر است. بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت^۱، اگر بیمار مبتلا به مالاریا در مدت ۲۴ ساعت درمان نشود، این بیماری می‌تواند به نوبه خود به بیماری شدید تبدیل گردد که اغلب منجر به مرگ می‌شود. همچنین بر اساس توصیه این سازمان لازم است تمام موارد مشکوک به مالاریا، قبل از درمان تحت بررسی تشخیص میکروسکوپی توسط میکروسکوپیست آموزش دیده و یا روش تشخیص سریع^۲ مالاریا قرار گیرند.

لازم به ذکر است که وجود شواهد آزمایشگاهی برای تمام موارد مشکوک و موارد قطعی مالاریا از الزامات حذف بیماری و پیش نیاز اخذ گواهی حذف مالاریا از سوی سازمان جهانی بهداشت می‌باشد. لذا از آنجایی که هدف برنامه کشوری حذف مالاریا در سال ۱۴۰۴ است. لذا استفاده از روش تشخیص سریع مالاریا علاوه بر نقش آن در نجات جان بیماران از اهمیت بسیار بالایی در برنامه کشوری حذف مالاریا برخوردار است.

به این منظور در سالیان اخیر علاوه بر تقویت کیفی و کمی دوره‌های بازآموزی، نظام تضمین کیفیت و ارزشیابی آزمایشگاه‌های مالاریا توسط ناظر مستقل، برنامه ریزی و اجرا شد که بهبود کیفیت خدمات تشخیص در سراسر کشور را به ارمغان آورد. اگرچه برای رسیدن به نتیجه ایده‌آل باید تلاش بیشتری صورت پذیرد. کاهش چشمگیر موارد مثبت مالاریا اگر چه مایه خرسندی است اما کاهش حساسیت تکنسین‌های آزمایشگاه را به دنبال داشته و بر لزوم سرمایه‌گذاری بیشتر در زمینه ارتقاء مهارت‌های تشخیص میکروسکوپیست‌ها به خصوص تشخیص موارد کم‌انگل و موارد میکس تاکید می‌کند.

این راهنمای کمک آموزشی برای استفاده تکنسین‌های آزمایشگاه شاغل در بخش‌های دولتی و خصوصی تهیه شده است و شامل توصیه‌های فنی و کاربردی است. امید است این مجموعه کمک آموزشی علاوه بر میکروسکوپیست‌ها و تکنسین‌های آزمایشگاه در تمام سطوح نظام ارائه خدمات بهداشتی برای دانشجویان پزشکی، آزمایشگاه بالینی و انگل‌شناسی مفید و قابل استفاده باشد و یاور تلاش گران نظام خدمات بهداشتی درمانی در رسیدن به هدف ملی حذف مالاریا باشد.

1) World Health Organization/ WHO

2) Rapid diagnostic tests/RDTs

تشکر و قدردانی

این مجموعه آموزشی با پشتوانه مالی و حمایت بیدریغ معنوی نماینده برنامه توسعه سازمان ملل در ایران (UNDP) به منظور بهبود ارتقاء کیفی میکروسکوپیست ها و تکنسین های آزمایشگاه فراهم شده است. در تمام سطوح نظام ارائه خدمات بهداشتی برای تشخیص صحیح و سریع مالاریا بخصوص تشخیص موارد منفی، تشخیص موارد کم انگل و موارد میکس تاکید شده است. اگر پشتکار و دلگرمی صادقانه و بیدریغ ایشان نبود تدوین این کتاب میسر نمی شد.

تشکر و سپاس خالصانه برای همکاری بیدریغ در تهیه این مجموعه آموزشی از مسئولین و کارشناسان محترم:

- جناب آقای دکتر ریسی مسئول محترم مرکز مدیریت بیماریهای واگیر

- جناب آقای دکتر منصور رنجبر مدیر پروژه مالاریا برنامه توسعه سازمان ملل در ایران (در زمان تدوین)

- جناب آقای دکتر مرتضی املشی گیلانی کارشناس پروژه مالاریا برنامه توسعه سازمان ملل در ایران

- جناب آقای دکتر مجید طیبی خسروشاهی، دکترای علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

- سرکار خانم لیلا فرجی کارشناس محترم مرکز مدیریت بیماریهای واگیر

تشکر و سپاس بسیار برای همکاری بیدریغ ایشان، در تهیه این مجموعه آموزشی از کارشناس محترم دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

- جناب آقای امید غریبی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

تشکر و سپاس بسیار برای تلاش در تهیه این مجموعه آموزشی از همکاران آزمایشگاه مرکزی و مراکز بهداشت استان سیستان و بلوچستان شهرستان ایران شهر، سرباز و پیشین به ترتیب:

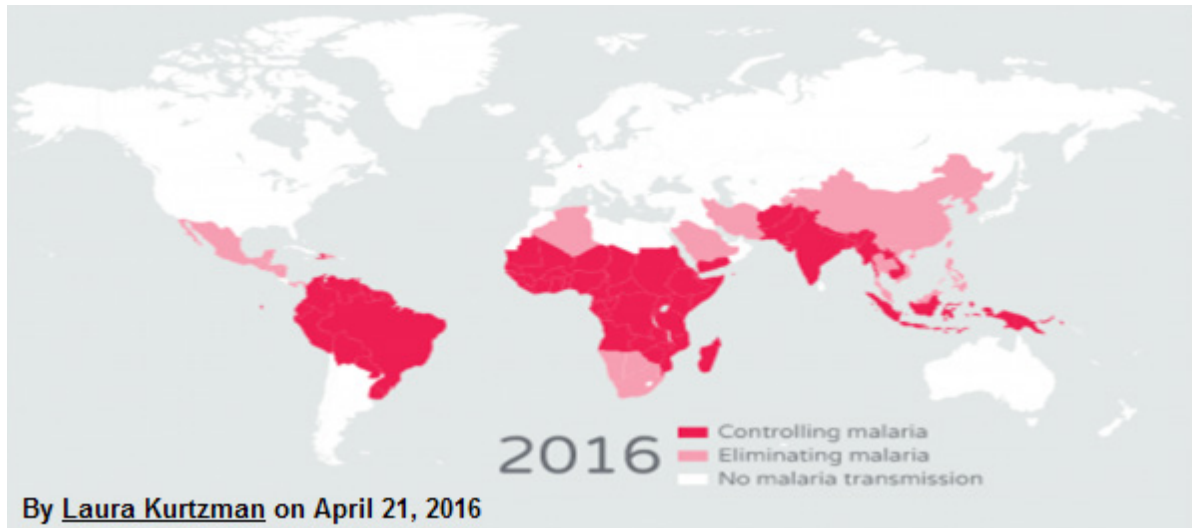
- سرکار خانم پروانه آبسالان، جناب آقای رحمان نارویی از مرکز بهداشت ایران شهر، دانشگاه ایران شهر

- جناب آقای لیاقت علی اسکانی، جناب آقای عبدالوهاب دهقانی از مرکز بهداشت سرباز، دانشگاه ایران شهر

- جناب آقای محمد خردمند، جناب آقای حبیب اله براه از مرکز بهداشتی و درمانی پیشین، دانشگاه ایران شهر

مقدمه

مالاریا یکی از مهم ترین بیماری های انگلی در جهان است که از طریق نیش پشه آنوفل ماده به انسان منتقل میشود. براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۵ حدود ۲۱۲ میلیون مورد جدید مالاریا و حدود ۴۲۹ هزار مورد مرگ در اثر ابتلا به مالاریا در سراسر جهان گزارش شده است. اکثر موارد مرگ و میر در منطقه آفریقا (۹۲ درصد)، پس از آن در منطقه آسیای جنوب شرقی (۶ درصد) و در منطقه مدیترانه شرقی (۲ درصد) روی داده است.



در ایران از سال ۲۰۱۰ رسماً هدف برنامه کشوری حذف مالاریا تعیین شده است که به تصویب شورای عالی سلامت و امنیت غذایی رسیده است. خوشبختانه با تلاش های صورت گرفته موارد مالاریا در کشور در سالهای اخیر روند رو به کاهش داشته است. به طوری که در سال ۱۳۹۵ تعداد ۷۰۴ مورد مالاریا گزارش شده است. اما با توجه به جابجایی جمعیت در نقاط مختلف کشور و سهولت مسافرت، هم مرز بودن با کشورهای مالاریا خیز پاکستان و افغانستان و همچنین با وجود پتانسیل انتقال مالاریا در کشور، خطر بازگشت این بیماری نیز وجود دارد.

با وجود این که موارد مالاریا در کشور کاهش چشمگیری یافته است. اما امروزه به دلیل سهولت مسافرت و نیز امکان تبادل جمعیتی آسان با مناطق مالاریا خیز داخل و خارج از کشور، امکان مشاهده بیمار مبتلا به مالاریا در تمام استانهای کشور وجود دارد.

در سالهای اخیر بیشترین موارد مالاریا در استانهای سیستان و بلوچستان، کرمان، هرمزگان، بوشهر، خوزستان، تهران، فارس، اصفهان، قم، خراسان رضوی، همدان، کرمانشاه، لرستان، کهگیلویه بویراحمد، آذربایجان شرقی، یزد و استان های شمالی کشور مشاهده شده است.

بنابراین وجود شواهد آزمایشگاهی برای تشخیص، از ضروریات حذف مالاریا است. تشخیص فقط براساس علائم بالینی^۳ و بدون انجام آزمایش توصیه نمی شود. چون امکان تشخیص اشتباه به علت تشابه علائم بالینی مالاریا با دیگر بیماری های رایج وجود دارد و این سبب افزایش موارد مثبت کاذب مالاریا خواهد شد. و نادیده گرفتن سایر بیماریها و عدم درمان به موقع آنها را نیز به دنبال خواهد داشت. همچنین نتایج منفی کاذب نیز میتواند منجر به عدم درمان بیماران مبتلا به مالاریا گردد که ممکن است منجر به عواقب شدید از جمله مرگ بیمار شده که

3) Symptom-based diagnosis

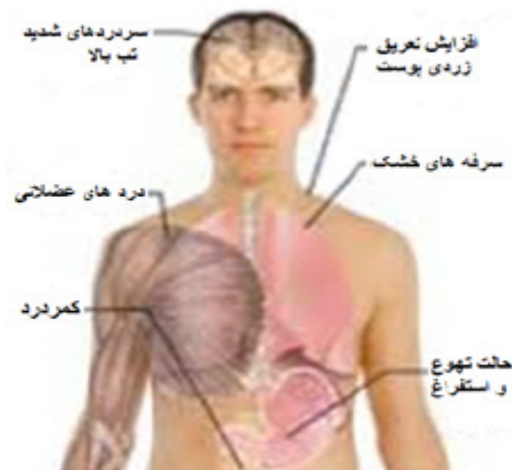
خود تداوم انتقال را به دنبال خواهد داشت.

متأسفانه به دنبال کاهش شدید موارد مالاریا در کشور ممکن است باعث شود که مالاریا به دست فراموشی سپرده شود. در بیشتر مواقع توسط پزشک تجویز تست تشخیص مالاریا در میان تست های بیمار نادیده گرفته می شود و ممکن است پرسنل آزمایشگاه تجربه کافی برای انجام تشخیص مالاریا نداشته باشد. لذا جان بیمارانی که به مناطق مالاریا خیز سفر داشته اند و یا از مناطق مالاریا خیز وارد شده اند ممکن است به دلیل تاخیر یا عدم تشخیص به خطر بیافتند و نیز مالاریا مجدداً در مناطق پاک شده شیوع پیدا کند.

تعریف مالاریا

مالاریا یکی از مهم ترین بیماری های تک یاخته انگلی در جهان است که از طریق نیش پشه آنوفل ماده به انسان منتقل می شود. و به بیماری تب دار نیز معروف است. در آغاز بیماری مالاریا، نشانه های اولیه نظیر خستگی، احساس کسالت، درد در عضلات، سردرد، تهوع و استفراغ، لرزهای خفیف و درد در ناحیه کمر ممکن است وجود داشته و دمای بدن به ۳۸ تا ۳۹ درجه سانتی گراد برسد. علائم اولیه مالاریا غیر اختصاصی است و با بسیاری از بیماری های عفونی حاد و تب دار مانند بیماری ویروسی و آنفولانزا اشتباه گرفته می شود.

تب شایع ترین نشانه مالاریا است.



علائم شایع ابتلا به مالاریا

انگل های مالاریا انسانی

چهار نوع پلاسمودیم در انسان ایجاد بیماری مالاریا می کند که عبارتند از:
 پلاسمودیم فالسیپارم^۴: عامل مالاریا سه یک بدخیم.
 پلاسمودیم ویواکس^۵: عامل مالاریا سه یک خوش خیم.
 پلاسمودیم مالاریه^۶: عامل مالاریا چهار یک.
 پلاسمودیم اووال^۷: عامل مالاریا سه یک است که بیشتر در مناطق گرمسیری آفریقا و در غرب این قاره شیوع دارد.

اخیرا نوعی از مالاریا به نام نوالوزی به تعداد اندک در جنوب شرق آسیا گزارش شده است. در ایران پلاسمودیم های ویواکس و فالسیپارم انگل های شایع هستند و بندرت در بین مسافران وارده از خارج، مالاریای اووال و مالاریه گزارش شده است.

نکات ضروری دوره زندگی انگل های مالاریا انسانی

- سیر تکامل پلاسمودیم در دو میزبان مهره دار و بی مهره انجام می گیرد.
- انسان به عنوان میزبان واسط یا مخزن انگل است.
- شیزوگونی خونی در بدن انسان انجام می گیرد.
- میزبان بی مهره (میزبان اصلی)، پشه آنوفل ماده است.
- دوره جنسی (اسپوروگونی^۸) در پشه آنوفل ماده انجام می گیرد.
- گامت ها^۹ در بدن پشه آنوفل ایجاد می شوند.
- ظهور علائم بیماری مالاریا در مرحله شیزوگونی خونی اتفاق می افتد.
- شرایط مناسب برای رشد انگل های مالاریا در پشه آنوفل بین ۲۰-۳۰ درجه سانتیگراد، و میزان رطوبت نسبی بیش از ۶۰ درصد است.

توجه

- گامتوسیت ها از نظر اپیدمیولوژی در انتقال بیماری مالاریا اهمیت دارد، که باید از بدن انسان محو گردد.

4) Plasmodium falciparum

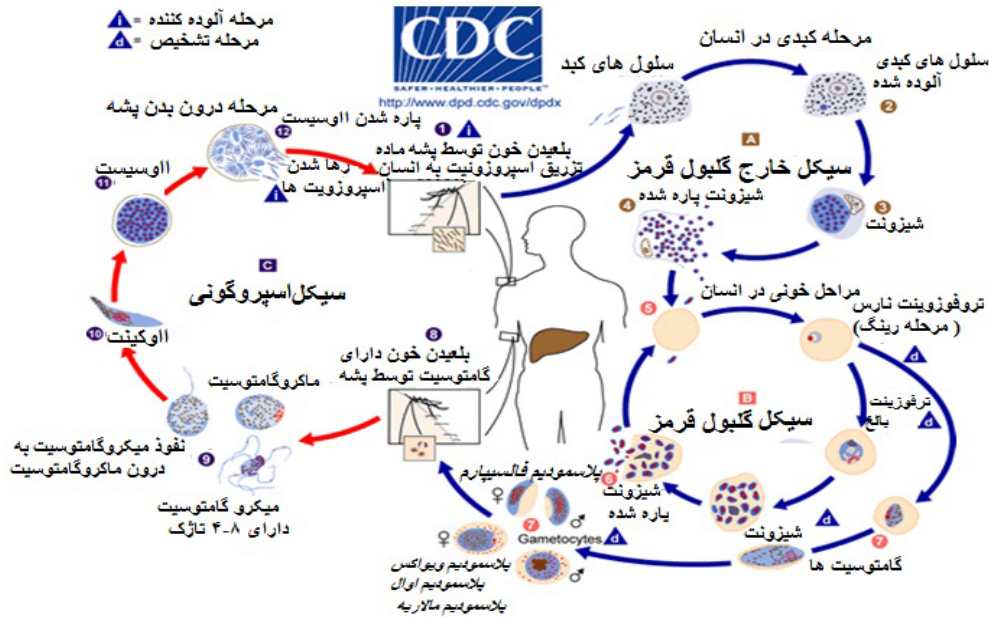
6) Plasmodium falciparum

8) Schizogony

5) Plasmodium vivax

7) Plasmodium ovale

9) gametes



تصویر دوره زندگی ۴ گونه انگل مالاریا انسانی

دوره زندگی انگل های مالاریا

۱- دوره شیروزوگونی خارج گلبول قرمز خون (شیروزوگونی کبدی) در بدن انسان

دوره زندگی مالاریا دارای دو میزبان است، پشه آنوفل ماده الوده (میزبان بی مهره) درموقع خونخواری از انسان (میزبان مهربار)، اسپروزوئیت ها را در بدن میزبان انسان تزریق می کند (۱). اسپروزوئیت ها سلول های کبد انسان را آلوده می کنند (۲). اسپروزوئیت ها به شیروزنت های بالغ (شیروزنت کبدی) تبدیل می شوند (۳). شیروزنت های بالغ پاره شده و مروزوئیت ها در خون آزاد می شوند (۴).

توجه، فقط در پلاسمدیم های ویواکس و اوالم، تعدادی از اسپروزوئیت ها بدون تغییر و تکثیر در سلول های کبد به حالت خفته یا استراحت (هیپنوزوئیت ها) باقی می مانند و بعد از هفته ها و یا حتی سالها، فعال شده و سبب عود می شوند. بعد از تکثیر اولیه در کبد مرحله شیروزوگونی کبدی یا شیروزوگونی خارج گلبول قرمز، (A) ایجاد می کند. شیروزنت ها بالغ پاره شده و مروزوئیت ها وارد جریان خون شده و به گلبول های قرمز حمله کرده در آنجا تکثیر می یابد و شیروزوگونی خونی ایجاد می شود. مطابق تصویر A. ۱

۲- دوره شیروزوگونی خونی در بدن انسان (میزبان مهره دار)

مرحله تکثیر غیرجنسی انگل در داخل گلبول های قرمز انجام می شود (شیروزوگونی خونی)، (B). مروزوئیت ها به گلبول های قرمز حمله می کنند (۵). تروفوزوئیت های بالغ به شیروزنت تبدیل شده که سپس تقسیمات متعدد ایجاد می کند و مروزوئیت ها را تشکیل می دهند، گلبول های قرمز پاره شده و مروزوئیت ها آزاد می شوند (۶). پس از چند مرحله شیروزوگونی خونی، تعدادی از مروزوئیت ها تغییر یافته و به سلول های جنسی (گامتوسیت های نر و ماده) تبدیل می شوند (۷). انگل های مرحله خونی مسئول بیماری و علائم بالینی هستند. مطابق تصویر B. ۱

۳- دوره جنسی (اسپروگونی) در بدن پشه آنوفل ماده (میزبان بی مهره)

گامتوسیت های نر (میکروگامتوسیت ها^۱) و گامتوسیت های ماده (ماکروگامتوسیت ها^{۱۱})، توسط پشه آنوفل ماده در حین خونخواری بلعیده می شوند (۸). تکثیر انگل ها در بدن پشه، دوره اسپروگونی نامیده می شود (C). در معده پشه، گامتوسیت های نر و گامتوسیت های ماده تقسیم شده، به ترتیب به گامت نر (میکروگامت^{۱۲} که دارای ۴-۸ تاژک) و نیز گامت ماده (ماکروگامت^{۱۳}) تبدیل می شود. در معده پشه، میکروگامت های دارای تاژک به ماکروگامت ها نفوذ کرده و سلول تخم را (زیگوت^{۱۴}) تولید می کنند (۹). سلول های تخم به سلول های متحرک، کشیده و دوکی شکل بنام (اکینت^{۱۵}) تبدیل می شوند (۱۰). به دیواره معده پشه حمله می کنند و در آنجا رشد یافته و به اسپست^{۱۶} تبدیل می شوند (۱۱). اسپست ها رشد کرده، پاره شده و تعداد زیادی اسپروزوئیت^{۱۷} ظریف و نازک آزاد می شوند (۱۲) که در غدد بزاقی پشه آنوفل قرار گرفته و با تزریق اسپروزوئیت توسط نیش پشه آنوفل ماده، به انسان سالم، انگل مالاریا دوره زندگی خود را

ادامه می دهد مطابق تصویر C. ۱

- 10) Microgametocytes
- 11) Macrogametocytes
- 12) Microgamete

- 13) Macrogamete
- 14) Zygote
- 15) Oocynet

- 16) Oocyst
- 17) Sprozoite

مواد و وسایل لازم جهت رنگ آمیزی گسترش های لام خون محیطی بیمار

برای پذیرش بیمار، لازم است وسایل و مواد لازم مانند لام های تمیز، لانست یک بار مصرف، همچنین محلول بافر و رنگ گیمسا از قبل در آزمایشگاه در دسترس باشد.

وسایل و مواد لازم برای شستشوی لام ها

معمولا برای تهیه گسترشهای نازک و ضخیم خون از لامهای مرغوب و نو استفاده میشود. اما ضروری است که اطلاعات کافی و عملی برای آماده کردن لامهای قابل استفاده از میان لامهای استفاده شده و یا استفاده نشده را داشت. که در شرایط استثنایی و جهت مقابله با مشکلات پیش بینی نشده می تواند کمک کننده باشد.

• توجه

- ۱ - استفاده از دستکش در تمام مراحل کار در آزمایشگاه ضروری است.
- ۲ - از نگهداری لامها در محلول شوینده برای بیش از یک روز جدا خودداری شود. زیرا، تبخیر آب سبب لکه در لامها شده و از روی لام پاک نخواهد شد.
- ۳ - هنگام شستشو، خشک کردن، و بسته بندی لام ها، از تماس دست با سطح لام شدیداً خودداری شود.

مواد و وسایل لازم برای شستشو لام های استفاده شده و استفاده نشده

- ۱ - دستکش لاتکس،
- ۲ - دو ظرف پلاستیکی متوسط،
- ۳ - مایع شوینده با کیفیت مناسب،
- ۴ - استفاده از پارچه های پنبه ای، بدون پرز و یا اسفنج نرم،
- ۵ - آب تمیز یا آب مقطر،
- ۶ - کاغذ سفید نو به اندازه ۱۱ × ۱۵ سانتی متر،
- ۷ - جعبه لام خالی تمیز،
- ۸ - نوار چسب،
- ۹ - کمد گرم یا یک دسیکاتور دارای مواد جذب کننده رطوبت،

کیفیت لامهای مورد استفاده در آزمایشگاه مالاریا

- به منظور تهیه گسترشهای نازک و ضخیم خون ضروری است که از لامهای تمیز و استاندارد استفاده شود. از بکارگیری لامهایی که ظاهر شبنم زده یا زمینه رنگین کمانی دارند، لامهایی که کاملاً تمیز نشده اند و یا از لامهایی که لبههای مضرس و یا سطح خراشیده یا چرب دارند جدا خودداری شود. زیرا موجب اختلال در تهیه گسترش های خونی، رنگ آمیزی و تشخیص انگل میشوند.

مراحل شستشو و تمیز کردن لام های استفاده نشده

جهت شستشو و تمیز کردن این گونه لامها لازم است نکات زیر مرحله به مرحله انجام شود.

- ۱ - غوطه ور کردن آهسته لامها در یک سطل پلاستیکی متوسط دارای آب گرم و ماده شوینده به مدت ۲-۴ ساعت،
- ۲ - شستن جداگانه هر لام با پارچه نرم و بدون پرز با آب تمیز برای حذف کامل ماده شوینده از روی لام،
- ۳ - قرار دادن لام ها در یک سطل دارای آب مقطر و یا آب تمیز به مدت ۲۴ ساعت،
- ۴ - خشک کردن جداگانه هر لام با پارچه تمیز نرم و بدون پرز و یا قرار دادن عمودی لام ها روی جای لام شیاردار،
- ۵ - بسته بندی ۱۰ تایی لام ها در کاغذ سفید نو با ابعاد ۱۱ × ۱۵ سانتی متر، با نوار چسب و قرار دادن لام ها در جعبه لام و بستن درب آن،
- ۶ - نگهداری لامها در یک مکان خشک، یک کمد گرم و یا در یک دسیکاتور دارای مواد جذب کننده رطوبت،
- ۷ - برای کنترل کیفیت لام ها، روی هر جعبه لام ذکر نام فرد تهیه کننده و تاریخ بسته بندی لام ها ضروری است.

توجه

- مواد و وسایل لازم برای شستشو و آماده کردن لام های استفاده شده مانند موارد ذکر شده در مورد لام استفاده نشده است.

مراحل شستشو و تمیز کردن لام های استفاده شده

- ۱ - قرار دادن یک تکه کاغذ بدون نوشته روی هر لام جهت جذب روغن ایمرسیون از روی لام،
- ۲ - غوطه ور کردن آهسته لامها در یک سطل پلاستیکی متوسط دارای آب گرم و مایع شوینده به مدت ۴-۶ ساعت،
- ۳ - شستن جداگانه هر لام با پارچه نرم بدون پرز با آب تمیز تا حذف کامل آثار خون و یا روغن از روی لامها.
- ۴ - غوطه ور کردن لامها در یک سطل آب تمیز دیگر دارای مایع شوینده به مدت ۲-۱ ساعت،

توجه

برای جلوگیری از تکرار مطالب، بقیه مراحل شستشو فهرست وار عبارتند از:

- شستن جداگانه لام ها، قرار دادن لام ها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت، خشک کردن، بسته بندی، نگهداری لامها و کنترل کیفیت آنها مانند مراحل ذکر شده در مورد لام های استفاده نشده است.

لازم به ذکر است که لامهای استفاده نشده معمولا تمیز هستند و اگر درب جعبه لام بسته باشد و دور از دسترس گرد و غبار نگهداری شود، معمولا قابل استفاده هستند. چنانچه کمی رطوبت و گرد و غبار روی آنها مشاهده شود، میتوان با پنبه یا گاز و یا پارچه تترون تمیز بدون پرز و نرم، سطح لام را کاملا تمیز کرد.

تهیه محلول بافر جهت رقیق کردن رنگ گیمسا

محلول بافر کاربرد بسیار برای تشخیص مالاریا دارد. معمولا برای تهیه محلول بافر از قرص های بافر آماده در مراکز بهداشتی و آزمایشگاهها استفاده می شود. روش دیگر تهیه محلول بافر با استفاده از پودر بافر می باشد که به شرح زیر است.

وسایل و مواد لازم برای تهیه بافر با $\text{PH}=7/2$ در آزمایشگاه

- ارلن مایر شیشه ای درب دار ۱۰۰۰ میلی لیتر
- نوار PH و یا دستگاه PH متر
- یک گرم دی سدیم هیدروژن فسفات $(\text{Na}_2\text{HPO}_4)$ خشک،
- ۰/۷ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH_2PO_4)
- ترازوی حساس یا دیجیتال

طرز تهیه محلول بافر $\text{PH}=7/2$

یک گرم دی سدیم هیدروژن فسفات خشک و ۰/۷ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات خشک با ترازو وزن شود.

- مواد فوق را ابتدا در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر یا آب خالص در ارلن مایر درب دار حل کرده، سپس حجم آن را با آب مقطر یا آب خالص به یک لیتر رسانده شود و درب آن را محکم بسته و با چند بار حرکت دورانی، نمک های فوق در آب مقطر حل شده، سپس در یخچال معمولی نگهداری شود.
- محلول بافر به مدت یک ماه و تا زمانی که رنگ آن کدر نشده، قابل استفاده است. در صورتی که تهیه محلول بافر در شرایط استریل تهیه و نگهداری شود، مدت زمان استفاده از آن طولانی تر (حدوداً یکسال) خواهد بود.
- بعد از تهیه بافر لازم است PH آن اندازه گیری شود. باید محلول بافر تهیه شده دارای $\text{PH}=7/2$ باشد. و نیز تاریخ تهیه و نام تهیه کننده بر روی ارلن مایر دارای محلول بافر، ذکر شود.

تهیه محلول تنظیم PH (محلول تصحیح کننده ۲ درصد)

مایع تصحیح کننده در واقع برای تنظیم PH محلول بافر که به هردلیلی تغییر کرده باشد، استفاده می شود.

- مقدار ۱۰۰ میلی لیتر از بافرهای پتاسیم دی هیدروژن فسفات و دی سدیم هیدروژن فسفات با غلظت ۲ درصد ساخته و در شرایط خنک و دور از نور نگهداری شود.
- استفاده از نوار یا دستگاه PH متر برای تنظیم $\text{PH}=7/2$ محلول بافر

*اگر محلول بافر با PH کمتر از ۷/۲ (اسیدی) باشد، برای تنظیم بافر از فسفات دی سدیک ۲ درصد Na_2HPO_4 استفاده می شود.

*اگر محلول بافر با PH بیشتر از ۷/۲ (قلیائی) باشد، برای تنظیم بافر از فسفات منوپتاسیک ۲ درصد KH_2PO_4 استفاده می شود.

این محلول بافر تا زمانی که رنگ آن کدر نشده است قابل استفاده می باشد.

تهیه محلول استوک بافر

- تهیه این نوع محلول بافر برای مسافرت های صحرائی یا ارسال به مناطق دور مناسب است.
- ۳ گرم Na_2HPO_4 خشک
- ۲/۱ گرم KH_2PO_4
- مواد فوق را در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر یا آب غیر یونیزه حل کرده، محلول غلیظ تهیه شده در یک بطری شیشه ای تیره رنگ درب پیچ دار و دور از نور نگهداری شود. این محلول تا چند هفته برای مصرف مناسب است.

تهیه محلول بافر برای کار روزانه

- یک میلی لیتر از محلول غلیظ تهیه شده در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر یا آب خالص رقیق شود.
- ضروری است قبل از مصرف روزانه PH بافر اندازه گیری شود.

تهیه بسته‌های پودر بافر آماده

- میتوان دو نمک فسفات وزن شده را داخل یک لوله یا ظرف پلاستیکی قرارداد و درب آن را محکم بست. بایستی بر روی برچسب آن مشخصات پودر داخل لوله یا ظرف، تاریخ تهیه و نام تهیه کننده را ذکر نمود.
- در موقع نیاز، محتویات بسته به یک لیتر آب مقطر اضافه و مخلوط شود، سپس $PH = 7/2$ آن را تنظیم کرده و به روش معمول استفاده شود.



نوار PH برای اندازه گیری PH بافر



دیسکانور جهت نگهداری لام

تهیه محلول استوک رنگ گیمسا

معمولاً از میان رنگهای رومانوفسکی، رنگ گیمسا برای رنگ آمیزی لامهای خون به منظور تشخیص انگل مالاریا، رنگ مطمئن و استاندارد است و کیفیت پایداری در برابر حرارت دارد. این رنگ هم به صورت محلول آماده و هم به صورت پودر در بازار موجود است و کیفیت رنگ به شرکت تولید کننده آن بستگی دارد. از این رو توصیه میشود که محلول گیمسا از یک تولید کننده مطمئن خریداری شود. لازم است تعدادی لام گسترش نازک و ضخیم خون با رنگ گیمسای خریداری شده با رقت های و زمان های مختلف رنگ آمیزی شود تا کیفیت رنگ مورد بررسی قرار گیرد.

فرمول رنگ گیمسا:

تهیه رنگ گیمسا

- پودر گیمسا ۳,۸ گرم
- متانول ۲۵۰ میلی لیتر
- گلیسرول ۲۵۰ میلی لیتر

ابتدا پودر گیمسا ساخت Sigma در هاون چینی قرار داده شود و با دسته هاون پودر را به مدت یک تا دو ساعت ساییده تا پودر کاملاً نرم شود. سپس گلیسیرین را کم کم به پودر اضافه کرده و با دسته هاون هم زدن ادامه یابد تا خوب با هم مخلوط شوند. سپس متانول خالص کم کم به آن اضافه شده و همزده شود تا مواد کاملاً باهم مخلوط گردد. در نهایت محلول گیمسای استوک تهیه شده را در شیشه تمیز و خشک قهوه‌ای رنگ قرار داده و درب

آن را محکم بسته شود. سپس درانکوباتور^{۱۸} در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شود. هر روز، روزی ۳ بار، (هر بار ۵ دقیقه) با حرکت دورانی به آرامی چرخانده شود. بعد از ۱۵ روز رنگ آماده مصرف است. البته لازم است قبل از مصرف، رنگ از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شود. حدود ۵۰ میلی لیتر از این محلول را در شیشه قهوه ای رنگ درب سمباده ای قطره چکانی قرار داده و از آن می توان برای مصرف روزانه استفاده کرد.



انکوباتور (اتو) ۳۷ درجه سانتیگراد

توجه

با توجه به امکان تغییر در تولید هر سری رنگ، لازم است قبل از اتمام رنگ و استفاده از سری جدید رنگ خریداری شده، با آزمایش کنترل کیفی، (تعدادی لام با رقت های و زمان های متفاوت رنگ آمیزی شود) و مناسب بودن رنگ تایید شود.

- هر سری رنگ دارای برجسب مناسب با تاریخ مصرف باشد.
- رنگ استوک گیمسا بایستی در بطری های قهوه ای رنگ، در جای خنک و دور از نور نگهداری شود و درب آن محکم بسته شده باشد و از باز و بست کردن غیرضروری درب شیشه خودداری شود.
- چنانچه شیشه قهوه ای رنگ موجود نباشد، بهتر است ظروف شیشه شفاف دارای رنگ گیمسا، با کاغذ تیره ضخیم پوشانده شود تا از نور محفوظ بماند.

وسایل و مواد تهیه گسترش های خون

مداد سیاه نرم،	لانست یک بار مصرف استریل،	فرم ثبت مشخصات بیمار،
جای لام سفری یا افقی،	اتانول ۷۰ در صد،	دستکش لاتکس بدون پودر یک
سیفتی باکس،	پنبه هیدروفیل،	یا دو عدد،
		لام تمیز،

تهیه گسترش نازک و ضخیم خون بر روی یک لام

گرفتن نمونه خون از بیمار:

لازم است تمام وسایل نمونه گیری از قبل آماده و در دسترس باشد. تا بعد از پذیرش بیمار، مشخصات بیمار در فرم مخصوص ثبت شود و مرحله خونگیری و تهیه گسترش های خون، سریع و با دقت انجام گیرد.

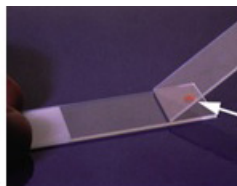
پس از نشانیدن بیمار روی صندلی دسته دار مشمایی، ثبت مشخصات و اطلاعات بیمار در فرم مخصوص، تهیه گسترش های خون به روش زیر انجام گیرد:

۱ - معمولاً انگشت وسط و یا انگشت حلقه دست چپ (انگشت سوم و یا چهارم مراجعه کننده) از سمت انگشت شست دست، برای نمونه گیری انتخاب و بند انتهایی انگشت مورد نظر با یک گلوله پنبه آغشته به الکل اتیلیک ۷۰ در صد کاملاً تمیز و ضدعفونی شود.

- برای نوزادان انگشت شست پا انتخاب گردد (هرگز نباید از انگشت شست دست نوزادان و بزرگسالان برای گرفتن نمونه استفاده شود).

۲ - با لانتست یک بار مصرف استریل به لبه کناری نوک انگشت مورد نظر با یک حرکت سریع ضربه ای ملایم وارد شود و با فشار ملایم و آرام به قاعده بند انگشت، اولین قطره خون خارج شده را با یک گلوله پنبه خشک پاک شود. از قطرات بعدی خون برای تهیه گسترشهای نازک و ضخیم خون استفاده شود.

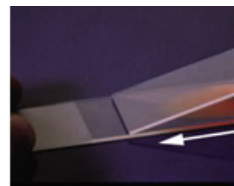
۳ - بند انتهایی انگشت بیمار را فشار داده و ۳ قطره خون مطابق شکل به صورت سه راس مثلث در وسط قسمت یک سوم ابتدای لام اول جهت تهیه گسترش ضخیم و یک قطره خون هم به فاصله دو سانتی متر در پایین سه قطره، در قسمت دو سوم لام قرار داده و سپس یک لام لبه صاف دیگر را برداشته و مطابق شکل، لبه لام دوم (لام پخش کننده) را در جلوی یک قطره قرار داده و با زاویه حدود ۴۵ درجه لام را به سمت یک قطره حرکت داده تا با قطره تماس پیدا کند تا قطره به دو طرف لام پخش شود. قبل از رسیدن خون به دو طرف لام اولی (لام گسترش های خون)، لام دومی را با حرکت یکنواخت و آرام به سمت انگشت شست حرکت داده و با این عمل، خون روی سطح لام اول پخش می شود. با گوشه همین لام، سه قطره خون را در جهت عقربه ساعت به صورت دورانی بهم زده شود تا از خون، یک دایره به قطر ۱/۵-۱ سانتی متر تهیه شود و با این عمل همزدن، خون نیز دفیبرینه میگردد. لازم به ذکر است معمولاً گسترش نازک در مدت چند ثانیه و گسترش ضخیم در حداقل ۶۰-۱۵ دقیقه خشک میشود. در ناحیه عرض ضخیم تر گسترش نازک خشک شده، نام، شماره بیمار و تاریخ تهیه لام فقط با مداد سیاه نرم نوشته شود.



1



2



3

توجه

- جداً از استفاده خودکار برای نوشتن مشخصات بیمار روی گسترش خون خودداری گردد.
- برای خشک شدن لام از جعبه لام سفری و یا یک قفسه سطح صاف و افقی استفاده شود.
- برای محفوظ ماندن از گرد و غبار، حشرات، گرمای شدید و رطوبت، ضروری است در اولین فرصت پس از خشک شدن نمونه، لام در فرم پذیرش و ثبت بیمار، بسته بندی شود و به آزمایشگاه منتقل گردد.
- باید مراقب بود تا انگشتان با سطوح لام تماس پیدا نکند.
- تاکید می شود از گسترش های خونی غیراستاندارد نشان داده شده در تصاویر زیر، برای رنگ آمیزی گسترش های خون در آزمایشگاه مالاریا استفاده نشود.

	
لام‌های چرب که از روی لام شسته میشوند.	لام‌های لبه پریده و یا دارای خراش،
	
گسترش‌های خون به علت موقعیت نامناسب روی لام	گسترش‌های با حجم زیاد خون

گسترش‌های خون غیر استاندارد



معمولا گسترش‌های استاندارد خون دارای، یک گسترش ضخیم با ۲۰ طبقه گلبول قرمز و به قطر ۱/۵-۱ سانتی متر، و یک گسترش نازک معمولا دارای یک طبقه یا لایه گلبول قرمز است. فاصله گسترش‌ها از کناره‌های لام چند میلیمتر باید باشد و مشخصات بیمار در قاعده یا قسمت ضخیم تر گسترش نازک با مداد مشکی نوشته شود.



تفسیر گسترش‌های نازک و ضخیم خون

گسترش‌های ضخیم خون	گسترش‌های نازک خون
گلبول‌های قرمز لیز شده	گلبول‌های قرمز تک لایه فیکس شده
دارای حجم بیشتر خون	دارای حجم کمتر خون
۰,۲۵ میکرولیتر خون / ۱۰۰ میدان	۰,۰۰۵ میکرولیتر خون / ۱۰۰ میدان
تشخیص افتراقی گونه‌ها مشکل است	تشخیص افتراقی گونه‌ها امکان پذیر است
برای غربالگری روش خوبی در زمان کم است.	برای خواندن تست به زمان بیشتری نیاز است.
امکان مشاهده انگل در گسترش ضخیم بیشتر است	امکان مشاهده انگل در گسترش نازک با حجم کم خون، مشکل است

		
۳- ضربه مناسب لانسست به محل مورد نظر	۲- ضد عفونی کردن محل نمونه گیری	۱- تمیز کردن لام
		
۶- نوشتن مشخصات بیمار	۵- تهیه شده گسترش های خون استاندارد	۴- تهیه گسترش های خون

مراحل نمونه گیری خون



بسماند های خونی آزمایشگاه در سiftی باکس

وسایل و مواد لازم جهت رنگ آمیزی گسترش های خون

- جا لام شیاردار،
- پل رنگ آمیزی،
- دستکش لاتکس بدون پودر
- متانول مطلق،
- شیشه قهوه ای درب سمباده ای قطره چکانی، ۵۰ میلی لیتری،

روش های رنگ آمیزی گسترش های خون : روش رایج

- در آزمایشگاه معمولاً برای رنگ آمیزی گسترش های خون، از روش رایج از رنگ ۳درصد رقیق شده و در روش سریع برای موارد اورژانس از رنگ ۱۰درصد رقیق شده استفاده می شود.

توجه

■ برای رنگ آمیزی بهتر، لازم است گسترش‌های ضخیم و نازک روی لامهای مجزا تهیه شوند و از غلظت‌های متفاوت با زمانهای متفاوت برای رنگ آمیزی آنها استفاده شود. البته غالباً این کار امکان پذیر نیست و معمولاً گسترش‌های ضخیم و نازک روی یک لام تهیه میشود

■ رنگ آمیزی گسترش ضخیم با کیفیت خوب از اهمیت بیشتری برخوردار است. بهترین نتیجه هنگامی بدست می آید که گسترش‌های خون طی یک شب خشک شوند.

■ تهیه رنگ ۳ درصد با محلول بافر رقیق شده و صاف کردن رنگ با استفاده از کاغذ صافی شماره ۲ به منظور حذف رسوب رنگ ضروری است.

■ برای هر لام بین ۵-۳ میلی لیتر رنگ رقیق شده نیاز است.

■ زمان رنگ آمیزی استاندارد به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه است. البته زمان دقیق رنگ آمیزی به صورت تجربی در فرآیند رنگ آمیزی بدست می آید.

■ لازم است قبل از رنگ آمیزی، از ثبت مشخصات بیمار بر روی لام و در دفتر ثبت مشخصات بیمار مطمئن شوید. در صورت عدم مشاهده آن، کارشناس مربوطه را مطلع و لام بیمار از لیست حذف گردد.

روش رنگ آمیزی رایج گسترش های خون

ابتدا باید اجازه داده شود تا گسترش ضخیم لامها کاملاً خشک شود، در صورتی که دستیابی سریع به نتایج ضروری باشد، می توان گسترش‌های ضخیم را به کمک بادبزن یا قرار دادن در معرض گرمای ملایم (مثل گرمای لامپ میکروسکوپ) خشک کرد. البته باید مراقب بود تا از گرم نمودن بیش از حد پرهیز شود، در غیر این صورت، گسترش ضخیم به وسیله گرما تثبیت خواهد شد و قابل استفاده نخواهد بود. روی سطح گسترش نازک چند قطره متانول خالص اضافه کرده که بعد از چند ثانیه لام فیکس می‌شود. باید گسترش ضخیم را همولیز کرد بنابراین نباید با الکل یا بخار آن فیکس شود. و باید از تماس آن با متانول یا بخار آن جلوگیری نمود.

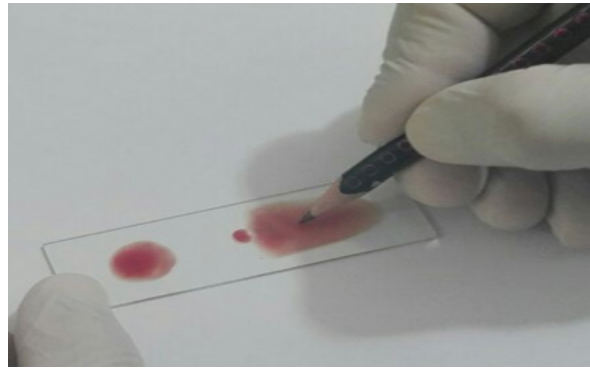
برای رنگ آمیزی گسترش‌های خون به تعداد بیماران مراجعه کننده روش‌های متفاوتی اعمال می شود. در صورتی که تعداد بیماران کم باشد از روش معمولی یا روتین رنگ آمیزی به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه و از رنگ گیمسا ۳ در صد استفاده می شود. برای رنگ تهیه گیمسا ۳ درصد از محلول بافر استفاده می شود. سه قطره از رنگ به هر میلی لیتر بافر اضافه شود تا غلظت مناسب محلول گیمسا بدست آید. برای هر لام حدود ۵-۳ میلی لیتر از محلول رنگ تهیه شده نیاز است (۹-۱۵ قطره گیمسا برای ۵-۳ میلی لیتر بافر)، به آرامی رنگ روی لام ها اضافه شده تا کاملاً سطح لام ها از رنگ پوشیده شود. برای این کار می توان از یک پیپت پاستور استفاده کرد. بعد از پایان زمان رنگ آمیزی، بطور آهسته قطره‌های بافر از گوشه سمت گسترش نازک اضافه شود، تا رنگ کاملاً از روی لام شسته شود.

توجه

باید توجه داشت هنگام شستن لام، از کج کردن لام برای خارج کردن رنگ روی آن، شدیداً خودداری شود، زیرا باعث چسبیدن مقداری از بقایای رنگ روی لام می شود.



پودر گیمسا، قرص بافر و نوار پ هاش برای رنگ آمیزی

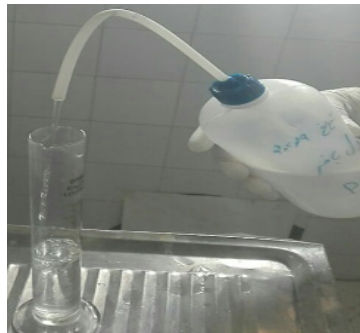


نوشتن مشخصات بیمار روی لام

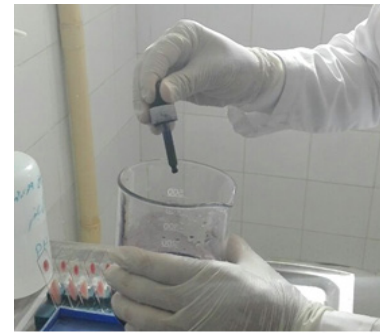
مراحل صاف کردن رنگ گیمسا رقیق شده در هنگام رنگ آمیزی لام ها،



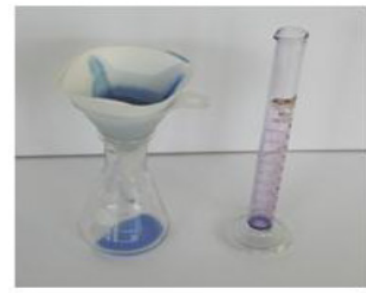
تثبیت گسترش نازک خون متانول



تهیه محلول بافر به مقدار مورد نیاز



تهیه رنگ رقیق شده



مراحل صاف کردن رنگ

روش رنگ آمیزی برای بیش از ۲۰ لام

فیکس کردن گسترشهای نازک با فرو بردن هر یک از لام ها، برای ۲-۳ ثانیه در یک ظرف دارای متانول، یا با اضافه کردن چند قطره متانول روی گسترش نازک انجام می شود. تاخیر در زمان فیکس کردن لام ها ممکن

است دانه‌های شوفنر^{۱۹} و شکاف‌های مورر^{۲۰} مشاهده نشود. معمولاً دانه‌های مورر با رنگ آمیزی گیمسا مشاهده نمی‌شوند.

اما گسترش ضخیم نیاید با الکل یا بخار آن فیکس نمود. بنابراین باید از تماس آن با متانول یا بخار آن جلوگیری نمود. برای رنگ آمیزی لام‌ها لازم است لامها را پشت به پشت در یک ظرف رنگ آمیزی شیار دار قرار داد. رنگ گیمسا ۳ درصد را به تعداد لام‌ها تهیه کرده، سپس رنگ را به آرامی به داخل ظرف شیاردار اضافه کرده تا لامها کاملاً از رنگ پوشانده شود. لازم است لامها به مدت ۳۰-۴۵ دقیقه در ظرف دارای رنگ، دور از نور قرار گیرد. سپس آب تمیز را به آرامی داخل ظرف اضافه کرده تا کف‌های رنگین کمانی روی سطح رنگ شناور شود و جالامی فلزی دارای لام را به یک جار رنگ آمیزی پر از آب تمیز انتقال داده و به آرامی رنگ‌های باقی مانده در ظرف رنگ آمیزی، را خالی کرده و مجدد لام‌ها را در جار دیگر دارای آب تمیز تازه به مدت ۱۰-۵ دقیقه قرار داد. برای خشک کردن لام‌ها، آنها را باید تک تک به طور ایستاده روی جا لام شیاردار قرار داده شوند. باید مراقب بود که گسترش‌ها با ریل تماس پیدا نکنند.

تصاویر روش رنگ آمیزی رایج گسترش‌های خون



توجه

باید توجه داشت هنگام شستن لام، از کج کردن لام برای خارج کردن رنگ روی آن، جداً خودداری شود، زیرا باعث چسبیدن مقداری از بقایای رنگ روی لام شود.

روش سریع رنگ آمیزی گسترش‌های خون

این روش برای رنگ آمیزی سریع گسترش‌های ضخیم در یک آزمایشگاه با مراجعات متعدد مناسب است. به خصوص در شرایطی که نتایج به طور اورژانس نیاز باشد.

در این روش، رنگ آمیزی با غلظت ۱۰ درصد و به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه انجام می‌شود.

19) Schuffners dots

20) Maurer's clefts

توجه

ارزیابی یک گسترش نازک رنگ آمیزی شده با کیفیت استاندارد

- زمینه لام بایستی آبی آسمانی و عاری از هرگونه بقایای مواد و رسوب رنگ باشد.
- همچنین گلبول های قرمز به رنگ صورتی مایل به خاکستری کمرنگ باشد.
- هسته های گلبول های سفید نوتروفیل به رنگ ارغوانی تیره و دانه های گرانول به خوبی در آن مشخص باشد.
- کروماتین انگل های مالاریا به رنگ قرمز ارغوانی تیره و سیتوپلاسم آن ها به رنگ آبی مایل به ارغوانی روشن است.
- در گلبول های قرمز آلوده به پلاسمودیم ویواکس یا پلاسمودیم اوآل اغلب مشاهده نقاطی به نام دانه های شوپنر و دارای رینگ بزرگ ، در پلاسمودیم فالسیپارم امکان مشاهده شکاف های مورر وجود دارد که بیشتر در گلبولهای قرمز در لبه های گسترش مشاهده می شود.
- اگر گسترش نازک یک لام روی یک روز نامه یا نوشته قرار داده شود، در انتهای لام که معمولا گلبول های قرمز تک لایه هستند نوشته ها قابل دیدن و خوانده شدن باشند.

توجه:

ارزیابی یک گسترش ضخیم رنگ آمیزی شده استاندارد

- زمینه لام بایستی آبی آسمانی و عاری از بقایای رنگ و بدون لکه های خاکستری پررنگ ناشی از گلبول قرمز لیز شده باشد.
- هسته های گلبول های سفید نوتروفیل به رنگ ارغوانی تیره و دانه های گرانول به خوبی در آن مشخص باشد.
- انگل های مالاریا دارای کروماتین کاملا قرمز و سیتوپلاسم آبی ارغوانی کمرنگ باشد.
- یک گسترش ضخیم بایستی دارای ۲۰ لایه گلبول قرمز باشد. و در هر میدان میکروسکوپی حدودا ۱۵-۱۰ گلبول سفید دیده شود و
- اگر لام روی یک روزنامه یا نوشته قرار داده شود ، نوشته ها دیده می شود ولی به سختی قابل خواندن باشد.
- معمولا پلاکت های صورتی رنگ به صورت منفرد، چندتایی یا خوشه مانند در کنار هم دیده می شوند.

توجه

لازم به ذکر است دیدن گسترش های نازک و ضخیم خون هر دو برای تشخیص مالاریا ضروری است.

اما اهمیت گسترش ضخیم در مقایسه با گسترش نازک به علت تراکم بیشتر گلبول های قرمز، تقریباً ۲۰ برابر بیشتر است نسبت به تراکم وضخامت گلبول های قرمز در گسترش نازک خون است.

بنابراین شانس پیدا کردن انگل در زمان کوتاه درگسترش ضخیم بیشتر است. و لازم است ابتدا گسترش ضخیم خون رو جستجو کرد. بخصوص (برای موارد اورژانس و یا کم انگل و در عفونت های میکس) به علت تراکم بیشتر گلبول های قرمز بسیار کار آمدتر است.

اما ضخامت گسترش نازک تقریباً یک بیستم گسترش ضخیم است و معمولاً برای تعیین نوع و مراحل انگل کارایی دارد. همچنین به عنوان یک برچسب برای نوشتن مشخصات بیمار در قاعده لام به کار می رود.

توجه

بنابراین در عمل باید به ارزش و اهمیت تهیه گسترش های نازک و ضخیم لام خون محیطی بسیار استاندارد دقت شود.

بنابراین لازم است برای دادن گزارش یک لام خون محیطی، ابتدا گسترش ضخیم هر لام برای جستجو انگل مورد بررسی قرار گیرد. سپس برای تعیین نوع انگل و مراحل آن گسترش نازک را جستجو کرد. از این طریق می توان به جواب مطمئن تری دسترسی پیدا کرد.

بنابراین باید توجه داشت در موارد نتیجه منفی لام به تنهایی به گسترش نازک نباید اکتفا شود. لازم است نتیجه قطعی لام نیز با گسترش ضخیم تایید گردد.

لزوم وجود تجهیزات استاندارد برای تشخیص دقیق مالاریا

لازم است برای برنامه کنترل مالاریا تجهیزات و مواد مصرفی استاندارد خریداری شده و در اختیار آزمایشگاه ها قرار

گیرد که عبارتند از:

- وجود میکروسکپ استاندارد در آزمایشگاه،
- خرید و تهیه رنگ استاندارد،
- در دسترس بودن لام نو به اندازه کافی، با کیفیت مناسب،
- لنز پی پر،
- علاوه بر تجهیزات استاندارد، وجود پرسنل با تجربه برای تشخیص دقیق مالاریا امری ضروری است.

آشنایی کار با میکروسکپ

(۱) یک میکروسکوپ بیستی با میکروسکپ و قسمت های مختلف آن آشنایی داشته باشد.

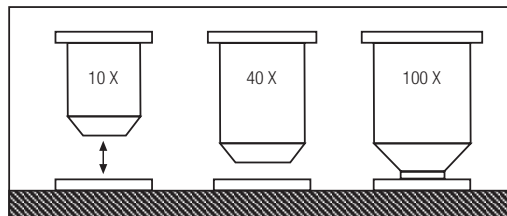
(۲) نگهداری و کار با میکروسکوپ کاملاً آشنا باشد.

(۳) دانش و تجربه کافی در تشخیص انواع مختلف انگل مالاریا و دوره زندگی انگل داشته باشد.

کار با میکروسکپ نیازمند داشتن اطلاعاتی در مورد چگونگی استفاده و نگهداری از آن و نیز شناخت از قسمت های مختلف میکروسکپ می باشد.



اجزای مختلف میکروسکپ نوری



عدسی شیئی، فاصله کاری بین لنز (عدسی) و لام

فاصله بین عدسی شیئی و لام در میکروسکوپ

عدسی ۱۰ و لام ۱۵/۹۸ میلی متر

عدسی ۴۰ و لام ۴/۳۱ میلی متر

عدسی ۱۰۰ و لام ۱/۸۱ میلی متر (با استفاده از روغن ایمرسیون)

ارزیابی فنی یک میکروسکوپیست

■ یک میکروسکوپیست باید با میکروسکوپ و قسمت‌های مختلف آن آشنایی داشته باشد.

■ دانش و تجربه کافی در تشخیص انواع مختلف انگل مالاریا و دوره زندگی انگل را داشته باشد.

نگهداری میکروسکوپ نیازمند مراقبت روزانه بعد از اتمام کار است. از آنجاییکه عدسیهای میکروسکوپ و آینه آن به مواد و ضربه بسیار حساس هستند. لازم است برای تمیز کردن قسمت‌های مختلف آن، از پارچه های جداگانه یک بار مصرف نرم و بدون پرزاستفاده شود.

نگهداری و مراقبت از میکروسکوپ،

ضرورت انجام موارد زیر:

- استفاده از پوشش نایلونی یا پارچه ای تمیز در زمان عدم استفاده از میکروسکوپ،
 - میکروسکوپ را باید در برابر شرایط نامساعد گرد و غبار و رطوبت محفوظ نگه داشت.
- برای جلوگیری از رشد قارچ ها روی عدسی های میکروسکوپ در هوای گرم و مرطوب،**
- بایستی تدابیر لازم اتخاذ شود:
- برای جلوگیری از رشد قارچ ها روی عدسی های میکروسکوپ در مناطق با رطوبت بالا در صورت امکان، باید میکروسکوپ در یک اتاق بدون رطوبت (دارای تهویه مطبوع و یا دارای یک دستگاه رطوبت زدای الکتریکی) نگهداری شود.
 - تمیز کردن عدسی شیئی آغشته به روغن ایمرسیون با پارچه نرم و یا پارچه کتان ضروری است. ابتدا با یک پارچه نرم، عدسی پاک شود سپس آن را به کمک یک پارچه کتان تمیز و نرم خشک کرد.
 - تمیز کردن عدسی های چشمی فقط با یک پارچه کتان نرم یا دستمال جداگانه انجام شود.
 - پیچ محافظ میکروسکوپ که در پایه جعبه آن تعبیه شده است، کامل بسته شود تا میکروسکوپ در هنگام حمل و نقل و جابه جایی آسیب نبیند.
 - شماره مدل و در صورت امکان، شماره قطعات و لوازم میکروسکوپ یادداشت شود تا در صورت نیاز به تعویض قطعات، از آن استفاده شود.

از انجام موارد زیر خودداری گردد:

- از تمیز کردن سطوح رنگ شده میکروسکوپ با الکل جدا خودداری شود.
- از باز و بسته کردن و تمیز کردن قسمت هایی از میکروسکوپ که دسترسی به آن ها دشوار است جدا خودداری شود، مگر آموزش لازم را در این زمینه دیده باشید.
- از بدون پوشش محافظ گذاشتن قطعات میکروسکوپ جدا خودداری شود. لازم است با پوشش نایلونی یا پلاستر های چسبان پوشانده شود.
- از تعویض عدسی میکروسکوپ های مارک های مختلف با یکدیگر خودداری شود زیرا حتی برخی مدل های ساخته شده یک کارخانه نیز مشخصات متفاوتی دارند.

شمارش انگل‌های مالاریا در گسترش خون

شمارش انگل +مالاریا لام خون محیطی برای پیگیری اثر درمان اهمیت بسزایی دارد و به پزشک برای تصمیم‌گیری تجویز دارو کمک اساسی می‌کند.

نحوه شمارش انگل‌ها در هر میکرولیتر خون:

شمارش انگل بر اساس شمارش تعداد انگل‌ها در هر میکرولیتر خون در گسترش ضخیم انجام می‌شود. این انگل‌ها در مقایسه با تعداد گلبول‌های سفید فرد بیمار که از قبل مشخص شده است، تعیین شده شمارش می‌شوند. البته بطور متوسط تعداد ۸۰۰۰ هزار گلبول سفید در هر میکرولیتر به عنوان تعداد استاندارد در نظر گرفته می‌شود. با وجود تفاوت تعداد گلبول سفید بین اشخاص سالم و تغییر تعداد آنها در افراد بیمار این روش به صورت تقریبی امکان مقایسه را فراهم می‌کند. قبل از شروع شمارش مقدار ۰/۲۵ میکرولیتر خون (حدود ۱۰۰ میدان میکروسکوپی با عدسی چشمی با بزرگنمایی ۸-۷ و عدسی شیئی با بزرگنمایی ۱۰۰ با روغن ایمرسیون در گسترش ضخیم) بررسی می‌شود تا گونه‌های انگل و مراحل انگل موجود در گسترش تعیین شود. سپس روش مناسب شمارش انگل در لام‌های مثبت بر اساس روش زیر انجام می‌شود:

دو شمارنده مشابه برای شمارش جداگانه تعداد انگل و تعداد گلبول‌های سفید نیاز است. اگر پس از شمارش ۲۰۰ گلبول سفید، ۱۰ عدد یا بیشتر انگل وجود داشته باشد، نتایج در فرم ثبت مشخصات یادداشت شود که بیان‌کننده تعداد انگل در هر ۲۰۰ گلبول سفید است. 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 داده و تعداد انگل‌های شمارش شده در هر ۵۰۰ گلبول ثبت شود.

محاسبه تعداد انگل‌های موجود در میکرولیتر خون با استفاده از فرمول:

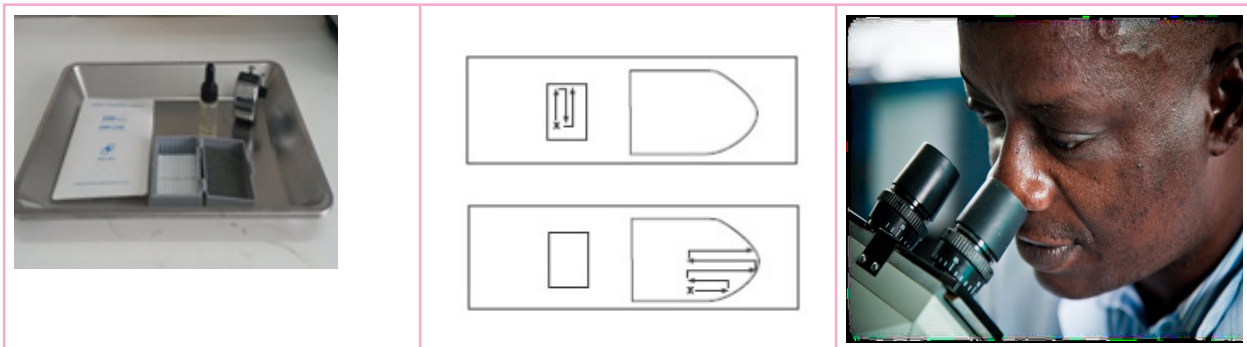
با استفاده از فرمول زیر می‌شود تعداد انگل‌ها را در هر میکرولیتر خون محاسبه نمود.

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

به عبارت دیگر، اگر ۲۰۰ گلبول سفید شمرده شده است، تعداد انگل ضربدر ۴۰ و اگر ۵۰۰ گلبول سفید شمرده شده است، تعداد انگل ضربدر ۱۶ شود تا تعداد انگل در هر میکرولیتر خون بدست آید.

توجه

معمولاً این روش برای شمارش تمام گونه‌های انگل و اشکال جنسی و غیرجنسی انجام می‌شود.



شمارش انگل در گسترش ضخیم خون توسط میکروسکوپیست

روش شمارش انگل در گسترش ضخیم خون مطابق تصویر

شمارش انگل ها به روش سیستم جمع

سیستم جمع روشی ساده تر است که برای شمارش انگل در گسترش ضخیم خون به کار می رود. در این روش انگلهای شمارش شده را با یک تا چهار علامت (+) بر حسب تعداد انگل به شرح زیر است:

شمارش انگلها به روش سیستم جمع

شمارش تعداد انگل های غیر جنسی در گسترش ضخیم	
+	۱-۱۰ انگل در هر ۱۰۰ میدان میکروسکوپی در گسترش ضخیم
++	۱۱-۱۰۰ انگل در هر ۱۰۰ میدان میکروسکوپی در گسترش ضخیم
+++	۱-۱۰ انگل در هر میدان میکروسکوپی در گسترش ضخیم
++++	بیش از ۱۰ انگل در هر میدان میکروسکوپی در گسترش ضخیم

توجه

روش سریع زمانی از این روش استفاده می شود که روش قابل قبول تر شمارش تعداد انگل در هر میکرولیتر خون امکان پذیر نباشد.

کیفیت تشخیص سریع مالاریا

نکات ضروری و اهمیت استفاده از روش تشخیص سریع (RDTs) ²¹

از آنجایی که روش میکروسکوپی نیاز به میکروسکوپ و میکروسکوپیست ماهر برای تشخیص مالاریا دارد علاوه بر زمان بر بودن، نیز در تمام ساعات شبانه روز در همه مراکز درمانی در دسترس نیست. به همین دلیل استفاده از روش تشخیص سریع (RDTs) روز به روز گسترش بیشتری می یابد. از جمله می توان به استفاده از آن در کلینیک ها، بیمارستانها، مناطق قرنطینه مرزی، عدم دسترسی به میکروسکوپیست ورزیده و برای مراقبت جمعیت های متحرک اشاره نمود.

■ در موارد عفونت با پلاسمودیم فالسیپارم که پدیده چسبندگی انگل به عروق اندوتلیوم²² اتفاق می افتد، معمولاً لام خون محیطی در روش میکروسکوپی منفی است. در این حالت روش RDTs جهت تشخیص بیماری بسیار کمک کننده است. بنابراین برای بیماران مشکوک به پلاسمودیم فالسیپارم لازم است چند نوبت در روز آزمایش لام خون محیطی تکرار شود، همچنین با کیت RDTs نیز آزمایش شوند.

■ در مواردی که نتیجه آزمایش کیت مثبت باشد لازم است لام خون محیطی نیز برای بررسی احتمال عفونت میکس (عفونت توأم) تهیه شود.

■ حساسیت و ویژگی کیت های تشخیص مالاریا بیش از ۹۰ درصد است و با تشخیص میکروسکوپی توسط میکروسکوپیست ماهر تقریباً یکسان است.

معایب تست های تشخیص سریع

- کیت های RDTs یک روش کیفی است. بنابراین تمایز بین گونه های انگل و شناسایی مراحل مختلف انگل مالاریا و نیز شمارش انگل امکان پذیر نیست. فقط با این روش مثبت و منفی بودن آزمایش انگل مالاریا را مشخص می کند.

21) RDTs (Rapid Diagnostic Tests)

22) sequestration

علل گزارش مثبت کاذب در RDTs

- علت مثبت کاذب تاخیر در پاک شدن آنتی ژن های انگل در گردش خون بیمار است. در مورد پلاسمودیم فالسیپارم حتی بعد از تاثیر دارو و از بین رفتن انگل تا ۱۴ روز نتیجه کیت مثبت است که ممکن است با مقاومت دارویی اشتباه شود. با تکرار آزمایش در روز بیستم کیت باید منفی شود. در مورد پلاسمودیم های دیگر بعد از تاثیر دارو و از بین رفتن انگل کیت منفی می شود.
- وجود اتو آنتی بادی فاکتور روماتوئید در بیمار
- درمان ناقص بیمار

علل گزارش منفی کاذب در RDTs

- هنگامی که تعداد انگل کم باشد (کمتر از ۲۰۰ عدد در میکرولیتر خون)
- هنگامی که تعداد انگل خیلی زیاد باشد (بیش از ۴۰۰۰۰ عدد در میکرولیتر خون)
- وقتی کیت خراب شود، حساسیت آن از دست می رود.

توجه

در موارد کم انگل به سختی با آزمایش لام خون محیطی نیز تشخیص داده می شوند مگر میکروسکوپیست با دقت و حساسیت ویژه ای تعداد میدان های میکروسکوپی بیشتری را آزمایش کرده و در صورت لزوم از بیمار در زمان های مختلف لام تهیه شود.

توجه

در مواردی که بیمار قبل از تهیه لام خون محیطی داروی ضد مالاریا مصرف کرده است و لام فرد بصورت موقت منفی است کیت تشخیص سریع می تواند مثبت باشد.

رعایت نکات ایمنی هنگام نمونه گیری خون از بیمار

- استفاده از دستکش و رعایت سایر نکات ایمنی در هنگام خون گیری ضروری است. زیرا علاوه بر انگل مالاریا تعدادی از عفونت های ویروسی مانند هپاتیت و ایدز از طریق سوزن و وسایل آلوده قابل انتقال است.
- خون گیری از نوک انگشت بیمار برای آزمایش کیت تشخیص سریع مانند روش میکروسکوپی انجام می گیرد. همچنین تهیه نمونه خون با سرنگ و نگهداری آن در ماده ضد انعقاد خون به مدت ۷۲ ساعت، در دمای ۸-۴ درجه سانتیگراد امکان پذیر است. در مورد استفاده از نمونه های تازه جواب تست در مدت ۲۰ دقیقه و در مورد نمونه هایی که در لوله ضد انعقاد در یخچال نگهداری می شوند، عمل ایمنوکروماتوگرافی کندتر انجام می گیرد و نیز خون از زمینه کیت دیرتر محو می شود. در این صورت، بایستی بعد از ۳۰ دقیقه کیت خوانده شود.
- ضروری است بعد از گرفتن نمونه خون، لانتست و سایر وسایل استفاده شده به جعبه ایمنی انتقال داده شود.
- ضد عفونی کردن محل انجام آزمایش با ماده ضد عفونی مناسب قبل و بعد از آزمایش ضروری است.

توجه

■ ضروری است پرسنل آزمایش کننده، کیت RDTs بسته بندی شده سالم و آسیب ندیده را در موقع استفاده دردمای اتاق قرار دهد تا به دمای اتاق برسد.

- پرسنل آزمایش کننده قبل از باز کردن کیت لازم است اطمینان حاصل کند که تاریخ مصرف RDTs تمام نشده است. در صورتی که کیت آسیب دیده و یا تاریخ گذشته باشد باید آن را کنار گذاشت و از یک کیت سالم دیگر استفاده شود.

توجه

- باید برای هر کیت، از بافر خاص آن کیت استفاده شود (بافر کیت های مختلف نباید با هم مخلوط شود).

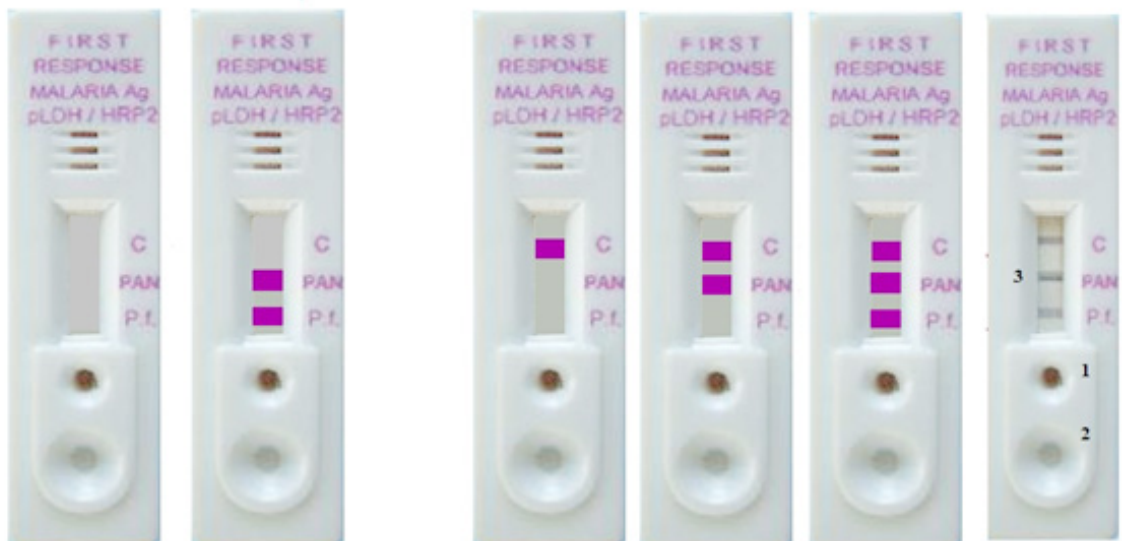
نمونه گیری خون از بیمار و روش تشخیص و تفسیر کیت سریع مالاریا

همانطور که قبلاً گفته شد یکی از روشهای خونگیری از مانند روش خونگیری میکروسکوپی است و با این تفاوت که این کیت یک پیپت پلاستیکی پواردار دارد که مقدار معین ۵ میکرولیتر خون از نوک انگشت را تا علامت روی پیپت باید از بیمار خون گیری انجام شود مطابق تصویر فوق



یک نمونه کیت بسته بندی تجاری که در دمای بین ۳۰-۴ درجه سانتیگراد نگهداری شده است.

طرز استفاده پیپت پوار دار، خون گیری از لبه کناری بند انگشت میانی و قرار دادن خون در حفره جایگاه خون در روی کیت.



تست نامعتبر

تست نامعتبر

تست منفی

پلاسمودیوم ویواکس

پلاسمودیوم فانسیپارم

مشخصات کیت RDT

۱. حفره افزودن خون

۲. حفره افزودن بافر

۳. پنجره خواندن نتیجه تست

تفسیر نتایج مثبت و منفی

- در مورد نتیجه منفی: فقط یک نوار بنفش در قسمت کنترل (قسمت C) از قسمت نتایج کیت مشاهده می‌شود.
- در مورد نتیجه مثبت پلاسمودیم ویواکس: دو نوار بنفش در جایگاه های PAN و کنترل (C) مشاهده می‌شود
- در مورد نتیجه مثبت پلاسمودیم فالسیپاروم: سه نوار بنفش در جایگاه های PAN،P.f و کنترل (C) مشاهده می‌شود.

توجه

در صورتی که هیچ نوار رنگی بر روی تست مشاهده نشد، یا نوار کنترل مشاهده نشود، تست فاقد اعتبار است و لازم است از کیت دیگر استفاده شود.

- برای هر کیت، فقط بافر خاص آن کیت باید مورد استفاده قرار گیرد. در صورت عدم مشاهده رنگ، بعد از ۳۰ دقیقه، کیت مورد بازبینی قرار گیرد.

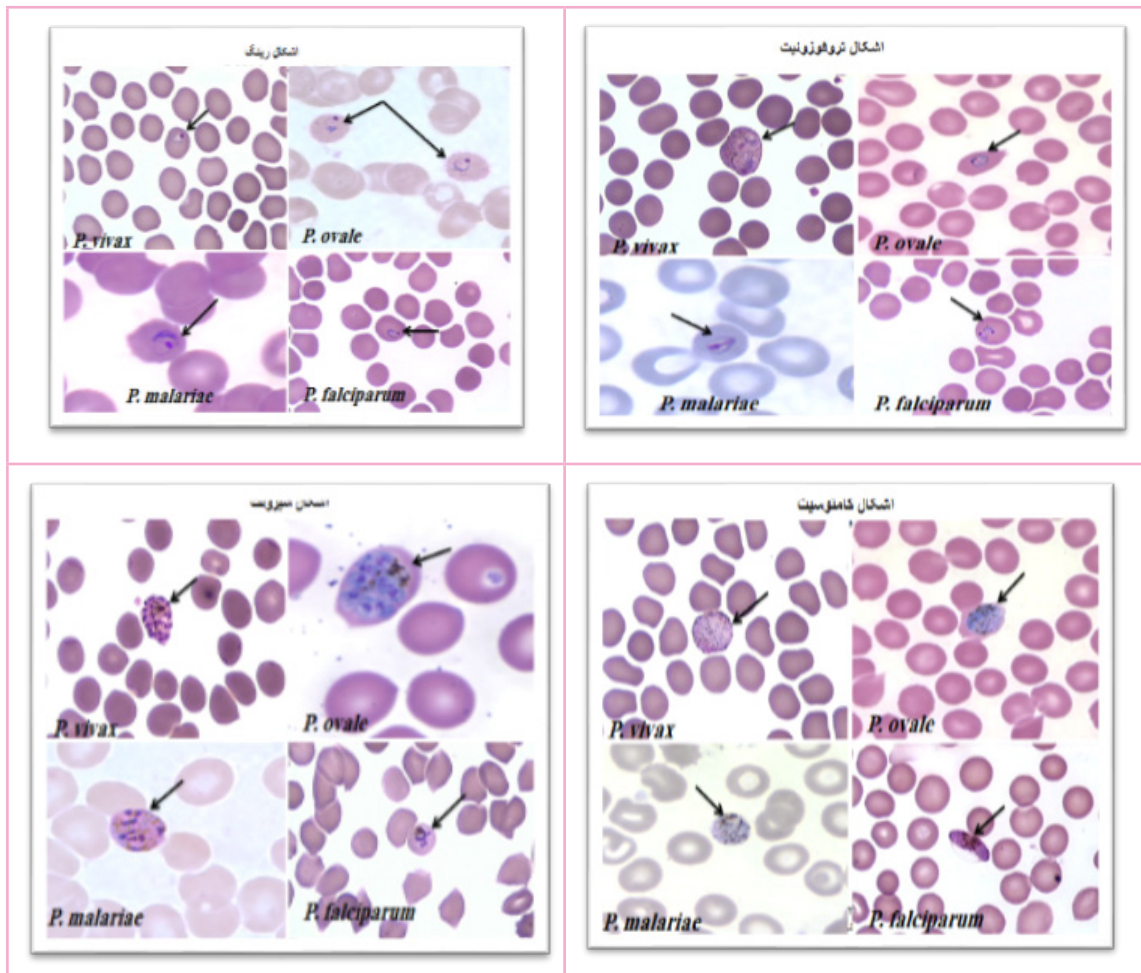
- در صورت مثبت شدن کیت، درمان بر اساس نتیجه مثبت انجام شود (پلاسمودیم ویواکس یا پلاسمودیم فالسیپاروم)

- لازم است در افرادی که کیت آنها مثبت شده یا شک بالینی قوی برای ابتلا به مالاریا وجود دارد، لام خون محیطی آنها باید مورد بررسی قرار گیرد.

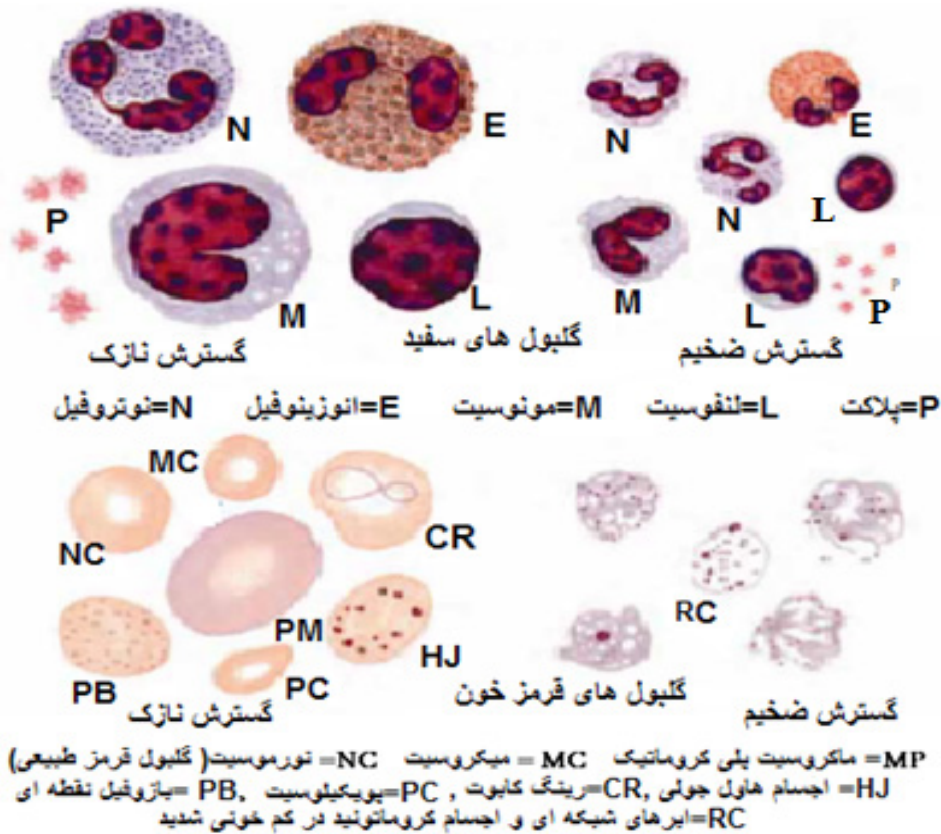
توجه

کیت های تشخیص سریع موجود در کشور عفونت های میکس (توام) و فالسیپارم را از هم تفکیک نمی کند بنابراین باید لام خون محیطی با دقت بررسی شود.

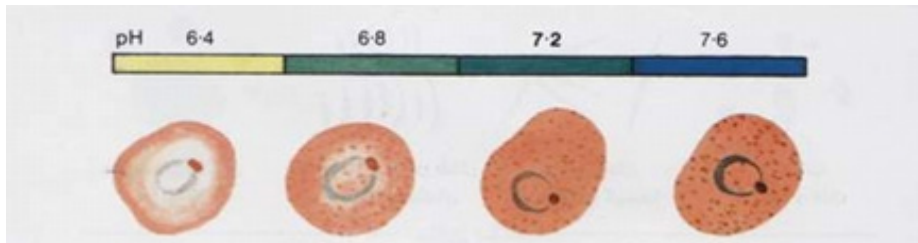
کلید های تشخیص افتراقی ۴ گونه مالاریا در گسترش نازک خون، مراحل شیزوگونی خونی (رینگ، تروفوزوئیت، شیزونت و گامتوسیت)



Components of the Blood



گلبول های قرمز خون بدون هسته، گلبول های سفید تک هسته، چند هسته ای و پلاکت در گسترش های نازک و ضخیم خون با رنگ آمیزی گیمسا



تاثیر PH روی انگل های مالاریا درون گلبول قرمز در رنگ آمیزی گیمسا

(Photograph source: WHO)

- توجه: دانه های استیپلینگ در پلاسمودیم ها: ویواکس (دانه های شوافر)، اووال (دانه های شوافر یا جیمز)، فالسیپارم (شکاف مورر) مالاریه (دانه های زمین)

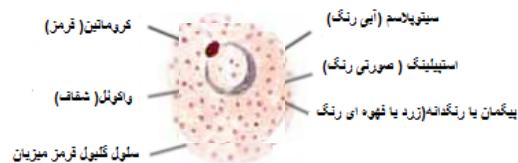
نکات ضروری مورد بررسی برای تشخیص انگل در گسترش ضخیم خون

- ۱- مراحل مختلف انگل مالاریا در گسترش خون،
 ۲- رنگدانه (پیگمان) در گسترش خون
 ۳- دانه های استیپلینگ در گسترش خون،

اختصارات گزارش نتیجه آزمایش تشخیص میکروسکوپی مالاریا

- به ترتیب ردیف اول مشخص کننده نوع مالاریا است.
- ردیف دوم مشخص کننده مراحل مختلف انگل در هر نوع مالاریا است.

Pf,PF,Pfal.F	Pv, PV, v	Pm, PM, M	Po ,PO ,o
P.f= T.R.g.sch f	P.v=T.R.g.sch v	P.m=T.R.g.sch m	P.o= T.R.g.sch o



مشخصات یک تروفوزویت جوان (رینگ) انگل مالاریا

(Photograph source WHO)

مشخصات یک رینگ در گسترش نازک خون

تفاوت گونه های مختلف مالاریا در گسترش های نازک

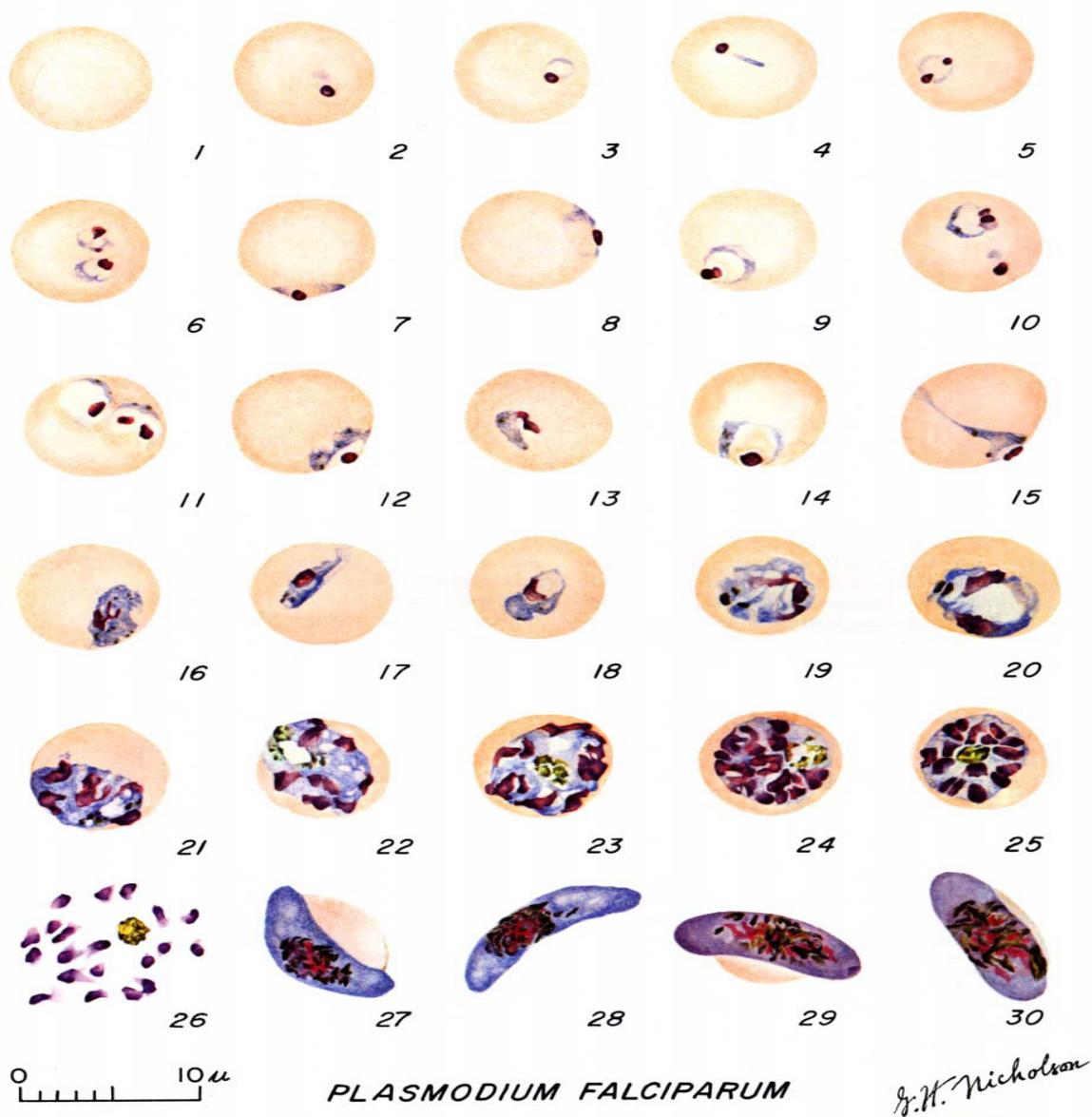
Raed Z. Ahmed, Medical Parasitology Lab., 2012-2013

پلاسمودیم مالاریا	پلاسمودیم اووال	پلاسمودیم ویواکس	پلاسمودیم فالسیپاروم	شماي ظاهري
-	+	+	-	بزرگ شدن گلبول قرمز آلوده
گرد	بيضي، ریشه دار	گرد، از شکل طبيعي خارج شده	گرد	شکل گلبول های انگل دار
دانه های زيمین (مشاهده نمی شود)	دانه های شوفنر	دانه های شوفنر	شکاف های مورر	استپيلينگ گلبول قرمز آلوده
رينگ کوچک، متراکم	رينگ بزرگ، متراکم	رينگ بزرگ، آمبوئيد	رينگ کوچک، تکه تکه	شکل تروفوزوئيت
تک	درشت و تک	تک، بندرت دوتايي	اغلب دو تايي (دوبل)	نقطه کروماتين
۶-۱۲ روزوئيت گل مينايي (روزت)	۴-۱۲ روزوئيت (پراکنده)	۱۲-۲۴ روزوئيت	۱۲-۳۰ روزوئيت بندرت	شيزونت بالغ
متراکم، گرد	بزرگ، گرد	بزرگ، گرد	هلالی یا موزی شکل	گامتوسيت

شناسایی مراحل مختلف گونه های انگل مالاریا انسانی در گسترش های ضخیم خون _WHO

اشکال اختصاصی گونه های انگل مالاریا	تروفوزوئیت	شیزونت	گامتوسیت
پلاسمودیوم فالسیپاروم مشاهده تروفوزوئیت جوان، در حال رشد و گامتوسیت بالغ	اندازه کوچک تا متوسط ، اغلب فراوان کاما یا حلقوی شکل ، کروماتین ۲-۱ سیتوپلاسم منظم، ظریف یا بندرت گوشتالو، رنگدانه متراکم یا پراکنده	اندازه کوچک و فشرده، بندرت ، اشکال بالغ ۳۰-۱۲ مروزئیت اغلب خوشه متراکم ، رنگدانه توده تیره	اشکال هلالی، کروماتین یکی، رنگدانه پراکنده، زرد رنگ اشکال پیر فقط کروماتین و رنگدانه دیده می شوند.
پلاسمودیوم ویواکس مشاهده همه مراحل انگل؛ دانه های شوفنر واضح به ویژه در لبه گسترش	اندازه کوچک تا بزرگ، تعداد متوسط، شکل حلقوی و نامنظم، کروماتین ۲-۱ عدد، سیتوپلاسم نامنظم یا تکه تکه، رنگدانه پراکنده و ظریف زرد رنگ	اندازه بزرگ، تعداد کم تا متوسط اشکال بالغ ۲۴-۱۲ مروزئیت، متوسط آن ۱۶ عدد، خوشه ای، نامنظم، رنگدانه توده پراکنده	اشکال گرد و بزرگ، کروماتین یکی و واضح ، رنگدانه پراکنده و ظریف، در صورت رنگ آمیزی مناسب اشکال پیر فقط کروماتین و رنگدانه دیده می شود.
پلاسمودیوم اوال مشاهده همه مراحل انگل؛ دانه های شوفنر واضح به ویژه در لبه گسترش	اندازه ممکن است از پلاسمودیوم ویواکس کوچک تر باشد، تعداد معمولاً کم، شکل حلقوی و فشرده، کروماتین یک عدد و درشت. سیتوپلاسم نسبتاً واضح، منظم و گوشتالو رنگدانه پراکنده و ضخیم	اندازه اغلب شبیه پلاسمودیوم مالاریه تعداد کم، اشکال بالغ ۱۲-۴ مروزئیت ، معمولاً ۸ عدد پراکنده رنگدانه توده متمرکز زرد رنگ	اشکال گرد و کوچک تر از پلاسمودیوم ویواکس است. کروماتین یکی و واضح، رنگدانه پراکنده و درشت، در صورت رنگ آمیزی مناسب اشکال پیر فقط کروماتین و رنگدانه دیده می شوند.
پلاسمودیوم مالاریه مشاهده همه مراحل انگل.	اندازه کوچک با ، تعداد کم ، گرد و فشرده کروماتین یک عدد و اشکال چشم پرنده بزرگ ، سیتوپلاسم منظم و متراکم، رنگدانه پراکنده، فراوان، زرد یا تیره رنگ	اندازه کوچک و فشرده، تعداد کم اشکال بالغ ۱۲-۶ مروزئیت و معمولاً ۸ عدد پراکنده، رنگدانه متمرکز	اشکال گرد و فشرده، کروماتین یکی، رنگدانه پراکنده و درشت، در صورت رنگ آمیزی مناسب اشکال پیر فقط کروماتین و رنگدانه دیده می شوند.

پلاسمودیوم فالسیپارم : مراحل مختلف شیزوگونی خونی، در گسترش های نازک خون



(۱) شکل ۱: گلبول قرمز نرمال

(۲) اشکال ۲-۱۸: تروفوزوئیت ها (در میان اینها اشکال ۱۰-۲ تروفوزوئیت های جوان یا رینگ است).

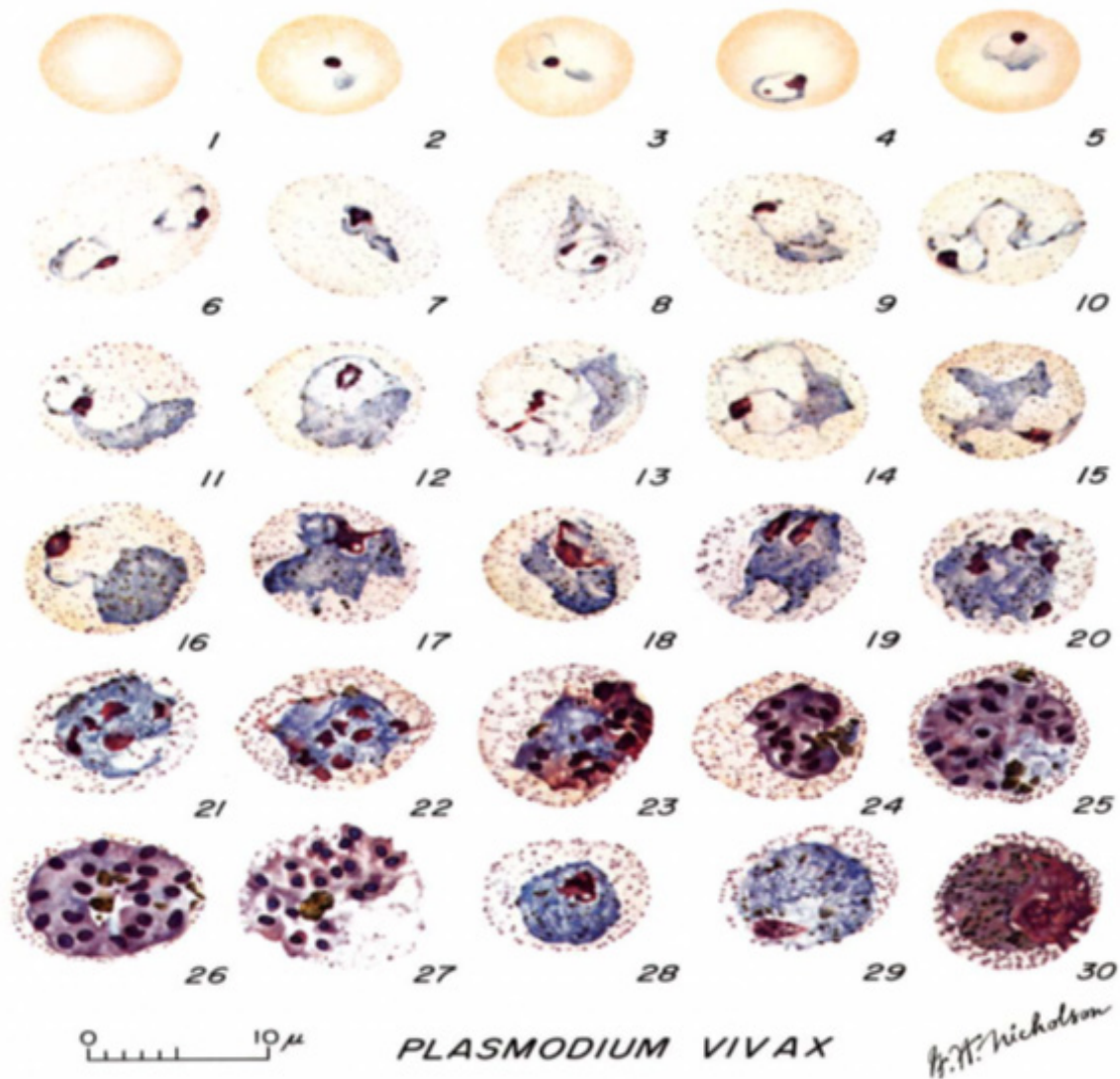
(۳) اشکال ۱۹-۲۶: شیزونت ها (شکل ۲۶ شیزونت پاره شده)

(۴) اشکال ۲۷-۲۸: ماکرو گامتوسیت رسیده (گامتوسیت ماده)

(۵) اشکال ۲۹-۳۰: میکرو گامتوسیت رسیده (گامتوسیت نر)



پلاسمودیوم ویواکس : مراحل مختلف انگل های شیزوگونی خونی در گسترش های نازک خون



(۱) شکل ۱: گلبول قرمز نرمال،

(۲) اشکال ۲-۶: تروفوزوئیت های جوان (انگل های مرحله رینگ)،

(۳) اشکال ۷-۱۸: تروفوزوئیت ها،

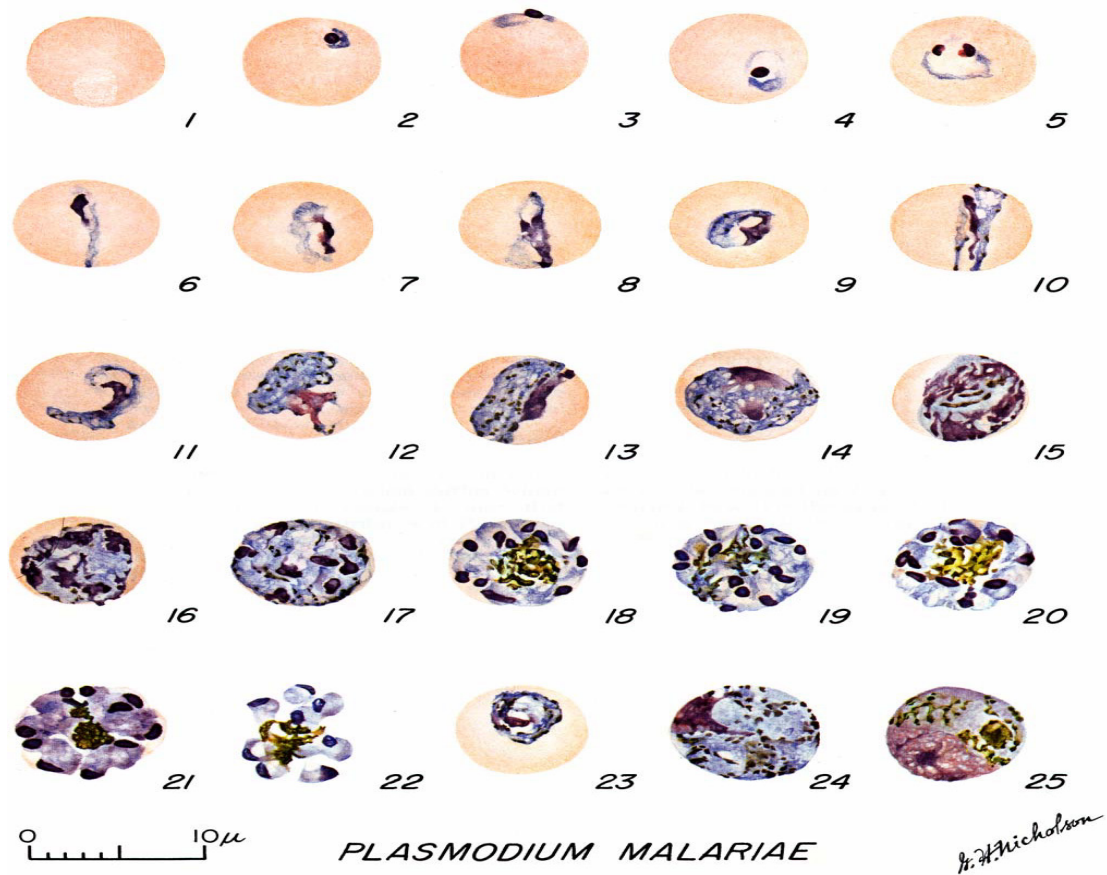
(۴) اشکال ۱۹-۲۷: شیزونت ها،

(۵) اشکال ۲۸ و ۲۹: ماکرو گامتوسیت ها (گامتوسیت ماده)،

(۶) شکل ۳۰: میکرو گامتوسیت (گامتوسیت نر)



پلاسمودیوم مالاریه : مراحل مختلف انگل های شیزوگونی خونی در گسترش های نازک خون



(۱) شکل ۱: گلبول قرمز نرمال

(۲) اشکال ۲-۵: تروفوزوئیت های جوان (رینگ ها) با یک یا دو قسمتی و کوچک، واکول انگل، کوچک در داخل گلبول قرمز، و تقریباً هم اندازه و یا کوچک تر از گلبول قرمز نرمال

(۳) اشکال ۲-۵: تروفوزوئیت ها

(۴) اشکال ۶-۱۳: تروفوزوئیت های فرم های باند یا نواری

(۵) اشکال ۱۴-۲۲: شیزونت های در حال تقسیم (تا بالغ)

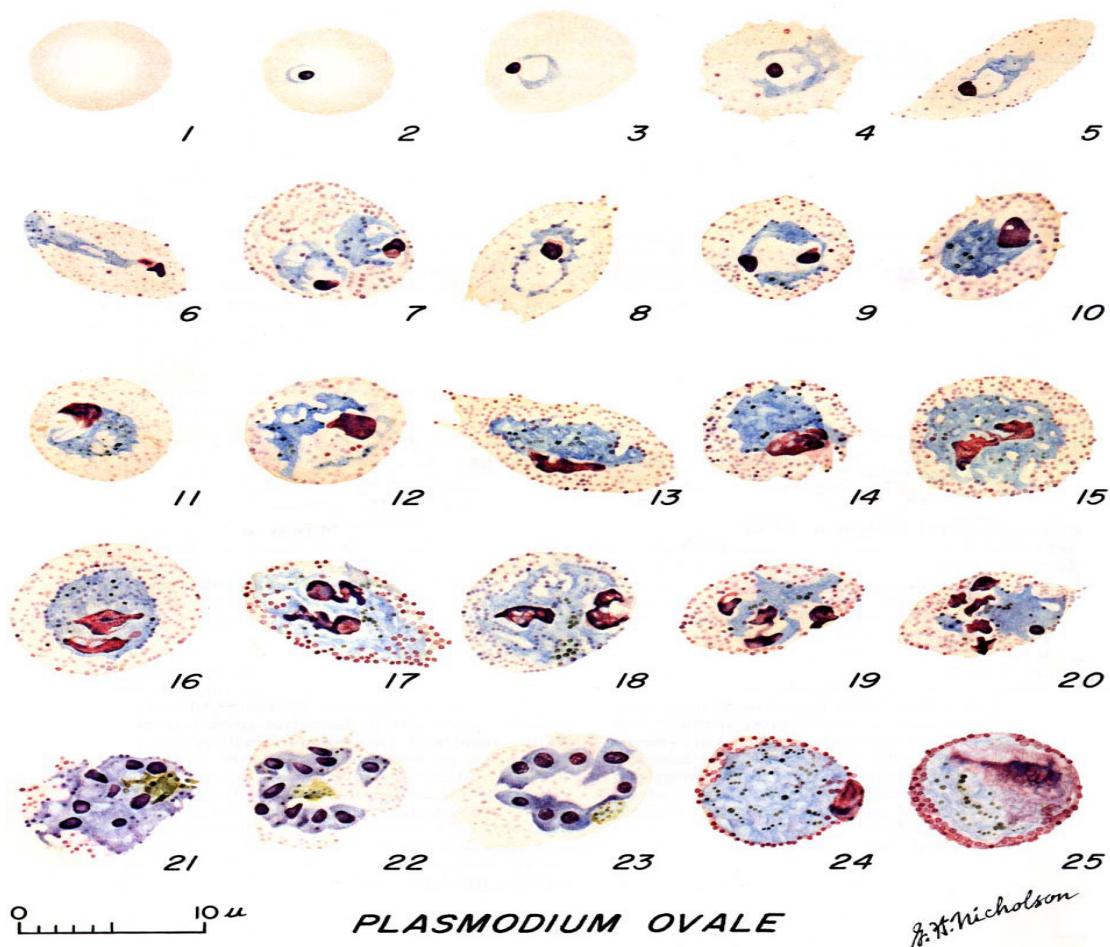
(۶) شکل ۲۳: گامتوسیت در حال رشد

(۷) اشکال ۲۴: ماکرو گامتوسیت (گامتوسیت ماده) هسته کناری و شکل فشرده و سیتوپلاسم فشرده

(۸) اشکال ۲۵: میکرو گامتوسیت (گامتوسیت نر) هسته پخش، شل، صورتی رنگ و سیتوپلاسم تقریباً آبی کم رنگ مایل به خاکستری



پلاسمودیوم اووال : مراحل انگل های شیزوگونی خونی در گسترش های خونی نازک خون



(۱) شماره ۱ گلبول قرمز نرمال

(۲) شکل‌های ۲-۵: تروفوزوئیت های جوان (رینگ ها)

(۳) شکل‌های ۶-۱۵: تروفوزوئیت ها

(۴) شکل های ۱۶-۲۳: شیزونت ها

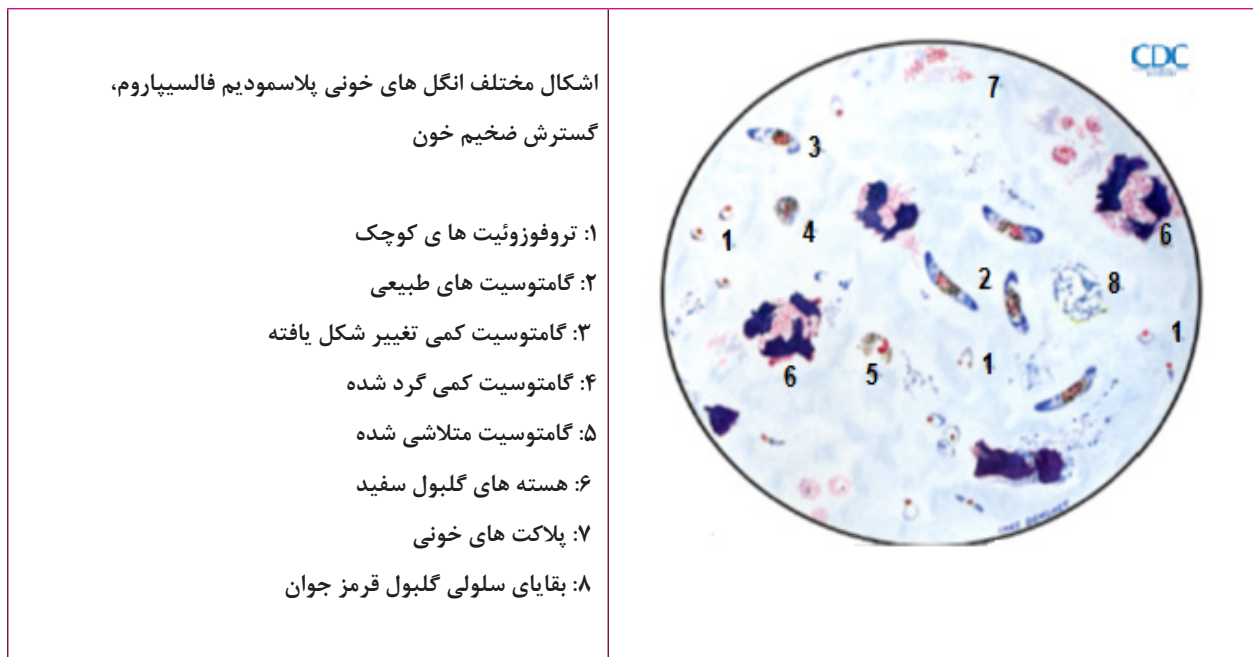
(۵) شکل های ۲۴: ماکرو گامتوسیت (ماده)

(۶) شکل ۲۴: میکرو گامتوسیت (نر)





(Photograph source WHO and CDC)

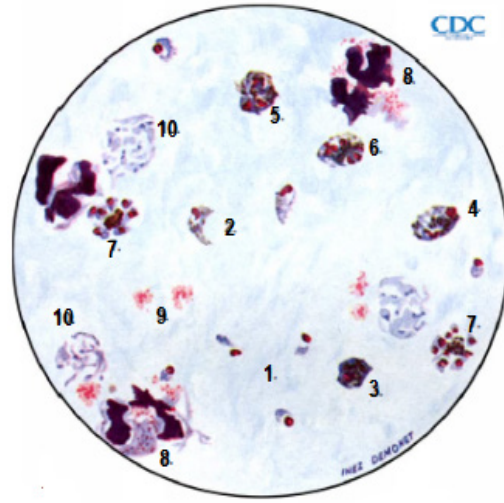


(Photograph source WHO and CDC)

تصویری از: ویل کوکس A. کتابچه راهنمای کاربر برای تشخیص میکروسکوپی مالاریا در انسان است.
وزارت بهداشت و آموزش ایالات متحده، اشنگتن، ۱۹۶۰.

مراحل مختلف انگل های خونی پلاسمودیم مالاریه،
گسترش ضخیم خون

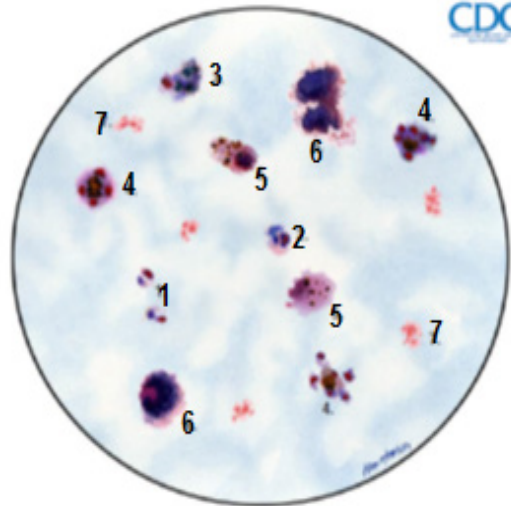
- ۱: تروفوزوئیت های کوچک،
- ۲: تروفوزوئیت های در حال رشد،
- ۳: تروفوزوئیت های بالغ،
- ۴، ۵، ۶: شیزونت های نابالغ، تقسیمات متعدد کروماتین،
- ۷: شیزونت های بالغ
- ۸- هسته های گلبول سفید
- ۹: پلاکت های خون
- ۱۰: بقایای سلولی گلبول قرمز جوان



(Photograph source WHO and CDC)

مراحل مختلف انگل های خونی پلاسمودیم اوواله،
گسترش ضخیم خون

- ۱: تروفوزوئیت های جوان
- ۲: تروفوزوئیت های در حال رشد
- ۳: تروفوزوئیت های رشد یافته
- ۴: شیزونت ها
- ۵: گامتوسیت ها
- ۶: هسته های گلبول های سفید
- ۷: پلاکت های خونی

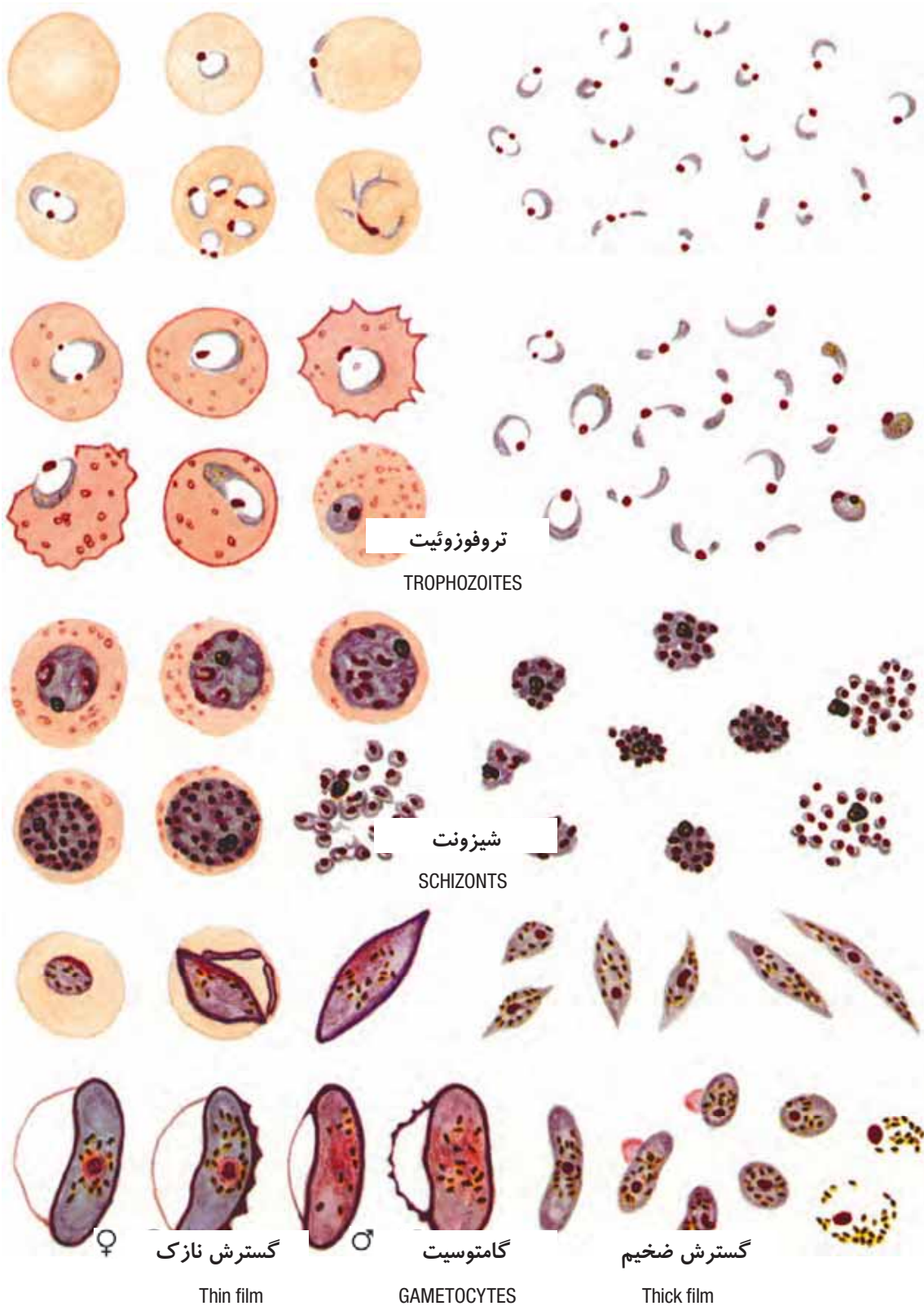


(Photograph source WHO and CDC)

تصویری از: ویل کوکس A. کتابچه راهنمای کاربر برای تشخیص میکروسکوپی مالاریا در انسان است.

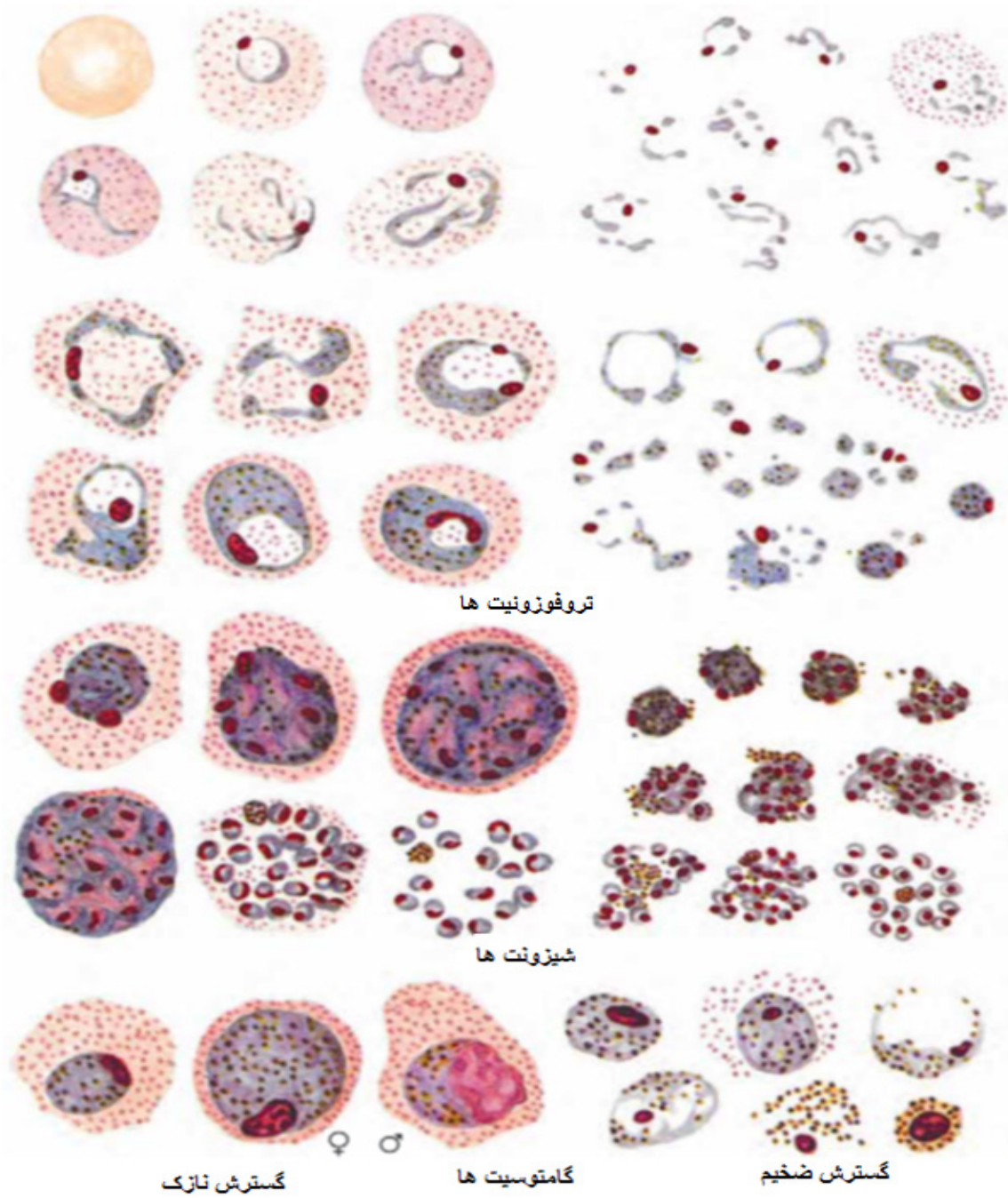
وزارت بهداشت و آموزش ایالات متحده، اشنگتن، ۱۹۶۰.

مراحل مختلف پلاسمودیوم فالسیپارم در گسترش های نازک و ضخیم خون با رنگ آمیزی گیمسا



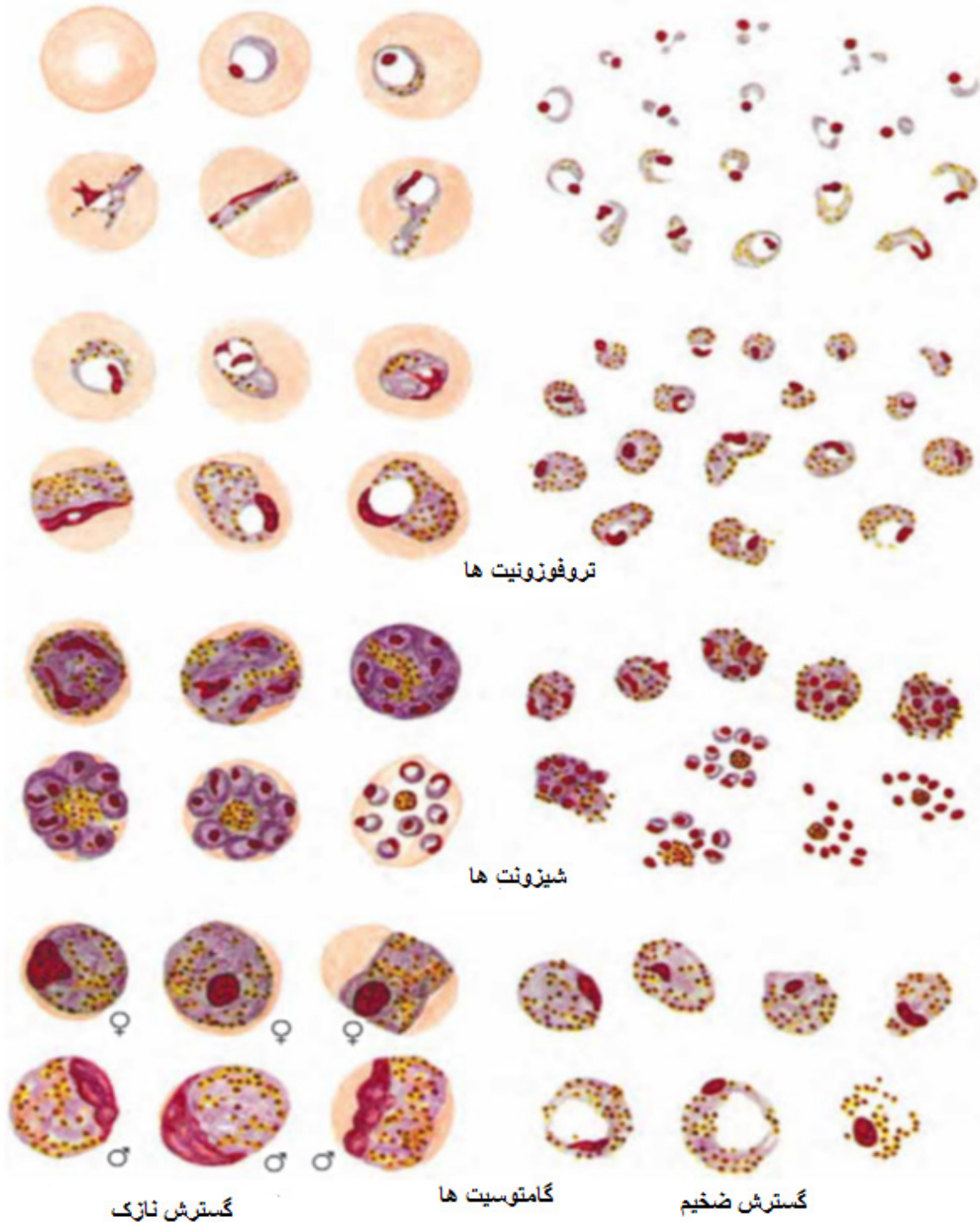
(Photograph source WHO and CDC)

مراحل مختلف پلاسمودیم ویواکس در گسترش های نازک و ضخیم خون با رنگ آمیزی گیمسا



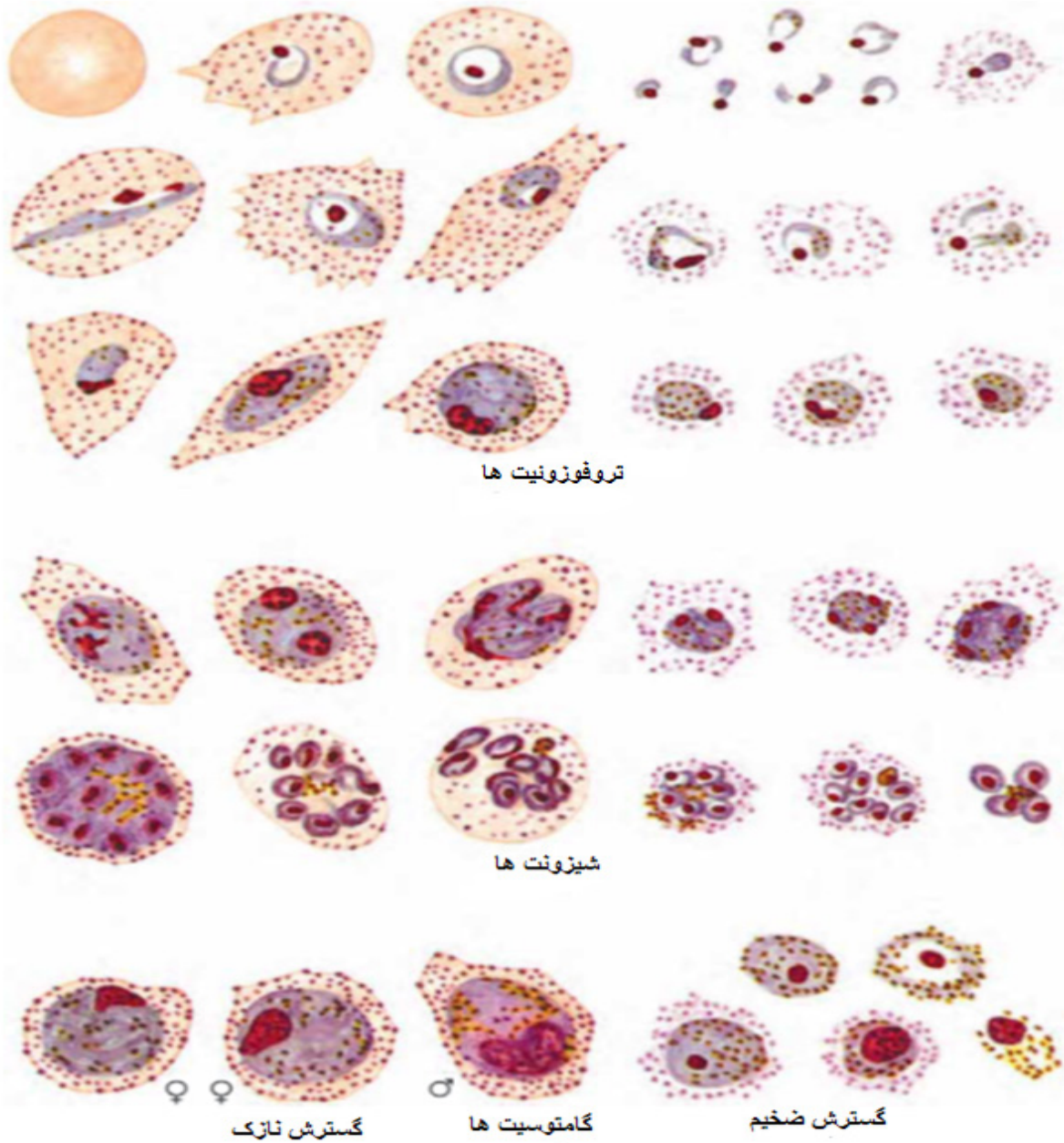
(Photograph source WHO and CDC)

مراحل مختلف پلاسمودیوم مالاریه در گسترش های نازک و ضخیم خون با رنگ آمیزی گیمسا



(Photograph source WHO and CDC)

مراحل مختلف پلاسمودیوم اوال در گسترش های نازک و ضخیم خون با رنگ آمیزی گیمسا



Photograph source WHO and CDC)

نکات ضروری تشخیص، درمان و پیگیری موارد مالاریا

مالاریا بیماری فراموش شده:

- شایعترین دلیل مرگ ناشی از مالاریا در کشور تاخیر در تشخیص است و مهمترین دلیل تاخیر در تشخیص فراموش کردن مالاریاست.
- با توجه به سهولت مسافرت به مناطق مالاریا خیز احتمال مشاهده مالاریای وارد شده در همه مناطق از جمله مناطق پاک وجود دارد. لذا همیشه و همه جا به فکر مالاریا باشیم.
- در آغاز بیماری مالاریا، نشانه های مقدماتی نظیر خستگی، احساس درد در عضلات، سردرد، تهوع و استفراغ، تب و درد در ناحیه کمر ممکن است وجود داشته باشد. معمولاً لرز واضح در روزهای ابتدایی شایع نیست. این علائم با بسیاری از بیماری های عفونی حاد و تب دار منجمله بیماری ویروسی و آنفولانزا اشتباه گرفته می شود. همچنین ممکن است تب واضح در بیماران مسن، کسانی که سابقه ابتلا مکرر به مالاریا را در گذشته را دارند و نیز در ساکنین مناطق اندمیک مانند اتباع افغانستان و پاکستان مشاهده نشود. تشخیص مالاریا در این افراد مستلزم آن است که احتمال ابتلا به مالاریا را همواره مد نظر داشته باشیم، حتی اگر تب و لرز واضح وجود نداشته باشد و یا نشانه های بیمار خیلی شبیه به نشانه های مالاریا نباشد.
- اگر بیمار در همان مراحل اولیه مراجعه کند و بیماری وی تشخیص داده شده و درمان شود اغلب بهبود می یابد. اما اگر بیماری مالاریا به خصوص از نوع فالسیپارم در مراحل اولیه درمان نشود می تواند سریعاً پیشرفت کرده و شدید شود. گاهی این پیشرفت بیماری و بدحال شدن بیمار در کمتر از ۲۴ ساعت اتفاق می افتد. فراموش نکنیم که مالاریا یک اورژانس پزشکی است.
- در مواجهه با موارد تب دار و بیماران با اختلال هوشیاری احتمال ابتلا به مالاریا را بایستی مد نظر داشت.

تشخیص مالاریا

- آزمایش لام خون محیطی مطمئن ترین روش تشخیص آزمایشگاهی مالاریا است.
- صرفاً با یک لام منفی نمی توان با قطعیت گفت که بیمار، مبتلا به مالاریا نیست. بنابراین توصیه می شود در مواردی که شک بالینی قوی به مالاریا وجود دارد آزمایش تکرار شود. همچنین آزمایش مجدد با استفاده از کیت تشخیص سریع بخصوص در بیمارانی که آنتی بیوتیک استفاده کرده اند اکیداً توصیه می شود.
- اغلب لامهای تهیه شده در خارج آزمایشگاه از کیفیت استاندارد برخوردار نیست. یک میکروسکوپیست موظف به آموزش روش استاندارد تهیه لام خون محیطی مالاریا به مامورین مراقب، مراقبین سلامت و بهورزان مرکز بهداشتی درمانی مربوطه است.
- کنترل مجدد لامهای آزمایش شده (۱۰ درصد تا ۳۰ درصد لام های منفی، کلیه لام های مثبت و تعقیب) ضروری است.
- شمارش انگل کلیه موارد لام های مثبت و ثبت و گزارش آن ضروری است،
- توصیه می شود همه لامهای آزمایش شده (منفی و مثبت) بیماران بستری در بیمارستانها در مدت ۲۴ ساعت پس از تهیه، توسط یک میکروسکوپیست ورزیده دیگر دوباره کنترل شود.

از چه کسی آزمایش مالاریا انجام دهیم ؟

از مواردی که تب و یا سایر علائم مهم مالاریا را دارند و حداقل یکی از شروط زیر را دارا باشند .

1. سابقه سفر به منطقه مالاریاخیز را در ۱۸ ماه گذشته را دارند و/ یا
2. در منطقه مالاریاخیز زندگی می کنند و /یا
3. از کسانی که سابقه ابتلا به مالاریا دارند و/یا
4. از اتباع افغانستان و پاکستان هستند.

• همچنین مشاهده هر یک از موارد زیر به تنهایی ضرورت بیماریابی را ایجاد می کند:

1. تب با دلیل نامشخص ²³FUO
2. تبی که بیش از یک هفته علیرغم درمان و تشخیص غیر مالاریا ادامه یافته است .

مواردی مشکوک به مالاریا تلقی می شوند که،

- ۱) نشانه های غیر اختصاصی مالاریا و یا اختصاصی مانند تب رادارا باشند.
- ۲) شواهد تماس با انگل مالاریا را داشته باشند.

منظور از تماس با انگل مالاریا وضعیتی است که احتمال وجود انگل مالاریا در بدن بیمار را مطرح می کند مانند سابقه اقامت و یا مسافرت به مناطق مالاریاخیز در ۱۸ ماه گذشته (گزش پشه آنوفل) ، سابقه دریافت خون الوده و یا استفاده از سرنگ الوده مشترک (ورود انگل بطور مستقیم به بدن) ، سابقه ابتلا به مالاریا در گذشته (عود، بروز مجدد بیماری و شکست درمان)

نکات مهم در انجام آزمایش لام

- به محض دریافت نمونه های آزمایش لام خون محیطی ارسالی به آزمایشگاه، ضروری است که نمونه به عنوان یک مورد اورژانس تلقی گردد و در همان روز آزمایش شود.
- یکی از اشتباهات شایع تشخیصی مالاریا تشخیص موارد میکس به عنوان ویواکس یا فالسیپاروم است. با مشاهده یک انگل دست از جستجو نکشید با دقت در جستجوی انگل دیگر نیز باشید. شاید بیمار مبتلا به عفونت میکس باشد.
- لام خون محیطی ممکن است در موارد کم انگل منفی گزارش شود دقت ناکافی در بررسی لام مانند بررسی تعداد میدان میکروسکوپی کمتر از استاندارد و تهیه لام غیر استاندارد (تهیه گسترش ها و یا رنگ آمیزی نامناسب) از مهمترین دلایل آن است. لذا توصیه می شود لام ها با دقت تهیه و آزمایش شوند و به خود یادآور شویم که شاید لامی که آزمایش می کنیم یک لام کم انگل باشد.

- در مواردی که بیمار قبل از تهیه لام خون محیطی داروی ضد مالاریا مصرف کرده است و لام فرد بصورت موقت منفی است کیت تشخیص سریع می تواند بیماری را تشخیص دهد.
- یک کیت منفی تاییدی بر عدم ابتلا به مالاریا نیست و توصیه می شود لام خون محیطی نیز در موارد مشکوک تهیه شود.

هر بیماری علاوه بر تب، نشانه های سیستم اعصاب مرکزی مانند تشنج و یا اختلال هوشیاری بدون علت مشخص داشته باشد، بایستی احتمال ابتلا به مالاریا مد نظر قرار گیرد حتی اگر سابقه تماس با انگل مالاریا ذکر نشود.

اتباع پاکستان و افغانستان (از آنجایی که در هر دو کشور بخصوص پاکستان مالاریا شیوع بسیار بالایی دارد) سابقه تماس با مالاریا را دارند بنابراین همواره باید وجود انگل مالاریا را در آنان مد نظر قرار گیرد.

بیمار می تواند مبتلا به مالاریا بوده ولی نشانه بالینی و تب نداشته باشد، که این نوع مالاریای بدون علامت در ساکنین مناطق مالاریا خیز، بخصوص در اتباع افغانستان، پاکستان و آفریقا نسبت به افراد ایرانی بیشتر است.

بیماری با انجام آزمایش وجود انگل مالاریا در خون او به اثبات رسیده است صرف نظر از اینکه نشانه های بالینی مالاریا را داشته باشد یا بدون علامت باشد مبتلا به مالاریا در نظر گرفته می شود و باید گزارش و درمان شود.

مستندسازی و گزارش دهی

- گزارش فوری (در کمتر از ۲۴ ساعت) موارد مالاریای تشخیص داده شده در کلیه مراکز درمانی اعم از خصوصی و دولتی اجباری است.
- تمامی آزمایشگاههای مالاریا موظفند لام های آزمایش شده مالاریا (اعم از مثبت و منفی) را به مدت سه سال نگهداری نمایند.

گزارش دهی فوری موارد مالاریا موجب می شود که کارکنان نظام بهداشتی درمان بیمار را فعالانه پیگیری کنند. از جمله دارو با نظارت مستقیم کارکنان به بیمار خورانده میشود تا از درمان کامل بیمار اطمینان حاصل شود. همچنین با اخذ آزمایش مالاریا در فاصله روزهای سوم تا چهارم بعد از شروع درمان از موثر بودن درمان و بهبودی بیمار اطمینان می یابند.

درمان کامل بیماران این امکان را برای نظام خدمات بهداشتی فراهم می نماید که سایر بیماران احتمالی را در منطقه شناسایی نموده و با اقدامات پیشگیرانه مناسب مانع انتقال مالاریا به دیگران شود.

شیوه گزارش دهی

تمامی موارد مالاریا با تشخیص قطعی در کمتر از ۲۴ ساعت پس از کشف، توسط فرد تشخیص دهنده به مرکز مدیریت بیماریها به شماره موبایل ۰۹۳۷۱۱۷۹۴۲۴ پیامک گردد. محتوای پیام بایستی موارد زیر را در برگیرد:

- نام استان:
- نام شهرستان:
- نام بیمار:
- شماره تلفن / موبایل بیمار* (ضروری):
- تاریخ تشخیص:
- نوع انگل:
- نام و نام خانوادگی فرد گزارش دهنده:
- محل اشتغال فرد گزارش دهنده:

پس از دریافت پیامک در مرکز مدیریت بیماریها، تاییدیه دریافت آن توسط این مرکز به شماره ارسال کننده آن فرستاده می شود. به گزارش کنندگان بیماران مبتلا به مالاریا پاداش نقدی تعلق می گیرد.

علائم و نشانه های مالاریای شدید

مالاریای شدید یک اورژانس پزشکی است که می تواند در کمتر از ۲۴ ساعت منجر به مرگ بیمار شود.

مالاریای شدید بیشتر در پلاسمودیوم فالسیپارم و عفونت توام (عفونت میکس) دیده می شود اما در ویواکس نیز گزارش شده است.

ترومبوسیتوپنی (پلاکت کمتر از ۵۰۰۰۰) در موارد مالاریای شدید از جمله مالاریای ویواکس شدید مشاهده می شود.

میزان پایین پارازیتمی دلیل بر خفیف بودن ابتلای به مالاریا نیست. گاهی به دلیل چسبندگی انگل به جداره عروق میزان انگل در خون بسیار پایین است لذا تفسیر این موارد با توجه به نشانه های بالینی و آزمایشگاهی مالاریای شدید می باشد.

اگر بیمار مشکوک به مالاریا هر یک از نشانه های بالینی مالاریای شدید را دارد آزمایش مالاریا به صورت اورژانس درخواست و آزمایش باید در کمتر از ۲ ساعت انجام شود.

بررسی نشانه های پاراکلینیک و بالینی مالاریای شدید در بیمار مبتلا به مالاریا الزامی و حیاتی است.

اگر بیمار مبتلا به مالاریا حتی یکی از علائم و نشانه های زیر را داشته باشد مالاریای شدید طبقه بندی می شود:

- کاهش سطح هوشیاری یا کما
- بی حالی شدید (prostration) ، ضعف عمومی تا حدی که بیمار حتی قادر به نشستن و ایستادن نباشد.
- ناتوانی در خوردن و آشامیدن
- استفراغ مکرر
- تشنج های مکرر (بیش از دو حمله طی ۲۴ ساعت گذشته)
- تنفس عمیق، دیسترس تنفسی (تنفس اسیدوتیک)
- کلاپس عروقی یا شوک، فشار سیستولیک کمتر از ۸۰ میلی متر جیوه (در کودکان کمتر از ۵۰ میلی متر جیوه)
- یرقان (زردی اسکلارا) همراه با اختلال عملکرد سایر ارگانهای حیاتی
- هایپر پیرکسی (درجه حرارت رکتال بالاتر از ۴۰ درجه و زیر بغل بیش از ۳۹/۵ درجه سانتی گراد)
- ادرار تیره رنگ
- خون ریزی خودبخودی، خونریزی غیر عادی از لثه و بینی ، پتشی، پورپورا و اکمیوز
- کاهش صداهای ریوی (ادم ریوی و سندرم حاد تنفسی)
- رنگ پریدگی شدید پوست کف دست و مخاط ها
- هیپوگلیسمی (کاهش قند خون کمتر از ۴۰ میلی گرم/دسی لیتر یا ۲/۲ میلی مول/لیتر)
- اسیدوز متابولیک (بی کربنات کمتر از ۱۵ میلی مول/لیتر یا افزایش لاکتات خون بیشتر از ۵ میلی مول/لیتر)
- آنمی نرموستیک شدید (هموگلوبین کمتر از ۷ گرم در دسی لیتر و هماتوکریت کمتر از ۲۰ درصد)
- هموگلوبینوری
- هیپرپاراژیتمی (بیش از ۲ درصد) در لام خون محیطی
- نارسائی کلیه (کراتینین بیشتر از ۳ میلی گرم/دسی لیتر)
- وجود شواهد رادیولوژیک ناشی از ادم ریوی
- وجود شیزونت در لام خون محیطی مالاریای فالسیپارم

توجه:

- ترومبوسیتوپنی (پلاکت کمتر از ۵۰۰۰۰) در موارد مالاریای شدید از جمله مالاریای ویواکس شدید مشاهده می شود.
- سطح پایین پارازیتمی موید خفیف بودن ابتلای به مالاریا نیست. گاهی به دلیل چسبندگی انگل به جداره عروق میزان انگل در خون بسیار پایین است لذا تفسیر این موارد با توجه به نشانه های بالینی و آزمایشگاهی مالاریای شدید می باشد.
- زنان باردار، کودکان، افراد مسن و افراد غیربومی بیشتر در معرض ابتلا به مالاریای شدید و مرگ و میر ناشی از آن هستند.
- درمان موارد مشکوک به مالاریای شدید باید بلافاصله شروع شود. درمان این بیماران نباید به دلیل انجام آزمایش به تعویق بیافتد.

- توصیه اکید می شود تمام موارد مالاریای شدید که به واحدهای محیطی مراجعه نموده اند پس از تجویز دوز ابتدایی داروی ضد مالاریا سریعاً ارجاع و در بیمارستان بستری شوند.

درمان موارد مشکوک به مالاریا

- شروع درمان بیمار در اولین فرصت پس از تشخیص (در ۲۴ ساعت اول در مالاریای بدون عارضه و در ۲ ساعت اول در مالاریای عارضه دار و شدید)، از استانداردهای مهم بوده و نیازمند کوشش ویژه و نظارت جدی است. درمان بیمار مبتلا به مالاریا باید بر اساس راهنمای کشوری انجام گیرد.
- بمنظور اطمینان از درمان کامل و دقیق بیمار مالاریا، ضرورت دارد که داروی مورد نیاز بیمار تحت نظارت مستقیم کارکنان بهداشتی مصرف شود.
- هر بیمار مشکوک به مالاریا که به مراکز بهداشتی درمانی مراجعه نموده، ترجیحاً توسط پزشک بررسی و معاینه شود. در صورت امکان اکیدا توصیه می شود کلیه بیماران مبتلا به مالاریا به خصوص مالاریای فالسیپارم و توام (میکس) توسط پزشک ویزیت و دقیقاً معاینه شوند.
- ثبت اطلاعات لازم و تکمیل دقیق فرم درمان مالاریا ضروری است.
- وجود علائم مالاریای شدید در بیمار مبتلا به مالاریا در هر مرحله از درمان یا در زمان تهیه لام تعقیب باید مورد بررسی قرار گیرد و موارد مشکوک به مالاریای شدید باید فوراً به پزشک ارجاع داده شود.
- حتی اگر کیت تشخیص سریع مثبت است تهیه لام خون محیطی الزامی است اگرچه باید درمان بلافاصله بر اساس نتیجه کیت تشخیص سریع آغاز گردد و تاخیر در درمان جایز نیست.
- در صورتی که کیت مثبت ولی لام منفی بود درمان بیمار باید انجام شود و مورد به عنوان بیمار مبتلا به مالاریا گزارش می گردد.

پیگیری درمان موارد مالاریای فالسیپارم و میکس

- تمام بیماران مبتلا به مالاریای فالسیپارم یا عفونت میکس برای اطمینان از بهبودی کامل تحت پیگیری قرار گیرند. و در روزهای سوم، هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم از آنها لام خون محیطی تهیه شود.
- در صورت بروز تب در روزهای سوم تا بیست و هشتم درمان، تهیه لام خون محیطی در همان روز الزامی است.
- تهیه لام خون محیطی در فاصله روزهای چهارم و ششم، شروع درمان توصیه می شود.
- شروع درمان روز صفر در نظر گرفته شده است.
- برای پیگیری درمان حتماً از لام خون محیطی که یک روش کمی است و برای شمارش انگل استفاده شود زیرا کیت تشخیص سریع یک روش تشخیص کیفی است. فقط مثبت یا منفی بودن مالاریا را مشخص می کند.
- بنابراین امکان شمارش انگل را ندارد.

پیگیری درمان موارد مالاریای ویواکس

توصیه می شود از تمام موارد ویواکس در روزهای چهاردهم تا بیست و هشتم پس از شروع درمان یک نوبت لام عقیب تهیه شود.

در صورت مواجهه با بیمار مبتلا به ویواکس که لام تعقیب مثبت شده است و /یا علائم بهبودی نداشته است :

- امکان عفونت میکس را بررسی نمایید .
- لام را کنترل مجدد نمایید .
- از بیمار نمونه خون جهت انجام آزمایش PCR تهیه نموده و ضمن گزارش فوری مورد به مرکز مدیریت بیماریها نمونه های خون محیطی و نمونه PCR را ارسال نمایید.

دستورالعمل اجرایی مراقبت بررسی کانون **Reactive -Active Case Finding**

تعریف مراقبت بررسی کانون

توصیه می شود در صورت کشف بیمار مبتلا به مالاریا، بمنظور تشخیص زودهنگام موارد احتمالی دیگر که شناسایی نشده اند و یا موارد ثانوی که بدنبال بروز انتقال از بیمار اولیه مبتلا شده اند، مراقبت بررسی کانون در کانون محل (محل های) سکونت بیمار انجام شود. در این مراقبت دو اقدام اساسی انجام می شود:

- به جمعیت هدف در مورد مالاریا اطلاع رسانی شده و آنها در مورد پیشگیری از مالاریا آموزش ببینند.
- از موارد مشکوک به ابتلا به مالاریا بر اساس شاخص های توصیه شده در این دستورالعمل آزمایش مالاریا انجام شود.
- توجه:

مراقبت بررسی کانون فقط به صورت فعال توصیه می شود.

محدوده جغرافیایی مراقبت بررسی کانون

- محدوده جغرافیایی مراقبت بررسی، محل (یا محل های) سکونت بیمار در فاصله زمانی - شروع علائم تا شروع درمان - می باشد.
- بدیهی است در صورتی که بیمار در این فاصله زمانی در بیش از یک کانون اقامت داشته است ان کانون نیز مشمول مراقبت بررسی می شود.

توجه:

- اگر بیمار وارده است و در کانونی غیر از محل سکونت مبتلا شده است بدیهی است باید مبدا نیز مورد بررسی جامع قرار گیرد که ارتباطی با مراقبت بررسی کانون ندارد.

جمعیت هدف مراقبت بررسی کانون

- در روستاهایی با جمعیت کمتر از ۷۰ خانوار، همه افراد روستا
- در شهر و روستاهای با جمعیت بالای ۷۰ خانوار، حداقل ۷۰ خانوار در مجاورت محل سکونت مورد مالاریای کشف شده.

زمان بندی بیماریابی مراقبت بررسی کانون

مراقبت بررسی جمعیت هدف در کانون در حداقل ۴ نوبت انجام می شود:

- اولین نوبت بیماریابی در فاصله ۲۴ ساعت پس از کشف مورد مالاریا،
- حداقل ۳ نوبت مراقبت بیماریابی دیگر به فاصله یک هفته، (روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۱)

توجه:

- در صورتی که بیمار جدیدی در هر یک از نوبت های مراقبت بررسی در کانون کشف شود حداقل ۷۰ خانوار در اطراف محل سکونت بیمار جدید تحت پوشش قرار می گیرند. بدیهی است در صورتی که در نوبت های دوم به بعد بیمار جدید کشف شود ۴ نوبت مراقبت بررسی کانون از تاریخ کشف بیمار جدید انجام می شود.

آموزش و اطلاع رسانی

- لازم است گروههای هدف آموزش ببینند و اطلاعات لازم مانند نشانه های مالاریا و ضرورت اقدام سریع برای دریافت کمکهای تشخیصی و درمانی و نیز تلفن مامور مراقب، بهروز و یا رابطین بهداشتی به آنها داده شود تا اگر دچار کسالت و نشانه های مالاریا شدند به کارکنان بهداشتی اطلاع داده و یا سریعا برای دریافت خدمات تشخیص و درمان به واحد های ارائه کننده خدمات بهداشتی درمانی مراجعه کنند.

در مراقبت بررسی کانون از چه افرادی آزمایش مالاریا انجام شود؟

- از کسانی که در حال حاضر احساس کسالت و یا تب دارند.
- از کسانی که در یک ماه گذشته تب داشته اند حتی اگر در حال حاضر علامت ندارند.
- از کسانی که سابقه ابتلا به مالاریا دارند، حتی اگر علائم مالاریا ندارند.
- از اتباع افغانستان و پاکستان حتی اگر علائم مالاریا ندارند.
- از کسانی که در دو سال گذشته به منطقه مالاریا خیز سفر داشته اند حتی اگر علامت مالاریا ندارند.

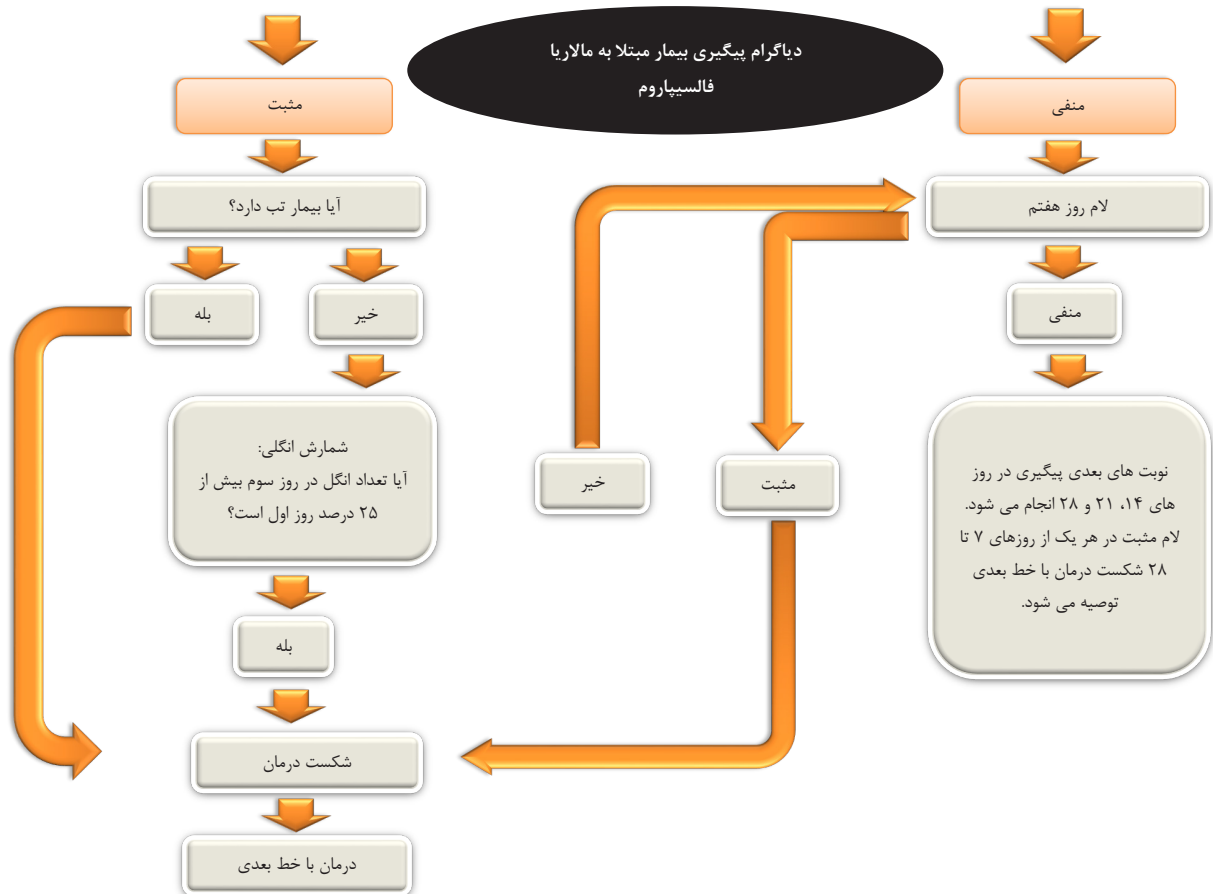
ثبت و گزارش دهی

نوبت های بیماریابی شامل تاریخ های مراقبت، تعداد افراد آزمایش شده و بیماران کشف شده در هر نوبت باید ثبت و به سطوح بالاتر گزارش شود. همچنین به خانوارهای هدف کارت خانوار ارائه شود و نوبت های مراقبت در زمان مراجعه به محل برای ارائه خدمات در آن ثبت شود و توسط مراقبت کننده امضا گردد.

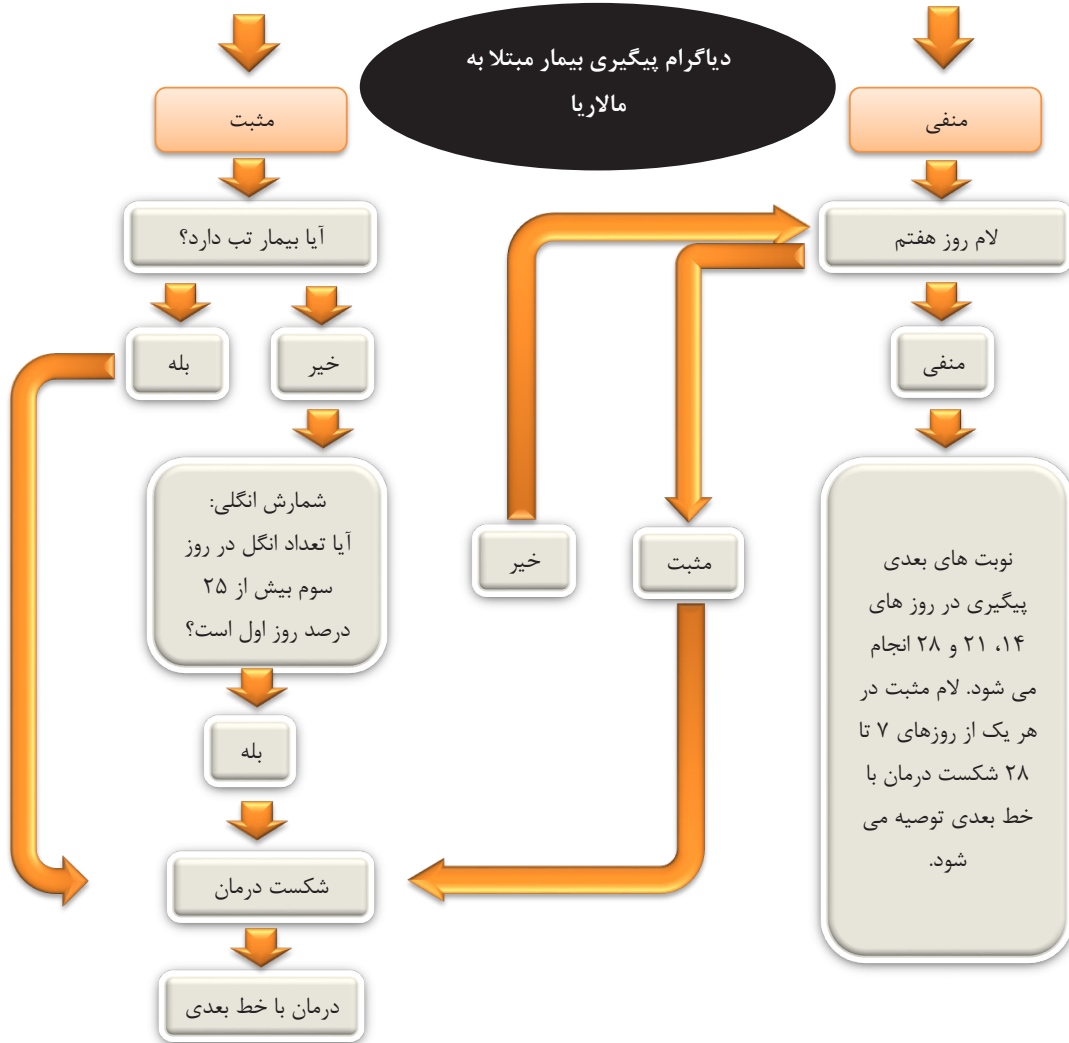
توجه:

کارت هر خانوار باید فقط در محل سکونت همان خانوار نگهداری شود

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



تهیه لام تعقیب بیماری مالاریای روز سوم



رفرانس

- ۱ - استانداردهای آزمایشگاه مالاریا و نکات اجرایی نظام تضمین کیفیت، عباس شهبازی، منصور رنجبر، ۱۳۹۴
- ۲ - مجموعه کمک آموزشی تشخیص مالاریا تهیه و تدوین سازمان جهانی بهداشت، منصور رنجبر، مصطفی علیزاده، لیلا فرجی و احمد ریسی، ۱۳۸۶

3-Basic malaria microscopy part 1. Learner, s guide

4 -Centers for Disease Control and Prevention. Guidance for malaria diagnosis infection in the United States. Atlanta. Georgia; 2014.

5- Laborstory diagnosis of Malaria operation guideline for laboratory technicians. government of India.

6- National malaria diagnosis quality assurance guidelines national department of Health.2011.

7- WHO. Bench aids for malaria diagnosis. Geneva; 2009.

8- WHO. QA manual for malaria microscopy, 2nd Edition. Geneva; 2015.

9- WHO. Malaria microscopy Quality Assurance Manual Version 2, 2016.

10- World Health organization with the collaboration of the Regional offices for Africa and the western pacific .INTERIM notes on selection of type of Malaria rapid diagnosis test in relation to the occurrence of different parasit species. 2005.

11 - World Health Organization. The use of Malaria Rapid diagnostic tests. 2006.

