

الدليل التعليمي للفحص المجهرى للملاريا



مِنَظَرِ الصِّحَّةِ الْعَالَمِيَّةِ
المكتب الاقليمي شرق المتوسط

الدليل التعليمي للفحص المجهري للملاريا

(ترجم إلى العربية بتصريف من "أساسيات الفحص المجهري للملاريا")



مَنْظَرُ الصَّحَّةِ الْعَالَمِيَّةِ
التَّجَبُّبُ الْإِسْيَاقِي شَرْقِ التُّونِسِ

القاهرة، 2003

المكتب الإقليمي لمنظمة الصحة العالمية لشرق المتوسط؛ مُترجم

الدليل التعليمي للفحص المجهرى للملاريا: تُرجم إلى العربية بتصريف من "أساسيات الفحص المجهرى للملاريا" Basic Malaria Microscopy – الجزء الأول/المكتب الإقليمي لمنظمة الصحة العالمية لشرق المتوسط

(ISBN 92-4-154430-9)

صدرت الطبعة الإنكليزية في جنيف، 1991

2. الفحص المجهرى – دليل مختبرات
أ. العنوان

1. ملاريا – تشخيص – دليل مختبرات
3. وسائل تعليمية

(ISBN 92-9021-314-0)

[رقم تصنيف المكتبة الطبية الوطنية: WC 25]

ترحب منظمة الصحة العالمية بطلبات الحصول على الإذن باستنساخ أو ترجمة منشوراتها جزئياً أو كلياً، وتوجه الطلبات والاستفسارات في هذا الصدد إلى السيد المستشار الإقليمي للإعلام الصحي والطبي، المكتب الإقليمي لمنظمة الصحة العالمية لشرق المتوسط، ص.ب. منظمة الصحة العالمية مدينة نصر (11371)، القاهرة، جمهورية مصر العربية، ويسر المكتب تقديم أسر الملوسات حول أي من التغيرات التي تطرأ على النص، وكذلك الخطأ الخامة بالطابعات، الجديدة وإعادة الطباعة والترجمات المتوافرة.

© منظمة الصحة العالمية، 2003

تمتع منشورات منظمة الصحة العالمية بالحماية المنصوص عليها في البروتوكول الثاني للاتفاقية العالمية لحقوق الملكية الأدبية، فكل هذه الحقوق محفوظة للمنظمة.

وإن التسميات المستخدمة في هذه المنشورة وطريقة عرض المادة التي تشتمل عليها، لا يقصد بها مطلقاً التعبير عن أي رأي لأمانة منظمة الصحة العالمية، بشأن الوضع القانوني لأي قطر، أو مقاطعة، أو مدينة، أو منطقة، أو لسلطات أي منها، أو بشأن تعيين حدود أي منها أو تخومها.

تم إن ذكر شركات بعينها، أو منتجات جهة صانعة معينة، لا يقصد به أن منظمة الصحة العالمية تخصها بالتركية أو التوصية، تفضيلاً لها على ما لم يرد ذكره من الشركات أو المنتجات ذات الطبيعة الماثلة، وفي ما عدا الخطأ والسهو، تم تمييز الاسم المملوك للمنتجات بحرف كبير في بداية الكلمة الإنكليزية.

طُبعت في القاهرة، جمهورية مصر العربية

فهرس

	تمهيد	
	المقدمة	
1	مرض الملاريا	الباب الأول
3	تنظيف وتخزين شرائح المجهر	الباب الثاني
6	حفظ سجلات دقيقة	الباب الثالث
7	تحضير أفلام الدم	الباب الرابع
17	صبغ أفلام الملاريا بصبغة جيمسا	الباب الخامس
29	المجهر	الباب السادس
41	فحص أفلام الدم	الباب السابع
49	فحص أفلام الدم لطفيليات الملاريا	الباب الثامن
66	الأشياء الخادعة في فيلم الدم	الباب التاسع
68	الفحص الروتيني لأفلام الدم للبحث عن طفيليات الملاريا	الباب العاشر
74	دورة حياة طفيلي الملاريا	الباب الحادي عشر
77	الإشراف على الفحص المجهرى للملاريا	الباب الثاني عشر

تمهيد

لايزال مرض الملاريا، في بعض بلدان الإقليم، من أهم الأمراض التي تواجه العاملين في مجال الصحة العامة. ولايزال الفحص المجهرى لطفيليات الملاريا في الدم هو الأساس الذي يعتمد عليه تشخيص حالات الإصابة بالملاريا. ولذا فإن الحاجة ملحة لتدريب التقنيين في المختبرات ومساعدتهم على خطوات إجراء هذا الفحص، وعلى الخطوات اللازمة للإعداد لإجراء هذا الفحص، بالإضافة إلى توحيد التقنيات المتعلقة بهذا المجال.

وبناء على ما تقدم، فقد قامت منظمة الصحة العالمية بإعداد الدليل التعليمي للفحص المجهرى للملاريا، في جزعين، خصص الجزء الأول منهما للمتدربين أو المتعلمين والجزء الثاني للمدربين أو المعلمين، وصدرت باللغة الإنكليزية، وهاهو الجزء الأول بعد إعداده باللغة العربية بين أيديكم بغية الارتقاء بمستوى خبرة العاملين في البلدان العربية في الإقليم، في هذا المجال.

المقدمة

هذا الدليل هو المرشد لأساسيات التشخيص المجهرى للملاريا، ويحتوي على المواد التعليمية الخاصة بكل ما يتعلق بالتشخيص المجهرى للملاريا، وقد روعي توفير المعلومات وشرحها بأسلوب بسيط ومفهوم. وقد تم تصميمه لكي يستخدم خلال فترة التدريب الخاص بتشخيص الملاريا. كذلك يمكن استخدام هذا الدليل كمرجع عقب فترة التدريب.

لمن يوجه هذا الدليل؟

هذا الدليل مصمم للعاملين بالمختبرات وفي أمكن تقديم الخدمات الصحية العامة، الذين سوف يضطلعون بالأنشطة المتعلقة بالتشخيص المجهرى للملاريا.

الأهداف

الهدف من هذا الدليل هو اكتساب العامل في مجال الخدمات الصحية للمهارة الكافية والقدرة لكي يتمكن من عمل ما يلي:-

- تقدير أهمية الملاريا كمرض.
- التعرف على أعراض مرض الملاريا.
- إعداد تقرير كامل ومناسب عن حالة المريض.
- إعداد أفلام رقيقة وأفلام سميكة من الدم مأخوذة من أشخاص يشتبه في إصابتهم بالملاريا.
- صبغ أفلام الدم بصبغة جيمسا للفحص.
- استخدام نظام العدسة الشينية الغاطسة بالزيت مع عدسة عينية ملائمة لفحص أفلام الدم السميكة والرقيقة وكذلك:-
 - التعرف على المكونات المختلفة للدم الطبيعي.
 - التعرف على كثافة طفيليات الملاريا وقياسها وكذلك التعرف على مراحل نموها وفصائلها.
- إعداد تقرير دقيق على ضوء نتائج الفحص.

- إعلام المسؤولين المعنيين بمعالجة الملاريا بكل النتائج.
- استخدام المعلومات المتوفرة في هذا الدليل لتدريب العاملين في مجال الصحة العامة على عمل أفلام الدم السمكة والرقيقة.
- تقديم تقارير وطلبات مشتريات عند الضرورة.
- الإلمام بكافة الاحتياطات الواجب اتباعها عند ملامسة الدم وذلك لمنع انتقال الأمراض التي تنتقل عن طريق الدم.

● استعمال هذا الدليل

هذا الدليل يحتوي على المواد التعليمية المطلوبة لتمكين العامل التقني من تحقيق الأهداف المذكورة سابقاً. وتم تقسيم الدليل إلى فصول متعددة تسمى "الفصول التعليمية". ينبغي عليك أن تكتسب المهارات والمعلومات الواردة في كل فصل على حدة قبل التقدم إلى الفصل الذي يليه ، وإلا فقد تجد صعوبة في تحقيق ما تهدف إليه هذه الفصول.

الباب الأول: مرض الملاريا

الأهداف التعليمية

بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :

- مناقشة مدى أهمية الملاريا كمرض .
- تذكر الأعراض والعلامات المرضية الهامة لداء الملاريا.
- التعرف على العدوى طفيلي الملاريا بأنها قد لا تكون مصحوبة بأعراض أو علامات مرضية.
- معرفة الملاريا بأنها مرض يسببه وجود الطفيلي في دم المريض .
- تذكر أن أنتي بعوض الأنوفيليس تنقل الملاريا للإنسان.
- شرح كيفية تشخيص الملاريا بدقة يقتضي التعرف على الطفيلي في فيلم دم مصبوغ يتم فحصه تحت المجهر.

أهمية الملاريا كمرض:

تعد الملاريا من أخطر مشكلات الصحة العامة في أنحاء عديدة من العالم. مرض الملاريا قد يأتي بصورة وخيمة وقد يؤدي للموت إذا لم تتم معالجته. تسبب الملاريا آثاراً سلبية عديدة في المناطق التي يتوطن فيها المرض فقد تؤثر على تحصيل التلاميذ في مدارسهم أو على تغذية الأطفال كما أن لها آثاراً اقتصادية مهمة.

الملاريا يسببها طفيلي صغير يعيش في دم الإنسان المصاب ويتم نقله للشخص السليم بواسطة لدغة أنتي بعوض الأنوفيليس. لا يحدث هذا الانتقال إلا بعد أن يمكث الطفيلي حوالي أسبوع داخل البعوضة.

الأعراض والعلامات المرضية للملاريا:

عند إصابة الأشخاص الذين لم يكثر تعرضهم للملاريا يكون من السهل التعرف على واحد أو أكثر من الأعراض والعلامات المرضية التالية:

- الحمى العالية.
- الصداع.
- نافض (حمى مترافقة برعشة).
- آلام عامة في الجسم بالإضافة لذلك بعض الحالات قد يصاحبها:
- قي.
- إسهال.

قد يكون من الصعب تشخيص الملاريا في الأشخاص الذين تكررت إصابتهم بالمرض. إذ أن هؤلاء يكونون قد اكتسبوا قدرًا من المناعة تجعلهم يتحملون وجود الطفيلي في دمهم إلى حد ما. أحيانًا يأخذ المريض جرعة من الدواء قبل الفحص ويؤدي ذلك للتخفيف من الأعراض التي قد تقتصر على مداع غير حاد أو حمى خفيفة.

كيف تشخص الملاريا:

كثير من الناس لا يعلمون أن الملاريا تسببها طفيليات في الدم. الطفيلي صغير ولا يمكن مشاهدته إلا بواسطة المجهر. وقبل أن يمكن مشاهدة الطفيلي في دم المريض لا بد من عمل فيلم دم وصيغه بصيغة جيمسا وبعد ذلك يفحص مجهريا بواسطة العدسة الزيتية. لو استطاع الفاحص أن يرى الطفيليات المصبوغة بهذه الطريقة يكون ذلك إثباتا لإصابة الشخص بعدوى الملاريا. ومن هنا فيجب أن تعي أن الطريقة الوحيدة لتأكيد تشخيص الملاريا هي بالفحص المجهرى لعينة مصبوغة من دم الشخص المشتبه به. هذه المهمة تحتاج لمهارة عالية. هذا "الدليل" سيقودك عبر الخطوات المطلوبة لاكتساب هذه المهارة.

الباب الثاني تنظيف و تخزين شرائح المجهر

الأهداف التعليمية

بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :

- وصف الطريقة الصحيحة لتنظيف وتغليف وتخزين شرائح أفلام الدم.
- التمييز بين الشرائح الصالحة وغير الصالحة لعمل أفلام الدم.
- القيام بغسل وتجفيف وتغليف الشرائح لعمل أفلام الدم.

تنظيف الشرائح:

عادة تتم تعبئة شرائح المجهر في صناديق سعة 50 و 72 شريحة. تُعرّف الشرائح في الصندوق بأنها "معسولة" أو "منظفة مسبقاً"، لكن مع ذلك فهي عادة تحتاج للغسل جيداً والتجفيف والتغليف. لا يمكن عمل أفلام جيدة في شرائح متسخة. الأفلام في الشرائح المتسخة أو الملوثة بالدهون يمكن أن تُمسح بسهولة أثناء عملية الصبغ. لذلك فلا بد من التخلص من الشرائح التي تكون:

- معتمّة أو يشاهد ثلثون قرصي في سطحها.
- غير نظيفة.
- قديمة، بها خدوش أو متآكلة الحواف.

لنتمكن من تنظيف الشرائح ستحتاج للمستلزمات الآتية:

- حوض بلاستيكي كبير.
- شاش أو قطن.
- منظّف جيد (مسحوق أو سائل).

- 4-2 قطع قماش قطنية جافة خالية من النسالة.
- ماء نظيف.

الشرائح الجديدة:

كل الشرائح الجديدة يجب غسلها بالمنظف والماء النظيف. تغمر الشرائح لفترة بين 30 دقيقة وساعة في محلول المنظف ثم تشطف بوضعها تحت ماء الصنبور الجاري أو بتبديل الماء النظيف في الحوض عدة مرات. كل شريحة تجفف وتصلق بمسحها بواسطة قطعة قماش قطنية جافة خالية من النسالة. الشرائح المحففة يجب تناولها بحواظها لتفادي تلوث سطحها بأثار الأصابع أو الدهون.

الشرائح المستعملة:

الشرائح المستعملة يجب أن تغمر لمدة يوم أو يومين في ماء به منظف. يجب استعمال الماء الدافئ ما أمكن ذلك. بعد الانتهاء من غمر الشرائح يجب تنظيفها الواحدة تلو الأخرى بواسطة قطعة شاش أو قطن. يجب إزالة كل أثر للزيت أو الدم من الاستعمال السابق للشريحة. إذا تركت الشرائح في محلول المنظف لفترة طويلة سيبتخر الماء و تتكون رواسب لا يمكن إزالتها من سطح الشرائح. لذلك يجب الحرص على عدم ترك الشرائح في محلول المنظف لأكثر من أيام قليلة.

بعد الانتهاء من التنظيف الأولي تغمر الشرائح ثانية في محلول جديد للمنظف و بعد ذلك يتم شطفها تحت ماء الصنبور الجاري أو بتكرار تغيير الماء النظيف في الحوض. يجب تجفيف الشرائح الواحدة تلو الأخرى باستعمال قطعة قماش جافة كما ذكر أعلاه. الشرائح التي بها بعض الخدوش ولا تتناسب لأفلام الملاريا يمكن الاستفادة منها لغرض الفحوص الروتينية في أقسام المختبر الأخرى.

تغليف الشرائح المنظفة :

- لتغليف الشرائح المنظفة تغليفاً صحيحاً تحتاج للمستلزمات الآتية:
- أوراق خفيفة ونظيفة 11 سم × 15 سم.
 - صناديق شرائح فارغة (من النوع الذي تعبأ فيه الشرائح الحديدية).
 - أربطة مطاطية أو شريط لاصق.

الشرائح المنظفة يجب أن تغلف في ورق خفيف في رزم تتكون الواحدة منها من 10 شرائح الرزمة يمكن تأمينها بشريط لاصق أو رباط مطاطي. توضع الرزم بعد ذلك في صناديق الشرائح وتحفظ للاستعمال.

يجب تخزين الشرائح في مكان جاف إذ أن تعرضها للرطوبة العالية في درجة حرارة الغرفة قد يؤدي لالتصاقها مع بعضها البعض بعد أسابيع قليلة مما يستدعي إعادة غسلها وتجفيفها لتكون صالحة للاستعمال .

الباب الثالث

حفظ سجلات دقيقة

الأهداف التعليمية

- بعد دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :
- التعرف على نماذج التقارير والسجلات المناسبة لتدوين البيانات الخاصة بالمرضى.
 - تدوين بدقة كل المعلومات المطلوبة في نماذج التقارير المناسبة.
 - اختيار نماذج التقارير الصحيحة لإرسالها للجهات المختصة

لتمكّن من متابعة المرضى بصورة صحيحة يجب أن تسجّل كل المعلومات المطلوبة عند حضورهم للعيادة أو عندما تقابلهم في أماكن سكنهم. بالرغم من أن هذه النماذج قد تختلف من بلد لآخر أو من وحدة صحية لأخرى إلا أن المعلومات المطلوبة لا تختلف وقد تشمل الآتي:

- الولاية، المحافظة أو المركز الذي تم فيه الفحص.
- المدينة أو القرية التي يقطن فيها المريض.
- عنوان المريض.
- اسم المريض، عمره وجنسه .
- رقم فيلم الدم .
- نتيجة الفحص:
- ◇ سالب لطفيليات الملاريا.
- ◇ موجب لطفيليات الملاريا.
- ◇ نوع الطفيلي، أطوار الطفيلي التي وجدت خاصة في حالة الملاريا المنجلية.
- ◇ كثافة الطفيليات في حالة الملاريا المنجلية Falciparum Malaria

الباب الرابع تحضير أفلام الدم

الأهداف التعليمية

بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :

- تذكر أسماء الأمراض المنقولة بالدم الملوث.
- تذكر الاحتياطات التي يجب اتباعها لمنع التلوث بالدم.
- تذكر قائمة بالمواد المطلوبة لعمل أفلام الدم.
- تحضير فيلم دم سميك وفيلم رقيق في نفس الشريحة بحيث تكون الأفلام صالحة للفحص المجهرى للملاريا.
- شرح أهمية كتابة تعريف صحيح في فيلم الملاريا.
- كتابة تعريف الأفلام بطريقة صحيحة.
- تتعرف على أفلام الدم ذات الجودة العالية، واختيارها.
- تذكر أسباب الأخطاء الشائعة في عمل أفلام الدم السميكة والرفيعة.

الأمراض المنقولة بالدم:

بعض الأشخاص قد يحملون مرضاً دون أن تبدو عليهم أي علامات مرضية. أهم هذه الأمراض:

- التهاب الكبد.
- الإيدز (متلازمة العوز المناعي المكتسب).
- الملاريا.

جمع عينات الدم والتعامل معها يسبب مخاطر انتقال العدوى من دم المريض بأحد هذه الأمراض ليصيب العاملين الصحيين أو أشخاص آخرين. هذه المخاطر يمكن تقليلها للحد الأدنى باتخاذك للاحتياطات الآتية:

- البس القفازات الواقية عند تعاملك مع عينات الدم .
- تجنب ملامسة الدم بأصابعك بما في ذلك الدم في الأفلام غير المصبوغة
- قم بتغطية أي جرح أو كشط في يديك بضمادة لاصقة.
- تجنب وخز نفسك أو الآخرين بالآلات الحادة التي لامست الدم.
- لا تكرر استعمال المفاصد (lancets) المعدة للطرح بعد الاستعمال.
- اغسل يديك بالصابون والماء بعد أدائك لكل مهمة فيها تعامل مع الدم.
- إذا تلوث جلدك بالدم فقم بتنظيفه بسرعة بواسطة قطعة قطن مبللة بالكحول و قم بغسل كل المنطقة الملوثة بالماء والصابون في أسرع فرصة.
- يجب التخلص بحذر من أي شئ تلوث بالدم مثل المفاصد، قطع القطن، الشرائح ، يجب أن يتم غلي هذه الأشياء لمدة 20 دقيقة أو تعمر في محلول مبييض أو محلول تحت كلورايت

الصوديوم (sodium hypochlorite) (بتركيز 10000 كلورين) وبعد ذلك يتم التخلص منها بالدفن أو الحرق.

أنواع أفلام الدم :

هناك نوعان من الأفلام يستعملان في التشخيص المجهرى للملاريا:
فيلم سميك وفيلم رقيق.

الفيلم الرقيق:

يتكون من طبقة واحدة من كريات الدم الحمراء ويستفاد منه في معرفة نوع طفيلي الملاريا بعد أن يشاهد أولاً في الفيلم السميك. كذلك يستخدم هذا الفيلم للكتابة على الشريحة حيث يكتب فيه اسم ورقم المريض.

الفيلم السميك :

يتكون من عدد كبير من كريات الدم الحمراء التي أزيل عنها الهيموغلوبين. يتم تركيز الطفيليات في مساحة أقل في الفيلم السميك مما يمكن من العثور عليها بسرعة مقارنة بالفيلم الرقيق.

تحضير الأفلام السمكة والرقيقة في نفس الفيلم:

المستلزمات الآتية مطلوبة لتحضير أفلام الدم :

- شرائح زجاجية منطقة ومغلقة.
- مفاصد معقمة.
- كحول مثالي وماء.
- قطن ماص.
- صناديق شرائح (أو غطاء يقي الشرائح من الغبار و الذباب).
- فماس فطني نظيف خالي من النسالة.
- نماذج تقارير أو سجل للمرضى .

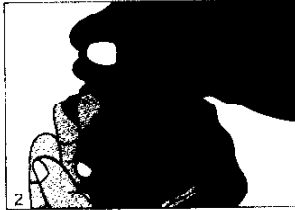
طريقة اخذ عينات الدم وتحضير أفلام الدم السميكه والرفيقة موضحة في اللوحة (1). لاحظ أنه بالرغم من أن الفيلم السميك والفيلم الرفيق المأخوذين من نفس الشخص يمكن تحضيرهما في نفس الشريحة إلا أنه من غير المستحب الجمع بين أفلام لأكثر من شخص واحد في نفس الشريحة.

اللوحة (1): تحضير فيلم سميك وفيلم رقيق في نفس الشريحة :

بعد تدوين المعلومات عن المريض في النماذج والسجل يتم عمل الأفلام كما يلي:

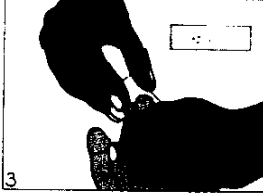


(1) أمسك باليد اليسرى للمريض بحيث تكون راحة يده إلى الأعلى. اختر للوخز الإصبع الثالث من الإبهام (في الأطفال الصغار يمكن اختيار الإصبع الكبير للقدم). يجب عدم وخز إبهام اليد في الكبار أو الأطفال. نظف الإصبع بقطعة قطن مبللة بقليل من الكحول مع تكرار المسح لتنظيف الإصبع من الأوساخ والدهون. جفف الإصبع بقطعة قطن جافة وذلك بمسحات ثابتة تثير دوران الدم في الإصبع وتجفف الجافة في نفس الوقت.



(2) قم بوخز الإصبع بمقصدة معقمة بحركة سريعة. أضغط برفق على الإصبع حتى تظهر القطرة الأولى من الدم وقم بمسحها بقطعة قطن جافة. تأكد من عدم ترك ألياف من القطن في الإصبع حتى لا تختلط بالدم لاحقاً.

(3) يجب توخي السرعة وعدم لمس الشرائح إلا بحرفاتها عند جمع الدم كما يلي:

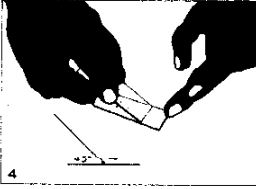


امسح الإصبع برفق واجمع قطرة دم بمثل الحجم الموضح في الشكل. هذه القطرة ستخصص لعمل الفيليم الرقيق .

اضغط مرة أخرى لاستخراج المزيد من الدم للفيليم السميك وذلك بجمع قطرتين أو ثلاثة قطرات على بعد 1 سم من قطرة الفيليم الرقيق. امسح الدم الباقي في الإصبع بقطعة قطن.

(4) الفيليم الرقيق:

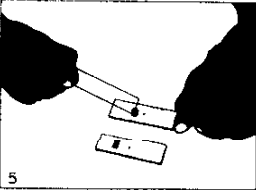
ضع الشريحة التي بها الدم في سطح مستوي وصلب. استعمل شريحة نظيفة أخرى بمثابة "ناشرة" لنشر الدم الرقيق على سطح الشريحة كما يلي:



المس قطرة الدم بحافة الناشرة ودع الدم يجري على مدى حافة الناشرة الملامسة للشريحة بحركة ثابتة أنفع الناشرة على سطح الشريحة مع حفظ الزاوية 45 درجة بين الناشرة والشريحة وتأكد من تساوي تلامسهما إلى نهاية الفيليم.

(5) الفيليم السميك:

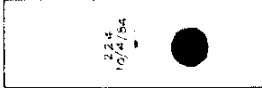
تعامل مع الشرائح بأطرافها أو بركن من أركانها لتحضير الفيليم السميك كما يلي:



باستعمال ركن الناشرة قم بضم قطرات الدم وانتشر الدم المجمع لعمل فيلم سميك متساوي النوريع. يجب عدم الإفراط في تحريك الدم إذ تكفي 3-6 حركات لنشر الفيليم السميك في شكل دائرة أو مستطيل. دائرة الفيليم يجب أن يكون قطرهما حوالي 1سم (3/1 بوصة)



(6) باستعمال قلم الرصاص اكتب اسم المريض ورقمه والتاريخ في الجزء الأكثر سكا من الفيلم الرقيق بعد أن يجف. لا تستعمل قلم الحبر الجاف لهذا الغرض. دع الفيلم السميك ليُجف بعد وضعه في سطح مستو ووقائته من الذباب والغبار و الحرارة العالية



(7) غلف الشريحة الجافة بنموذج تقرير المريض وأرسلها للمختبر في أسرع فرصة .

**مثال لفيلم سميك وفيلم رقيق تم
تحضيرهما بطريقة جيدة
وتعرفهما بطريقة صحيحة.**

(8) الشريحة التي استعملت في تحضير الفيلم كناشرة يمكن بعد ذلك أن تستعمل لعمل الأقلام لمريض آخر على سطحها مع استعمال شريحة جديدة كناشرة.

أخطاء شائعة في تحضير أفلام الدم:

هناك أخطاء يكثُر الوقوع فيها عند عمل أفلام الدم وهذه الأخطاء قد تكون في الكتابة على طرف الفيلم أو الصبغ أو الفحص المجهرى.

الأوضاع الخاطئة للأفلام

يجب وضع الفيلم في المكان المناسب من الشريحة إذ أن الأفلام في الأوضاع الخاطئة قد يسهب فحصها تحت المجهر وقد يتم سسها عند السبغ و التجفيف.



الإكثار من كمية الدم في الفيلم:

عند استعمال كمية كبيرة من الدم قد لا يصبغ الفيلم جيدا إذ يغلب على خلفية الفيلم اللون الأزرق. كذلك قد تكثر كريات الدم البيضاء في الفيلم السميك مما قد يؤدي لحجب الطفيليات. أما الفيلم الرقيق فقد تؤدي زيادة الدم لأن يكون الفيلم أكثر سمكا مما يجب و تكون فيه كريات الدم الحمراء متكلسة فوق بعضها البعض مما يجعل الفحص المجهرى للفيلم صعباً.



الدم أقل مما يجب:

عند استعمال كمية غير كافية من الدم يكون عدد كريات الدم البيضاء في الفيلم قليلا. هذا النوع من الأفلام يقلل من كفاءة الفحص إذ أن الكمية المفحوصة من الدم تكون أقل من الكمية القياسية لفحص الملاريا.



الفيلم المنشور في شريحة ملوثة بالدهون:

يكون توزيع الفيلم غير متساو في الشرائح الملوثة بالدهون مما يجعل فحصها صعبا. كذلك قد تؤدي الدهون لسقوط بعض الأفلام السميقة من سطح الشريحة أثناء الصبغ.

نشر الفيلم بشريحة متآكلة الحواف.



عند نشر الفيلم بشريحة متآكلة الحواف يؤدي ذلك لأن يكون الفيلم الرقيق متقلبا في شكل خطوط و ذبول و كذلك قد يتأثر الفيلم السميك باستعمال مثل هذه الشرائح لنشر الدم .

مساحة الفيلم الرقيق أكبر مما يجب الوضع الخاطئ للفيلم السميك:



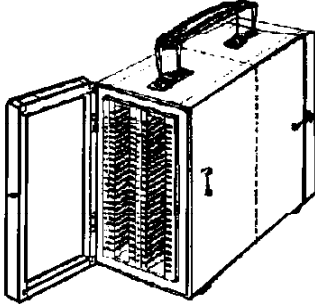
إذا كانت مساحة الفيلم الرقيق أكبر مما يجب سيصبح موضع الفيلم السميك قريب جداً من حافة الفيلم بحيث يمسح فحمسه تحت السحجر و قد يتعرض في هذا الموضع للكشط بالاحتكاك مع حوض الصبغ أو رفرف التجفيف .

أخطاء شائعة أخرى:

- يكثر الوقوع في بعض الأخطاء أثناء تحضير أفلام الدم كما يلي:
- بعض الحشرات مثل الذباب والنمل والصراصير يمكن أن تأكل الدم الجاف وبالتالي تتلف الأفلام.
- الأفلام المحضرة في شرائح تكثر فيها الخدوش .
- إذا كان تجفيف الفيلم السميك غير متساو.
- تثبيت الفيلم السميك بمرور الوقت أو بتعرضه للحرارة ، هذا سيجعل عملية الصبغ صعبة ونتائجها غير مرضية.
- حزم الشرائح قبل أن تجف جيداً مما يجعلها تلتصق مع بعضها البعض.

تجفيف أفلام الدم:

يجب تخزين الأفلام بصورة صحيحة حتى يجف الفيلم السميك بصورة متساوية لذلك يجب حمايته من الغبار والذباب. الصورة التالية لصندوق تجفيف الشرائح وهو يناسب الظروف الميدانية والمختبر.



صندوق تجفيف الشرائح

تخزن الأفلام أفقياً حتى يجف الفيلم السميك بطريقة متناسقة وبسبك متساو. الصندوق به باب لمنع دخول الحشرات والغبار ومقبض حتى يسهل حمله. لا يجب تفرغ أحد جانبي الصندوق من الشرائح التي وضعت فيه (نصف سعة الصندوق أى 50 شريحة) إلا بعد اكتمال ملء الصندوق بالشرائح المنة التي هي سعته الكاملة، وعندئذ يمكن تفرغ جانب الصندوق الذي تم ملئه أولاً ثم البدء في جمع عينات دم جديدة. في ظروف جمع الأفلام في الميدان عادة تكون الشرائح الخمسون الأولى قد جفت ويمكن حزمها.

عندما يجف الفيلم السميك تماماً يمكن جمع الشرائح بحيث يقابل ظاهر الواحدة باطن الأخرى وتخزن بهذا الوضع داخل الصندوق المستعمل سابقاً لتعبئة الشرائح النظيفة. في الجو الحار والرطب قد تتنبت الأفلام بسرعة ولذلك يجب الإسراع بصيغها بأسرع فرصة في ظرف 3 أيام من جمعها. إذا كان لابد من التخزين فيمكن وضعها في مجففة (desiccator). كذلك يجب التأكد من أن الشرائح قد حزمت بطريقة صحيحة وأنها غير معرضة لأشعة الشمس القوية أو الحرارة العالية.

الباب الخامس صبغ أفلام الملاريا بصبغة جيمسا

الأهداف التعليمية

- بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :
- تشغيل الميزان الكيميائي البسيط المستعمل في المختبر.
 - تحضير محلول ماء دارى (buffer) يصلح للخلط مع صبغة جيمسا وذلك بأن تقوم بالوزن الدقيق لأملاح الدارى. وأن تستعمل مقارن لوفيبوند (Lovibond comparator) بالطريقة الصحيحة.
 - تحضير محاليل تصحيحية بتركيز 2 % لتعديل الأس الهيدروجيني (pH) للماء الخاص بصبغة جيمسا.
 - شرح لماذا من الضروري أن يكون الأس الهيدروجيني للماء الدارى مضبوطاً على 7.2 للحصول على أفلام جيدة الصبغ بصبغة جيمسا.
 - تذكر متى تستعمل الطريقة العادية ومتى تستعمل طريقة الصبغ السريع.
 - استعمال صبغة جيمسا والمحلول الدارى المناسب لصبغ أفلام الدم بغرض فحصها لطفيليات الملاريا ، وذلك باتباع الطريقة العادية أو السريعة للصبغ.
 - إعداد الأفلام السميكة والرفيعة للصبغ.
 - تذكر الطرق الصحيحة والطرق غير الصحيحة للتعامل مع صبغة جيمسا.
 - تجفيف وتخزين الشرائح المصبوغة مُتبعاً في ذلك الطرق الصحيحة.

الماء الدارئ (buffered water):

قبل أن تستطيع صبغ الأفلام بطريقة صحيحة يجب أن تقوم بتحضير الماء الدارئ ليخلط بالصبغة. هذا الماء يجب أن يكون فيه الأس الهيدروجيني (pH) الصحيح حتى يتم الصبغ بصورة جيدة. المصطلح "الأس الهيدروجيني" أو "pH" يستعمل لوصف حمضية أو قلوية السائل. وهي مبنية على مقياس بين "صفر" ويعني "حامض جداً" وفي النهاية الأخرى نجد أن "14" تعني قلوي جداً. السوائل التي لا هي حمضية ولا هي قلوية توصف بأنها محايدة أو متعادلة و تكون في الأس الهيدروجيني 7,0.

يمكن قياس الأس الهيدروجيني بمقياس الأس الهيدروجيني (pH meter) بمُشعر لوني (color indicator) مثل مقارن لوفيبوند (Lovibond

comparator) الذي سنتعرض له لاحقاً.

يمكن أن نجعل الماء أكثر حموضة أو أكثر قلوية بإضافة أملاح دارنة (buffer salts). هذه الأملاح قد يتم الحصول عليها منفصلة ويتم خلطها بنسب معينة في حجم معين من الماء للحصول على الأس الهيدروجيني المطلوب. أو قد يمكن الحصول عليها في شكل أقراص تم فيها تركيب الدوائري بحيث يمكننا الحصول على الأس الهيدروجيني المطلوب عند إذابتها في حجم محدد من الماء مثال لذلك قرص واحد في مئة مليلتر أو في لتر واحد. إذا كنت تنوي تحضير أملاح الدارئ بنفسك فينبغي أن تقوم بوزنها باستعمال الميزان. يجب أن تتأكد أن أملاح الدارئ مخزنة بطريقة سليمة وأنها لم تتأثر بامتصاص الرطوبة من الجو.

عمل الماء الدارئ:

المعدات	الكمية/العدد
ميزان كيميائي يقرأ 0,01 غرام أو أقل (الميزان ذو الكفتين هو الأمثل).	1
أوراق ترشيح ، قطرهما 11 سم .	2
حَوْجَلَة (دورق مخروطي flask) سعة 1000 مل .	1
دورق (beaker) سعة 250 مل.	1
ملعقة أو مِلُوق (spatula) خشبي يمكن استعمال خافض لسان خشبي .	2
ماء مقطر أو ماء مزال الأيونات .	1000 مل
فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين (لامائي) KH_2PO_4	
فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم (لامائي) Na_2HPO_4	
الطريقة:	
تأكد من أن مؤشر الميزان مضبوط على الصفر أو اضبطه على الصفر بتعديل برغي الميزان .	الخطوة 1
ضع ورقة ترشيح في كل واحدة من كفتي الميزان وعدل ضبط الميزان للصفر مرة أخرى وذلك بتحريك وزن الغرام على ذراع مقياس الغرام.	الخطوة 2
الآن حرك وزن الغرام لمقدار 0,7 غرام إضافية ليكون جاهزا لوزن فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين.	الخطوة 3
باستعمال المِلُوق الخشبي خذ بعض فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين من حاويته وضعها في ورقة الترشيح في كفة الميزان اليسرى. راقب مؤشر الميزان واستمر في زيادة الملح والنقص منه إلى أن ينضبط مؤشر الميزان في الصفر مرة أخرى.	الخطوة 4

- الخطوة 5** انقل ما قد قمت بوزنه من 0,7 غرام فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين إلى الدورق وأضف إليه 150 مل من الماء وحركه بالمِلْوَق الثاني إلى أن يذوب كل الملح.
- الخطوة 6** بَدَلْ ورقة الترشيح في كفة الميزان اليسرى بورقة جديدة.
- الخطوة 7** بعد تعديل مؤشر الميزان للصفر لمعادلة وزن الورقة قم بتعديل وزن الغرام إلى غرام واحد لفوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم .
- الخطوة 8** باستعمال المِلْوَق الخشبي خذ بعض من فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم من حاويته وضعها في ورقة الترشيح في كفة الميزان اليسرى. راقب مؤشر الميزان واستمر في زيادة الملح والنقص منه إلى أن ينضبط مؤشر الميزان في الصفر مرة أخرى كما في الخطوة "4" أعلاه.
- الخطوة 9** قم بإذابة فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم في الماء الذي كان أصلاً في الدورق في الخطوة "5" أعلاه.
- الخطوة 10** عند اكتمال ذوبان الملح قم بصب المحلول من الدورق إلى الحَوْجَلَة (الدورق المخروطي)، أكمل الماء ليصل مستواه لعنق الحَوْجَلَة. هذا ما يعادل لتر واحد تقريباً.

الماء الدارى الآن يمكن ضبطه للأس الهيدروجيني 7,2 . للقيام بهذا التعديل ستحتاج لسوائل تصحيح (correcting fluids) وهي ما ستقوم بتحضيره في الخطوة التالية.

تحضير سوائل تصحيح بتركيز 2%:

المعدات:

الكمية/العدد	المعدات
1	ميزان كيميائي يقرأ 0,01 غرام أو أقل (الميزان ذو الكفتين هو الأمثل).
2	أوراق ترشيح ، قطرها 11 سم .
2	قارورة زجاجية بسدادة زجاجية .

اسطوانة مدرجة سعة 100 مل.	1
دورق سعة 250 مل .	2
ملئوق خشبي . يمكن استعمال خافض لسان خشبي .	2
ماء مقطر أو ماء مزال الأيونات .	200 مل
فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين (لامائي) KH_2PO_4	
فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم (لامائي) Na_2HPO_4	
لصاقات ترسيم (labels)	

الطريقة:

- الخطوة 1** اتبع نفس الخطوات "1" و "2" من طريقة عمل الماء الدائري ومن ثم حرك وزن الغرام في ذراع المقياس لمقدار 2 غرام إضافية.
- الخطوة 2** قم بوزن فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم وأنبها في 100 مل من الماء في الدورق .
- الخطوة 3** صب المحلول في أحد القارورتين وضع عليها لصاقة مكتوب عليها "2%" فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم".
- الخطوة 4** كرر الخطوتين "1" و "2" أعلاه وهذه المرة قم بوزن 2 غرام من فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين. صب المحلول في القارورة الثانية و ضع عليه لصاقة مكتوب فيها 2 % فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين.

ملحوظة:

عندما لا تكون هذه القوارير قيد الاستعمال فيجب تخزينها في مكان بارد بعيداً عن أشعة الشمس.

فحص وتعديل الأس الهيدروجيني للماء الدارئ (buffer):

من المهم أن تفحص الأس الهيدروجيني للماء الدارئ قبل أن تستعمله. لتعديل الأس الهيدروجيني يجب إضافة كميات قليلة من أحد محاليل التصحيح. أضف من محلول 2% فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم إذا كان الأس الهيدروجيني أقل من 7,2 (عالي الحموضة) أو أضف من محلول 2% فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين إذا كان الأس الهيدروجيني أكثر من 7,2 (عالي القلوية). يتم تعديل الأس الهيدروجيني كما في الطريقة أدناه :

المعدات:

المعدات	الكمية/العدد
محلول دارئ في حوَّلة (دورق مخروطي)	1
محاليل تصحيح بتركيز 2% (موصوفة أعلاه)	2
مقارن لوفيبوند (Lovibond comparator) به قرص H1/2 أزرق البروموثايمول (2/1 H bromothymol blue disc).	1
خلية لوفيبوند الزجاجية (Lovibond glass cell)	2
قارورة مُشعر أزرق البروموثايمول (bromothymol blue indicator)	1
مِمْص (pipette) سعة 1 مل	1

الطريقة:

الخطوة 1 صب الماء الدارئ من الحوَّلة لكل واحدة من خلايا لوفيبوند الزجاجية حتى تصل لعلامة 10 مل. ضع إحدى الخلايا في الجانب الأيسر، هذه ستكون خلية التحكم (control).

- الخطوة 2** بواسطة الممصّ أنقل 0,5 مل من مُشعِر أزرق البروموثايمول للخلية الأخرى. امزج المُشعِر اللوني وضع الخلية في الجانب الأيمن.
- الخطوة 3** أمسك المقارن في اتجاه خلفية جيدة الإضاءة ، أدر قرص الألوان حتى يماثل لونها لون المحلول في الجانب الأيمن.
- الخطوة 4** أضف كمية قليلة من محلول فوسفات الهيدروجين ثنائي الصوديوم إذا كان الأس الهيدروجيني عالي الحموضة أو أضف من محلول فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين إذا كان الأس الهيدروجيني عالي القلوية وأعد فحص الأس الهيدروجيني بواسطة مقارن لوفبيوند.

صبغ أفلام الملاريا:

الطريقة العادية لصبغ عشرين أو أكثر من أفلام الملاريا:

المعدات:

- محلول تخزين صبغة جيمسا (stock solution).
- كحول مثيلي.
- فطن ماص (absorbent cotton wool).
- حوض صبغ (staining trough).
- ماء مقطر أو ماء مزال الأيونات الأس الهيدروجيني 7,2 .
- اسطوانة مدرجة (measuring cylinder) بسعة 100-500 مل (حسب عدد الشرائح المراد صبغها).
- اسطوانة مدرجة بسعة 10-25 مل – حسب كمية صبغة التخزين (ستوك) المراد قياسها.
- دورق (beaker) أو حوْجَلَة (دورق مخروطي flask) - سعته تُحدّد حسب كمية الصبغة التي ينبغي مزجها.
- ساعة توقيت.
- رف رف تجفيف شرائح (slide-drying rack)

الطريقة:

الشرائح التي تصبغ بهذه الطريقة يستحسن أن تكون قد تم تجفيفها طوال الليل:

- 1 الخطوة 1
ثبّت كل فيلم رقيق برفق بضمادة قطن صغيرة مبللة بالكحول المثلي أو بغمس الفيلم في الكحول المثلي لثوان قليلة. تجنّب أن يصل الكحول المثلي أو دخانه (fume) إلى الفيلم السميك حتى لا يثبت الفيلم السميك.
- 2 الخطوة 2
ضع الشرائح في حوض الصبغ وتوضع أزواج متقابلة . الظهور مع التأكد أن الأفلام السمكية في ناحية واحدة من الحوض.
- 3 الخطوة 3
حضر محلول 3% صبغة جيمسا بإضافة 3 مل من مختزن محلول جيمسا و 97 مل من الماء الدارئ (buffer).
- 4 الخطوة 4
صب الصبغة برفق في الحوض إلى أن تغمر كل الشرائح. تجنّب صب الصبغة مباشرة في الأفلام السمكية.
- 5 الخطوة 5
دع الشرائح في الصبغة لمدة 30-45 دقيقة. يمكن تحديد الزمن الأمثل لكل مجموعة بالتجربة.
- 6 الخطوة 6
صب الماء التنظيف برفق في الحوض حتى تطفو وتزاح نفاية الصبغة التي تظهر كغشاء بتلون قزحي في سطح الصبغة. يصب الماء في جانب الحوض الذي به الأفلام الرقيقة لتجنب إتلاف الأفلام السمكية. الطريقة البديلة هي غمس الحوض كله في وعاء أو حوض ملى بالماء التنظيف.
- 7 الخطوة 7
ادفق المتبقي من الصبغة واشطف الشرائح مرة أخرى بالماء التنظيف لعدة ثواني ثم ادفق الماء .
- 8 الخطوة 8
التقط الشرائح الواحدة تلو الأخرى وضهاف في رفرف تجفيف بحيث يكون الفيلم للأسفل ودعها حتى تنزح وتجف. تجنّب أن يلامس الفيلم السميك حافة رفرف التجفيف.

الطريقة السريعة :

الطريقة السريعة عادة تُتبع لصبغ ما بين 1 إلى 5 شرائح في وقت واحد. تُستعمل هذه الطريقة حينما يكون هناك استعجال للفحص لمعرفة ما إذا كان المريض مصاباً بالمalaria. هذه الطريقة تستهلك قدراً كبيراً من الصبغة.

المعدات :

- محلول تخزين جيمسا في قارورة سعة 25 مل.
- كحول مثيلي.
- قطن ماص.
- أنابيب اختبار سعة 5 مل .
- ماء مقطر أو ماء مزال الأيونات مضاف له دارئ (buffer) الأس الهيدروجيني له 7,2 .
- مِمَصٌّ باستور (Pasteur pipette) بحلمة مطاطية.
- رفرف صبغ staining rack .
- مجفف شعر كهربائي صغير أو لمبة كحول.
- ساعة توقيت.
- رفرف تجفيف شرائح (Slide –drying rack).

الطريقة:

لا بد أن تجف الأفلام السميكة تماماً قبل أن تصبغ. يمكن تجفيفها بسرعة أكبر بتمرير نيار هوائي حار فوقها إما من مجفف شعر أو بتعريضها للحرارة من لمبة كحول لكن في كل الحالات يجب تجنب تعريض الشرائح للحرارة الحارة أو للشمس إذ أن الحرارة الشديدة قد تثبت الفيلم السميكة ومن ثم لا يصبغ بطريقة صحيحة.

- الخطوة 1** ثبت كل فيلم رقيق برفق بضمادة قطن صغيرة مبللة بالكحول المثلي أو بغمس الفيلم في الكحول المثلي لثواني قليلة. تجنب أن يصل الكحول المثلي أو دخانه إلى الفيلم السميك حتى لا يثبت الفيلم السميك.
- الخطوة 2** استخدم أنبوبة الاختبار أو وعاء صغير لمزج الصبغة الشريحة الواحدة تتطلب 3 مل من الصبغة الممزوجة. تمزج الصبغة بتركيز 10% (جزء واحد من محلول الصبغة المختزن يضاف إلى 9 أجزاء من الماء الدارئ). يمكن إضافة الصبغة المختزنة بممص باستور وذلك بإضافة 3 قطرات من الصبغة لكل مليلتر من الماء الدارئ وهذا يعطي مزيج الصبغة بتركيز 10%.
- الخطوة 3** ضع الأفلام التي يراد صبغها على رفرف الصبغ.
- الخطوة 4** صب الصبغة الممزوجة برفق فوق الشرائح أو استعمل ممص باستور لصب قطرات من الصبغة فوق الشريحة.
- الخطوة 5** اصبغ الفيلم لمدة 5-8 دقائق. المدة المثلى لصبغ كل شريحة أو مجموعة شرائح ستوضح بعد التجربة.
- الخطوة 6** اغسل الصبغة برفق وذلك بإضافة قطرات من الماء النظيف. لا تدفق الصبغة من فوق الشرائح لأن نفاية الصبغة الطافية في السطح ستلتصق بالفيلم وتلفه.
- الخطوة 7** ضع الشريحة في رفرف تجفيف بحيث يكون الوجه الذي فيه الفيلم لأسفل واتركها حتى تنزح وتجف. تجنب أن يلامس الفيلم السميك حافة رفرف التجفيف.

استعمال صبغة جيمسا:

صبغة جيمسا عبارة عن خليط من الأوسين (صبغة بلون أحمر ووردي) و زرقة الميثيلين وعادة تتوفر كمحلول مختزن في 4 واربعة 100 مل، 250 مل أو أكثر.

هنالك بعض الإرشادات التي يجب اتباعها وبعض المحاذير التي يجب تجنبها عند التعامل مع محلول جيمسا المختزن.

ما يجب عليك عمله:

- عندما لا يكون مخزن جيمسا قيد الاستعمال يجب أن تكون سدادة القارورة مقفولة تماما لمنع تبخر المذيب وتأكد الصبغة.
- احفظ الصبغة في قارورة زجاجية داكنة اللون بعيداً عن ضوء الشمس المباشر.
- للتقليل من تكرار فتح قارورة يمكن وضع ما سيستهلك ليوم أو يومين في قارورة أخرى أصغر سعة.
- دائماً احفظ المحلول المخزن في مكان بارد وجاف.

ما يجب عليك تجنبه :

- يجب عدم إضافة أي ماء للمحلول للمخزن إذ أن أقل قدر من الماء يؤدي لتلف الصبغة وبالتالي عدم صلاحيتها.
- يجب عدم رج قارورة الصبغة لأن هناك بلورات صبغة غير ذائبة ستعلق في المحلول ولاحقاً قد تترسب في الفيلم عند الصبغ وتحجب بعض أجزائه.
- يجب عدم إعادة أي صبغة غير مستعملة لقارورة المحلول المخزن. يستحسن أن يتم فصل ما سيستهلك لكل يوم أو يومين في قارورة صغيرة .

العناية بالأنية الزجاجية:

الأنية الزجاجية مثل الأسطوانة المدرجة ، الممصّات وأجواض الصبغ يجب أن تكون دائماً نظيفة وجافة قبل استعمالها. أي أنية زجاجية استعملت لصبغة جيمسا يجب تنظيفها بالماء النظيف مباشرة بعد استعمالها لإزالة أكبر قدر من الصبغة. بعد ذلك تتقع لفترة من الوقت (يفضل طوال الليل) في

محلول منظف. غسل الأنية الزجاجية في المنظف يعطيك نتائج مرضية إذا أتبعته ذلك بالشطف الجيد في ماء نظيف. راسب المنظف لو تركت في الزجاج يمكن أن تؤثر على الأس الهيدروجيني للماء الدارئ مما قد يفسد عملية الصبغ لذلك يجب دائما التأكد من أن الأنية الزجاجية قد شطفت جيدا قبل تحفيها.

أي راسب صبغة تترك لتجف في الأنية الزجاجية سيكون من الصعب إزالتها و قد تفسد صبغ الأفلام مستقبلا، هذه الرواسب يمكن إزالتها بالنقع في الكحول المثيلي ويتبع ذلك الغسل بالمنظف بطريقة عادية.

الباب السادس المجهر

الأهداف التعليمية

- بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :
- استعمال المجهر بإضاءة اصطناعية أو إضاءة طبيعية .
 - استعمال العدسة الزيتية استعمالاً صحيحاً.
 - تشغيل المسرح الميكانيكي للمجهر.
 - تذكر أسماء المكونات الأساسية للمجهر.
 - وصف كيفية المحافظة على المجهر في حالة جيدة.
 - تعدد الأخطاء التي يجب تجنبها عند التعامل مع المجهر.
 - وصف كيفية التخزين الصحيح للمجهر.
 - وصف كيف يمكن تعبئة المجهر بحيث يتحمل الترحيل من مكان لآخر.

من المهم أن تتعلم كيف تستعمل المجهر استعمالاً صحيحاً وأن تفهم قدرات المجهر وقيود استخداماته و أن تكون على دراية بما يجب اتباعه للمحافظة عليه.

المجهر الشائع الاستعمال الآن يسمى المجهر المركب. يجب معرفة أجزائه للأسباب الآتية:

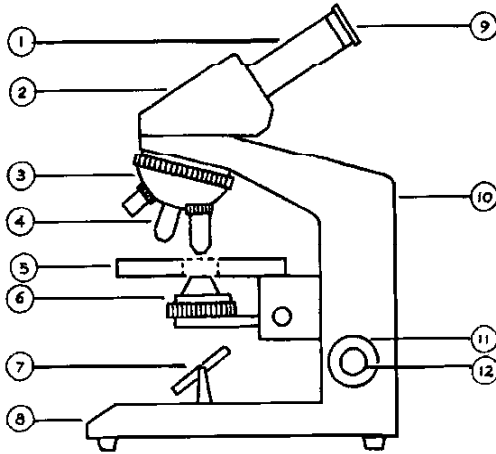
- حتى تتمكن من تنفيذ الإرشادات العملية أثناء التدريب على الفحص المجهرى.
- حتى تتمكن من وصف بدقة الأجزاء التي قد تحتاج للصيانة أو الاستبدال أثناء عملك.

أجزاء المجهر المركب (compound microscope): الأجزاء الرئيسية للمجهر المركب موضحة في شكل (1)

الأنبوب الرئيسي وأنبوب الجسم:

الأنبوب الرئيسي وأنبوب الجسم يكونان ما يسمى "رأس المجهر". عادة يكون وضع الرأس مائلا باتجاه الشخص المستعمل للمجهر وعندئذ يوصف بأنه "رأس مائل". هناك موشورات زجاجية مصقولة مثبتة داخل أنبوب الجسم في الرأس المائل، وهذه الموشورات، تعكس الضوء بحيث تصل الصورة لعين من يستعمل المجهر.

القطعة العينية أو "العينية" توجد في قمة الأنبوب الرئيسي. معظم المجاهر المركبة مزودة برؤوس ذوات عينيّين (binocular) ويعني ذلك أن بها قطعتين عينيّتين – واحدة لكل عين. قد يكون بالمجهر قطعة عينية واحدة هذا النوع يسمى مجهر وحيد العينية (monocular).



شكل (1) أجزاء المجهر المركب

- 1: الأنبوب الرئيسي main tube
 2: أنبوب الجسم (prism) body tube
 3: القطعة الأنفية الدوارة nosepiece
 4: الشيئية objective
 5: المسرح (المسرح الميكانيكي) stage
 6: المكثف condenser
 7: المرآة mirror
 8: القاعدة base
 9: العينية (القطعة العينية) ocular
 10: الذراع arm
 11: زر التعديل السريع coarse adjustment
 12: زر التعديل الدقيق fine adjustment

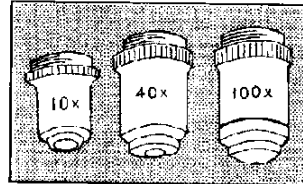
القطعة الأنفية الدوارة:

هناك عدد من العدسات الشينية المثبتة في القطعة الأنفية للمجهر والتي يمكن تدويرها لاستبدال قوة التكبير حسب العدسة التي تكون في المقدمة.

العدسات الشينية:

كل أجزاء المجهر تحتاج للعناية لكن العدسات الشينية يجب التعامل معها بعناية خاصة. هذه العدسات تكون ذات جودة عالية و يجب التعامل معها بغاية الحذر. أحياناً تكون هناك عدستان تم لصقهما ولذلك يجب تجنب استعمال المذيبات مثل محاليل الكحول القوية أو الأسيتون حتى لا يؤدي ذلك لإذابة المادة اللاصقة لمثل هذه العدسات. تسمى العدسات الشينية بقوة تكبيرها و تكتب قوة التكبير لكل شينية بجانبها. عادة يستعمل المجهر العدسات الشينية التالية :

- 10×
 - 40×
 - 100×
- وهذه الشينية تسمى بالعدسة الزيتية. وأحياناً تميز بحلقة حمراء أو سوداء.

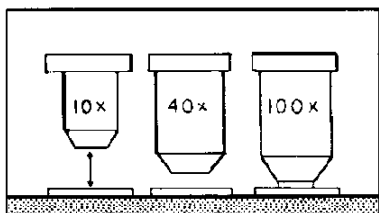


الشينيات (العدسات الشينية) وبها قوة التكبير

ستلاحظ في الشكل أعلاه أن حجم العدسة في مقدمة الشينية يقل كلما زادت قوة التكبير.

تختلف الشبنيات في قوة تكبيرها و بالتالي في البُعد التشغيلي وهو المسافة بين العدسة الأمامية للشبينة والعينة في مسرح المجهر (عندما تكون في البؤرة). كلما زادت قوة تكبير الشبينة قصر مسافة هذا البُعد التشغيلي. البُعد التشغيلي للشبنيات القياسية قد تكون كما يلي (وقد تختلف تبعا لصانع المجهر)

10×	15.89	مم
40×	4.31	مم
100×	1.81	مم (العدسة الزيتية)



الشبنيات (العدسات الشبينية) لاحظ تفاوت البُعد التشغيلي

استعمال المسرح الميكانيكي:

المسرح الميكانيكي يمسك بالشريحة و يثبتها و يسمح بتحريكها برفق إلى الأمام والخلف او للجانبين. قد يكون المسرح مزوداً بمقياس مدرج بجانبه حتى يمكن معرفة مدى حركة الشريحة. هذا يسمى بمقياس فيرنير وهو يساعدك في تحديد المواقع في الفيلم ويمكنك من الرجوع إلى نقاط معينة من الفيلم لو كررت فحص الفيلم مرة أخرى.

المكثف (بداخله الحجاب القرصي):

يتكون المكثف من عدد من العدسات مهمتها تركيز الضوء من المرآة أو مصدر الضوء الكهربائي ويتم تركيز هذا الضوء في نقطة مركزية

في الحقل. المكثف يمكن رفعه وخفضه للتحكم في زيادة أو نقص الإضاءة.

داخل المكثف يوجد الحجاب القزحي (iris diaphragm) و بواسطته يمكن التحكم في كمية الضوء التي تمر من خلال المكثف. الحجاب القزحي يتكون من عدد من الصفائح المعدنية هائلة الشكل ومتداخلة مع بعضها البعض محيطة بفتحة صغيرة يمر من خلالها الضوء ويمكن التحكم في قطرها بواسطة رافعة جانبية.

حامل المرشح (الفلتر) و المرشح الأزرق:

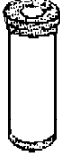
تحت الحجاب القزحي يوجد حامل المرشح (الفلتر) هنا يوضع المرشح الأزرق و هو يجعل حقل الرؤية يبدو أبيض اللون بدلا من اللون الأصفر عند استعمال الضوء الكهربائي .

المرآة:

تستعمل المرآة لتوجيه الضوء من مصدره إلى الحقل المجهرى. للمرآة وجهان أحدهما سطح مستوي ويستعمل مع المكثف والآخر سطح مقعر ويستعمل بدون المكثف (إذ أن السطح المقعر نفسه يعمل كمكثف).

ملحوظة: بعض المجاهر بها مصدر إنارة مثبت بداخلها لكنها لا تستعمل مرآة و عوضا عن ذلك بها موشور (prism) يعكس الضوء من مصدر الإضاءة إلى حقل المجهر. في البعض الآخر هناك مصدر إنارة يمكن استبداله بمرآة عند الحاجة لذلك .

العينية (القطعة العينية):



عينية المجهر

تثبت العينية في الجزء الأعلى من الأنبوب الرئيسي وهي العدسة التي ينظر من خلالها مستعمل المجهر أثناء الفحص. قوة تكبير العينية عادة تكون مكتوبة في جانبها. قوة التكبير هي عدد المرات التي تكبر بها العينية الصورة المعكوسة من الشبيئية. كمثال لذلك عند استعمال عينية $7\times$ وعدسة زيتية $100\times$ تكون قوة التكبير الكلية للعينة : $700 - 100$.

العينيات متوفرة بقوى تكبير متفاوتة. للفحص المجهرى للملاريا تفضل العينية $7\times$ و يمكن استعمال $6\times$ ، لكن العينية بتكبير $10\times$ لا يوصى باستعمالها.

العينيات المثبتة في المجهر ذو العينيتين تسمى عينيتان مزدوجتان وتصنع خصيصا للمجهر المثبتة فيه. في حافة العينيتين قد ترى " $7\times$ " وهذا يعني أن زوج العينيتين له قوة تكبير $7\times$.

الذراع:

الذراع عبارة عن ركيزة يثبت عليها الأنبوب الرئيسي ومسرح المجهر، يصنع الذراع ليكون قويا ويمكنك بواسطته حمل المجهر وتحريكه داخل المختبر لكن يوصى عندئذ أن تقوم بسند المجهر عند قاعدته باستعمال يدك الأخرى.

أزرار الضبط السريع والدقيق:

هناك نظامان للتعديل البؤري في المجهر: تعديل سريع وتعديل دقيق. زر التعديل السريع يستعمل لتحريك المسرح (أو في بعض المجاهر جسم المجهر) لمسافات كبيرة للتقريب بين الشينية والعينة ، بينما يستعمل التعديل الدقيق مع العدسات الشينية ذات التكبير العالي. من العادة أن يتم التعديل البؤري أولاً باستعمال التعديل السريع ثم بعد ذلك يستخدم التعديل الدقيق أثناء الفحص. عند استعمال العدسة الزيتية يكون استخدام التعديل السريع مختلفاً كما سنرى لاحقاً.

القاعدة:

مهما كان شكل قاعدة المجهر (عادة في شكل U أو مستطيلة) فلا بد أن تركز على نضد أو طاولة مسطحة وثابتة ومن الضروري أن لا يتحرك أو يتذبذب المجهر أثناء استعماله. هناك ثقب صغير في قاعدة المجهر. هذا الثقب خاص بمسمار لولبي يستعمل لتثبيت المجهر داخل صندوقه أثناء النقل.

استعمال المجهر:

مصدر الضوء:

الفحص السليم للعينة يقتضي مصدراً جيداً للضوء وقد يكون هذا المصدر ضوء النهار أو التيار الكهربائي الذي قد يكون من الإمداد من الشبكة المركزية أو من بطارية أو من مولد كهربائي. لا يمكن أداء الفحص المجهرى بطريقة صحيحة إذا كان الضوء ضعيفاً أو ساطعاً أكثر مما يجب. يمر الضوء من المصدر عبر المسار التالي:

مصدر الضوء \Leftarrow المرآة (لو كانت مستخدمة) \Leftarrow المكثف (إذا كان مصدر الضوء اصطناعياً) \Leftarrow العينة (الشريحة) \Leftarrow الشينية \Leftarrow العينية.

عند استخدام ضوء اصطناعي يجب وضع مرشح أزرق بين المصدر والمكثف. إذا استخدمت المرأة مع ضوء اصطناعي فيجب استخدام الوجه المسطح من المرأة. أما عند استعمال ضوء النهار فيجب استعمال الوجه المقعر من المرأة بدون استخدام المكثف.

كيفية الحصول على إنارة متساوية:

الخطوات التالية ينبغي اتباعها للحصول على إضاءة متساوية في حقل المجهر:

- 1 الخطوة وضع الشريحة في المسرح . اضبط الصورة بالعدسة الشينية $10 \times$ مستخدماً زر التعديل السريع
 - 2 الخطوة بعد التأكد من أن الحجاب القزحي مفتوح تماماً ارفع المكثف للنقطة التي يكون فيها الحقل ساطع للحد الأقصى.
 - 3 الخطوة أزل العينية وبالنظر خلال الأنبوب قم بتعديل المرأة حتى تضاء الشينية تماماً.
 - 4 الخطوة أعد العينية وقم بالتعديل مستخدماً زر التعديل الدقيق حتى تحصل على صورة واضحة للعينية.
 - 5 الخطوة أزل العينية مرة أخرى واقفل الحجاب القزحي حتى يكون ثلثي فتحة الشينية مرئياً. هذه الخطوة تزيد من وضوح صورة المجهر و تعطيها الحد الأقصى من التمييز .
 - 6 الخطوة أعد العينية وأدر القطعة الأنفية لاختيار الشينية ذات التكبير المطلوب. قد تحتاج للقليل من التعديل البؤري مع كل تغيير للشينية. الإرشادات الخاصة باستعمال العدسة الزيتية مذكورة أدناه.
- " الإضاءة يمكن ضبطها بسهولة بتوسيع أو تضيق فتحة الحجاب القزحي".

الخطوات التالية يوصى باتباعها لإعداد المجهر للفحص بالعدسة الزيتية:

- 1 الخطوة قم بضبط الإضاءة كما موضح أعلاه.

- الخطوة 2 باستعمال المعدل السريع اخفض المسرح.
- الخطوة 3 ضع الشريحة في المسرح بحيث يكون الفيلم للأعلى.
- الخطوة 4 أدر القطعة الأنفية الدوارة بحيث تكون الشببية $\times 100$ فوق الشريحة وذلك بعد التأكد من وجود مسافة تمنع احتكاك العدسة بالشريحة.
- الخطوة 5 ضع قطرة أو قطرتين من زيت الغطس في الفيلم في المنطقة التي سيتم فحصها .
- الخطوة 6 باستخدام المعدل السريع ارفع المسرح حتى تتلامس الشببية مع الزيت. اخفض المسرح قليلاً مع الحفاظ على تلامس الشببية مع الزيت.
- الخطوة 7 باستخدام التعديل الدقيق اضبط الصورة مع التأكد من عدم تلامس العدسة مع الشريحة. يمكن ضبط الإضاءة وذلك بتعديل فتحة الحجاب القزحي.

يستعمل زيت الغطس بين الشريحة والشببية للتقليل من تشتيت الضوء الآتي من المرأة أو مصدر الإضاءة ولتحقيق ذلك فلا بد أن يكون معدل انكسار الزيت مائتاً لمعدل انكسار مادة العدسة (وهي 1,515 أو حوالي 1,5 أي أنها تعادل معادل انكسار الماء 1,5 مرة).

عند استعمال زيت الغطس ، يجب تنظيف العدسة والشرائح في نهاية جلسة العمل . يمكن أن تستعمل فماتاً فظنياً ناعماً أو ورق عدسات لتنظيف الشببية لكن تذكر عدم استعمالهم في تنظيف العدسات الأخرى. يجب إزالة الزيت المجفف في العدسة الزيتية من وقت لآخر ولهذا الغرض يوصى باستعمال الزايلين (xylene) دون غيره من الأنواع الأخرى من المذيبات. يمكن إزالة الزيت من الشرائح باستعمال قدر قليل من الزايلين . إذا لم تستطع الحصول على زايلين فيمكنك إزالة الزيت من الشريحة بلمسات رقيقة بورق تجفيف.

زيت الغطس متوفر تجارياً. في بعض الأقطار تستعمل مادة الانيسول (anisol) بدلاً عن زيت الغطس. الانيسول له نفس معادل انكسار زيت الغطس ويتميز بأنه يتبخر من سطح الفيلم بعد فترة من الزمن مما يغني عن عمارة تنظيف الفيلم التي قد تؤدي لمسحه، كما أنها تغني عن ضرورة تنظيف العدسة الشببية.

العناية بالمجهر:

باتباع الإرشادات العادية وممارسة الفطرة السليمة فإن المجهر يظل يحمل بصورة جيدة لعدد من السنوات.

إزالة الغبار والدهون:

عندما لا يكون المجهر مستعملاً خلال اليوم فيجب أن تتم تغطيته بقطعة قماش نظيفة أو غطاء بلاستيكي لحماية العدسات من الغبار. للحفاظ طوال الليل أو عند عدم استعماله لفترات طويلة يجب أن يدخل المجهر في صندوقه مع إحكام قفل الباب. لحماية العدسات الشبكية يجب أن تدار الشبكية $10\times$ لتكون في محاذاة العينية.

الزيت والدهون تنتقل بسهولة من الأصابع أو الرموش لتترسب في العدسات أثناء استعمال المجهر. هذه يمكن تنظيفها بواسطة ورق عدسات أو قطن ناعم جداً.

يجب تنظيف الشبكية الزيتية بعد الاستعمال حتى لا يتصلب الزيت وتتلف الشبكية. ورق العدسات أو قطعة قماش قطني عادة بفيان بالغرض لكن يجب عدم استعمال نفس الورقة أو القماش لتنظيف الشبكات الأخرى أو المرآة.

منع نمو الفطريات:

في ظروف الرطوبة العالية والجو الدافئ قد تنمو الفطريات في عدسات المجهر أو موشوراته مما قد يعطل أداء المجهر وقد يحتاج إعادة صقل العدسات لوقت طويل وتكاليف باهظة.

لا ينمو الفطر في العدسات عندما يكون الجو جافاً ولذلك يجب حفظ المجهر في جو جاف عندما لا يكون مستعملاً. لهذا الغرض يمكن استعمال أحد الوسائل التالية:

- احفظ المجهر في غرفة يكون تكييف الهواء فيها متواصلاً.
- ضع المجهر في "خزانة دافئة" وهي عبارة عن خزانة مسدودة للهواء بهالمة أو لمبتان بقوة 25 واط مضاعتان باستمرار.

- احفظ كل العدسات والموشورات في صندوق مسدود للهواء أو مجففة يتم تجفيف الهواء بداخلها بواسطة هلامة السيليكا نشطة .

ملحوظة: هلامة السيليكا عبارة عن مجفف أي أنها مادة تمتص بخار الماء في الهواء. هلامة السيليكا ذاتية الإشعاع تكون زرقاء اللون عندما تكون نشطة لكن تتقلب للون الأحمر الوردي عندما تتشبع بالماء. بعد ذلك يمكن تنشيطها مرة أخرى بالتسخين حيث تسترد اللون الأزرق مرة أخرى عند إسترداد نشاطها. عندما تجف هلامة السيليكا يجب إعادتها للحاوية المسدودة للهواء . ينبغي استعمال هلامة السيليكا ذاتية الإشعاع دون غيرها .

في الأماكن التي لا يوجد بها تيار كهربائي وحيث توجد ثلاجة كبروسين يمكن الاستفادة من الحرارة المتولدة من هذه الثلاجة لتفادي تأثير الرطوبة العالية بوضع المجهر في رف يعلو بحوالي 20-30 سم فوق مدخنة الثلاجة. الحرارة المنقولة من المدخنة ستجعل صندوق المجهر دافئاً وجافاً لدرجة تمنع نمو الفطريات في عدسات المجهر .

نقل المجهر:

عند الرغبة في نقل الصندوق. أنجح السبل لهذا الغرض هي ربط جهاز التأمين في قاعدة المجهر وهي عبارة عن مسمار لولبي يربط قاعدة المجهر بقاعدة الصندوق.

الباب السابع فحص أفلام الدم

الأهداف التعليمية

بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على:

- التعرف على المكونات العادية للدم.
- استعمال عدسات المجهر المناسبة لفحص أفلام الدم السميكة والرقيقة.
- التعرف على مكونات الدم العادية وتصنيفها.
- التعرف على الأشياء الخادعة والشوائب التي تؤدي للأخطاء في تشخيص الملاريا.

مكونات الدم الطبيعي:

عند أخذ الدم مباشرة من الوريد وجمعه في أنبوب اختبار يكون الدم عبارة عن سائل أحمر اللون.
بعد ترك الأنبوب ساكناً لمدة 5-20 دقيقة ستجد أن الدم ينفصل لطبقتين كما هو موضح في الشكل أدناه. طبقة المصل عبارة عن سائل أصفر شاحب اللون. جلطة الدم عبارة عن مادة شبيهة صلبة ذات لون أحمر داكن مائل للسواد. تحتوي الجلطة على كريات الدم الحمراء و كريات الدم البيضاء و صفيحات الدم. هذه المكونات صغيرة الحجم بحيث لا يمكن مشاهدتها إلا بواسطة المجهر وبعد عمل أفلام للدم وصبغها.



مظهر مكونات الدم الطبيعية:

يجب أن تستطيع التعرف على المكونات المختلفة التي تظهر في فيلم الدم. قد يختلف مظهر هذه المكونات في الفيلم الرقيق عنه في الفيلم السميك.

الدم في الفيلم الرقيق:

عند فحص فيلم الرقيق للدم بعدسة الشيئية بقوة $\times 100$ وعينية بقوة $\times 7$

ستتمكن من رؤية الآتي:

- كريات الدم الحمراء
- كريات الدم البيضاء
- صفيحات الدم

يمكنك التعرف على هذه المكونات بعد المقارنة بالرسم في شكل (2)

كريات الدم الحمراء:

توصف كرية الدم الحمراء بأنها قرص مقعر الوجهين، وهذا موضَّح في الرسم أدناه:



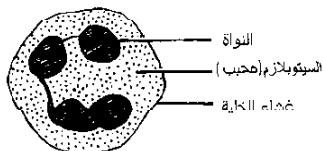
كرية دم حمراء

كريّة الدم الحمراء هي أكثر الخلايا التي تشاهد في فيلم الدم الرقيق. هناك حوالي 5000000 كرية حمراء في كل ميكرو لتر (μl) من الدم. بعد الصبغ بصبغة جيمسا يكون لون الكرية الحمراء رمادي - وردي وقطرها حوالي 7,5 ميكرو متر (μm).

لاحتوي كرية الدم الحمراء على نواة لكن بعضها قد يحتوي على مادة تختلف في صبغتها وهذه الكريات تبدو أكبر حجماً من الكريات الحمراء السوية (شكل 2).

كريّات الدم البيضاء:

يحتوي الميكرو لتر من الدم على حوالي 6000-8000 من كريات الدم البيضاء وهذا يقل بكثير عن عدد الكريات الحمراء. هناك عدة أنواع من الكريات البيضاء تختلف عن بعضها البعض في انصباعها. يمكن التمييز بين هذه الأنواع بسهولة بعد التدريب على ذلك.
مكوّنات كرية الدم البيضاء:



كريّة دم بيضاء

سنرى أن كل كرية بيضاء تحتوي على نواة محاطة بهيولي أو سيتوبلازم. في بعض الأحيان يكون السيتوبلازم حبيبي الشكل. بعض الكريات لها نواة مفصصة. يمكن تقسيم الكريات البيضاء لمجموعتين كما يلي:

المجموعة الأولى: الكريات المفصصة (مفصصة النواة) :

● كريات الدم البيضاء العدلات (م: العدلة neutrophil) :
العدلات تكوّن 65% من كريات الدم البيضاء في الشخص السليم. لهذه الكريات حبيبات مميزة في السيتوبلازم وتتصبغ نواتها باللون الأرجواني الداكن.
من الشائع في حالات الملاريا مشاهدة كريات عدلة تحتوي على خضاب الملاريا وهذه تمثل ما بقي من طفيلي الملاريا الذي ابتلعته هذه الكريات.

● كريات الدم البيضاء الأوسينات (م: الأوسينية eosinophil)
تمثل هذه الكريات 1-4% من مجموع الكريات البيضاء في الشخص السوي. تتميز هذه الكريات بأن السيتوبلازم يحتوي على حبيبات تصطبغ باللون الأحمر الوردى لصبغة الأوسين (eosin).

● كريات الدم البيضاء (م: القعدة basophil) :
الكريات القعدة قليلة العدد، عادة تكون أقل من 1% من مجموع الكريات البيضاء. يحتوي السيتوبلازم على حبيبات كبيرة ذات لون بنفسجي زاهي.

المجموعة الثانية: الكريات غير المفصصة:

● كريات الدم البيضاء الوحيدات (م: الوحيدة- monocyte):
الكريات الوحيدة هي أكبر كريات الدم البيضاء- تبلغ حوالي 12-18 ميكرومتر في قطرها. النواة كبيرة الحجم وشكلها كلوي والسيتوبلازم قد يحتوي على عدد قليل من الحبيبات التي تصطبغ باللون الوردى أو الأحمر. الوحيدات تكون 2-10% من مجموع الكريات البيضاء في الشخص السوي وهي مثل الكريات العدلة لها المقدرة على ابتلاع طفيليات الملاريا.

● اللمفاويات (م: لمفاوية lymphocyte):
هناك نوعان من اللمفاويات: ليمفاويات كبيرة وليمفاويات صغيرة وفي مجموعهما يمثلان 20-45% من كل كريات الدم البيضاء.

النواة في الليمفاويات الكبيرة مستديرة ولونها بنفسجي داكن في الفيلم المصبوغ جيداً. الكمية الكبيرة من السيتوبلازم تصطبغ باللون الأزرق المائي الصافي وقد تحتوي على حبيبات قليلة ذات لون بنفسجي. اللمفاوية الصغيرة تكبر قليلاً على كرية الدم الحمراء العادية. السيتوبلازم قليل جدا والنواة تصطبغ باللون الأزرق الداكن.

● صَفِيحَاتِ الدَّمِ (platelets) :

الصَّفِيحَاتِ عبارة عن أجسام صغيرة تصطبغ باللون الأحمر وشكلها غير منتظم ولا تحتوي على نواة وتعدادها حوالي 100000 في ميكرو لتر الدم . تظهر الصَّفِيحَاتِ عادة في مجموعات من 5-10 صَفِيحَاتِ لكنها قد تتكدس مع بعضها البعض في أعداد كبيرة في الأفلام الغير معدة جيداً. من المهم اكتساب المقدرة على التعرف على الصَّفِيحَاتِ إذ أن الفاحص غير المتمرس قد يخلط بينها وبين طفيليات الملاريا.

الدم في الفيلم السميك:

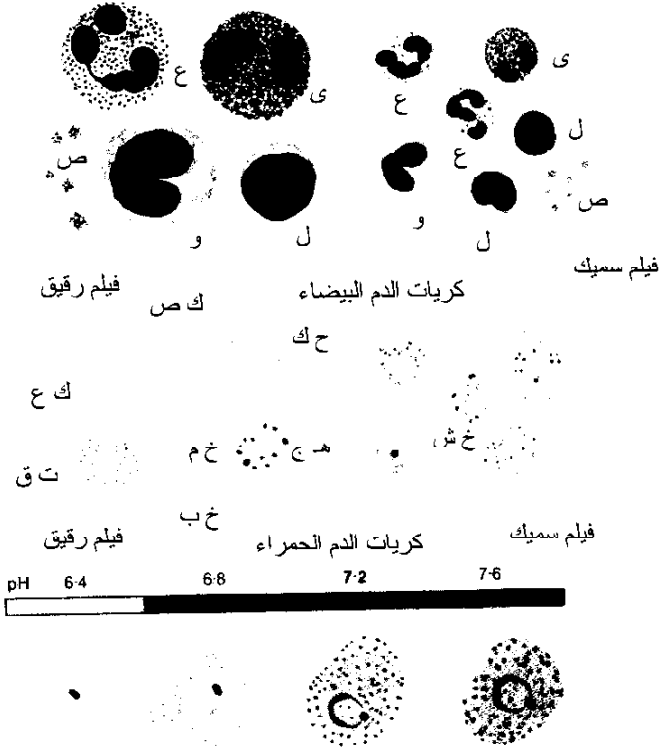
عندما تفحص الفيلم السميك بشيئية بقوة $\times 100$ وعينية $\times 7$ يمكنك رؤية الآتي:

- بقايا كريات الدم الحمراء
- كريات الدم البيضاء
- صَفِيحَاتِ الدَّمِ

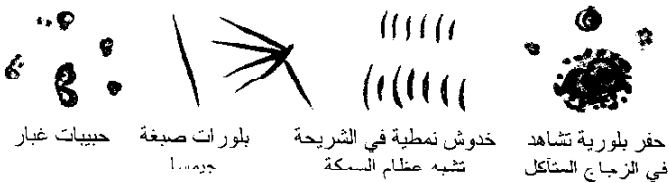
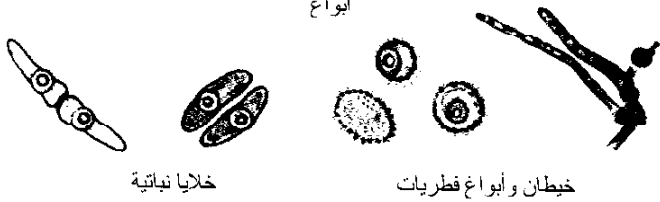
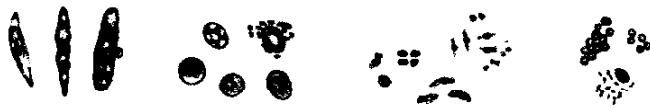
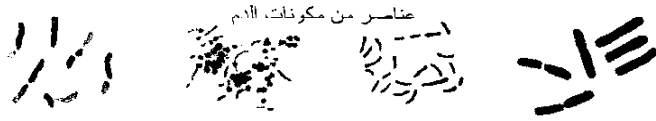
فيلم الدم السميك عبارة عن كتلة سميكة مكونة من عدد كبير من الكريات الحمراء التي أزيل عنها الهيموغلوبين. عند صبغ الفيلم السميك باستعمال صبغة جيمسا يقوم الماء في محلول الصبغة بإذابة محتويات الكريات الحمراء غير المثبتة (غير المحفوظة). الهيموغلوبين هو المكون الرئيسي لمحتويات كرية الدم الحمراء لذلك فقد سميت هذه العملية بعملية إزالة الهيموغلوبين.

يمكنك مشاهدة هذه العملية عند وضع فيلم سميك في طبق أو صينية صبغ بها ماء. بعد حوالي دقيقة أو دقيقتان يبدأ اللون الأحمر للهيموغلوبين في الانسياب من الفيلم السميك الذي يبدأ لونه في الشحوب ويصير شفافاً. يحدث هذا أثناء الصبغ وبالتالي فالمتمبقي بعد اكتمال عملية الصبغ عبارة عن بقايا كريات الدم الحمراء بالإضافة للكريات البيضاء والصَّفِيحَاتِ.

البيضاء والصفائح الدموية وبقايا خلايا الدم الحمراء كما يرى في الشكل 2. فإذا وجدت في أي لحظة أشياء قد تبدو غير طبيعية فعليك أن تبلغ عنها المشرف عليك. كذلك قد تظهر في أفلام الدم شوائب أو أشياء خادعة كما في الشكل 3 وسوف نتعرض لها بالتفصيل فيما بعد.



اللوحة (2): مكونات الدم. (أعلى)
صبغ الكريّة المصابة بطفيلي الملاريا حسب الأس الهيدروجيني pH (أسفل)



اللوحة (3) : الشوائب والأشياء الخادعة في فيلم الملاريا

الباب الثامن

فحص أفلام الدم لطفيليات الملاريا

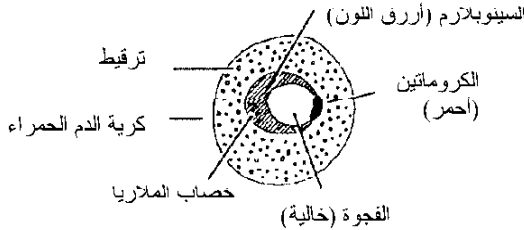
الأهداف التعليمية

بعد دراسة هذا الباب ستكون قادراً على:

- تسمية الأجزاء المختلفة لطفيلي الملاريا
- التعرف على طفيليات الملاريا في أفلام الدم الرقيقة بما في ذلك التعرف على طور الأتروففة (تروفوذيت trophozoite) طور العرسيّة (جامتوسايت gametocyte) و طور المُتقسّمة (شايزونت schizont).
- التمييز بين أنواع الملاريا المختلفة وأن تتعرف على نوع وطور طفيلي الملاريا عند مشاهدته في فيلم الدم الرقيق.
- التمييز بين أنواع الملاريا وأن تتعرف على نوع وطور طفيلي الملاريا عند مشاهدته في فيلم الدم السميك

التعرّف على طفيلي الملاريا:

ينصبغ طفيلي الملاريا بصبغة جيمسا على منوال خاص في أفلام الدم الرقيقة يختلف عنه في الأفلام السمكية. ينبغي أن تكون قادراً على التمييز بين أجزاء الطفيلي المختلفة كما هي موضحة في الرسم أدناه:



تمر طفيليات الملاريا بعدة أطوار نمو، لكن في كل هذه الأطوار يأخذ كل جزء من الطفيلي نفس اللون الذي أخذه في الأطوار الأخرى: الكروماتين (جزء من نواة الطفيلي) عادة يكون مستديرا ويصطبغ باللون الأحمر الداكن. السيتوبلازم يكون في عدة أشكال تتفاوت من شكل حلقي إلى شكل غير منتظم تماما دائما يكون لونها أزرق لكن درجة اللون الأزرق قد تتفاوت من نوع لآخر من أنواع طفيليات الملاريا.

أطوار طفيلي الملاريا:

طور الأتروففة trophozoite :

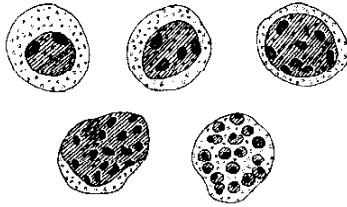


طفيلي الملاريا في أطوار الحلقة (أتروففة)

هذا هو الطور الذي يشاهد في معظم الأحيان ويسمى بطور الحلقة بالرغم من أنه أحيانا يأخذ شكل الحلقة غير الكاملة. طور الأتروففة هو طور نمو الطفيلي ولذلك يتفاوت حجم الطفيلي داخل الكرية الحمراء من حجم صغير إلى حجم كبير للغاية. يبدأ خضاب الملاريا في الظهور عند نمو الطفيلي. خضاب الملاريا عبارة عن منتجات جانبية نتيجة لاستقلاب أو نمو الطفيلي وهو لا يتلون عند الصبغ لكن له لونه المميز والذي يتفاوت من لون أصفر شاحب إلى لون بني داكن أو أسود.

طور المُتقسِّمة schizont :

في طور المُتقسِّمة يبدأ طفيلي الملاريا في التكاثر . هذا النوع من التكاثر يسمى بالتكاثر اللاجنسي لأن الطفيلي ليس مذكراً أو مؤنثاً لكنه يتكاثر بالانقسام البسيط . هناك عدة أطوار لهذا الانقسام بداية من طفيلي بقطعتين من الكروماتين إلى الأطوار النهائية التي تكون فيها عدد من نقاط الكروماتين محاطة بسيتوبلازم . هذه الأطوار موضحة في الشكل أدناه:



طفيلي الملاريا في عدّة مراحل من طور المُتقسِّمة

ملحوظة: عملية تكوين المُتقسِّمات في الكبد أو الدم تسمى بالتكاثر الانشطاري (أو التقسيمي).

طور العرسيّة gametocyte:








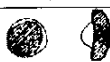






عرسيّات مذكرة و مؤنثة

العرسيّة هي طور جنسي حيث أن الطفيلي يصير إما ذكرا أو أنثى استعدادا للمرحلة التالية التي تحدث في معدة انثى بعوض الأنوفيليس. يتفاوت شكل العرسيّة حسب نوع الطفيلي فقد تكون كروية الشكل أو قد تشبه شكل ثمرة الموز. يمكن التمييز بين العرسيّة المذكرة و العرسيّة المؤنثة بملاحظة الطريقة التي يأخذ بها الطفيلي الصبغة .

مفتاح للتعرف على أطوار طفيليات الملاريا في الأفلام الرقيقة:

	<p>1: هل هناك نقطة أو أكثر من الكروماتين المصبوغ باللون الأحمر وسيتوبلازم مصبوغ باللون الأزرق؟ نعم : اذهب إلى 2 لا : ماتشاهده ليس بطفيلي.</p>
	<p>2: هل الشكل و الحجم يتناسبان مع شكل و حجم طفيلي الملاريا؟ نعم : ما تشاهده يحتمل أن يكون طفيلي ملاريا، اذهب إلى 3. لا : ماتشاهده ليس بطفيلي</p>
	<p>3: هل هناك خضاب الملاريا في الحريّة؟ نعم : اذهب إلى 7 لا : اذهب إلى 4</p>

	<p>4: هل للطفيلي نقطة كروماتين واحدة تتصل مع سيتوبلازم أزرق اللون في شكل حلقة منتظمة بداخلها فجوة ؟</p> <p>نعم : هذا هو طور الأتروفة لا : اذهب إلى 5</p>
	<p>5: هل للطفيلي نقطة كروماتين واحدة تتصل مع سايتوبلازم أزرق اللون في شكل حلقة صغيرة منتظمة أو مصمتة بداخلها فجوة ؟</p> <p>نعم : هذا هو طور الأتروفة لا : اذهب إلى 6</p>
	<p>6: هل يبدو الطفيلي ذو نقطة الكروماتين الواحدة كجسم غير منتظم الشكل أو مفتتا ؟</p> <p>نعم : هذا هو طور الأتروفة لا : اذهب إلى 8</p>
	<p>7: هل الطفيلي ذو خضاب الملاريا به نقطة كروماتين واحدة ؟</p> <p>نعم : اذهب إلى 8 لا : اذهب إلى 9</p>
	<p>8: هل للطفيلي فجوة أو يبدو وكأنه مفتتا ؟</p> <p>نعم : هذه يحتمل أن تكون طورا متقدما من الأتروفة لا : اذهب إلى 11</p>
	<p>9: هل الطفيلي نقطتا كروماتين متصلتان بحلقة وله كذلك فجوة ؟</p> <p>نعم : هذه يحتمل أن تكون أتروفة لا : اذهب إلى 10</p>
	<p>10: هل الطفيلي بين 2-32 نقاط كروماتين وخضاب الملاريا ؟</p> <p>نعم : هذا طور المتكسمة</p>
	<p>11: هل الطفيلي مستدير الشكل أو يشبه شكل ثمرة الموز ؟</p> <p>مستدير : اذهب إلى 12</p>

	شكل الموز : اذهب إلى 14
	12: هل للطفيلي المستدير الشكل كتلة كروماتين واضحة وستوبلازم أزرق اللون ؟ نعم : هذه عرسيّة مؤنثة لا : اذهب إلى 13
	13: هل الطفيلي المستدير الشكل يغلب عليه اللون الأحمر بحيث يصعب تمييز الكروماتين ؟ نعم : هذه عرسيّة مذكرة
	14: هل الطفيلي الذي يشبه شكل ثمرة الموز له سيتوبلازم مصبوغ بلون أزرق كثيف ومادة كروماتين بلون أحمر زاهي ؟ نعم : هذه عرسيّة مؤنثة لا : اذهب إلى 15
	15: هل الطفيلي الذي يشبه شكل ثمرة الموز يغلب عليه اللون الأحمر بحيث يصعب تمييز الكروماتين ؟ نعم : هذه عرسيّة مذكرة

أنواع طفيليات الملاريا:

لقد ذكرنا أعلاه بعض المميّزات الخاصة في شكل طفيلي الملاريا التي تساعد على التعرف عليه في فيلم الدم الرقيق. بالإضافة لذلك فقد يؤثر طفيلي الملاريا على شكل كريات الدم الحمراء بطرق مميزة قد تساعد على التعرف على نوع طفيلي الملاريا.

الأنواع الأربعة لطفيليات الملاريا :

هناك أربعة أنواع من الملاريا تصيب الإنسان:

- المتصورة المنجلية (بلازموديوم فالسيپارم *plasmodium falciparum*): هذا هو النوع الأكثر انتشاراً في المناطق الحارة و يسبب معظم المضاعفات والوفيات بسبب الملاريا.
- المتصورة النشيطة (بلازموديوم فايفاكس *Plasmodium vivax*) ينتشر هذا النوع في الأماكن الأكثر برودة في المناطق المدارية وشبه المدارية. أكبر طفيليات الملاريا التي تصيب الإنسان.
- المتصورة البيضاوية (بلازموديوم أوفالي *Plasmodium ovale*) نوع نادر الحدوث لكنه يسجل من وقت لآخر في بلاد كثيرة خاصة في أفريقيا. وقد يخلط بينها وبين المتصورة النشيطة.
- المتصورة الوبالية (بلازموديوم ملاري *Plasmodium malraei*) أقل شيوعاً من الأنواع السابقة لكنها قد يعثر عليها في معظم المناطق.

الأشكال المختلفة لأنواع الملاريا في فيلم الدم الرقيق:

أبسط الطرق للتمييز بين أنواع الملاريا المختلفة تعتمد على التعرف على التغيرات التي تحدثها الأنواع المختلفة في شكل الكرية الحمراء. أهم هذه التغيرات هي

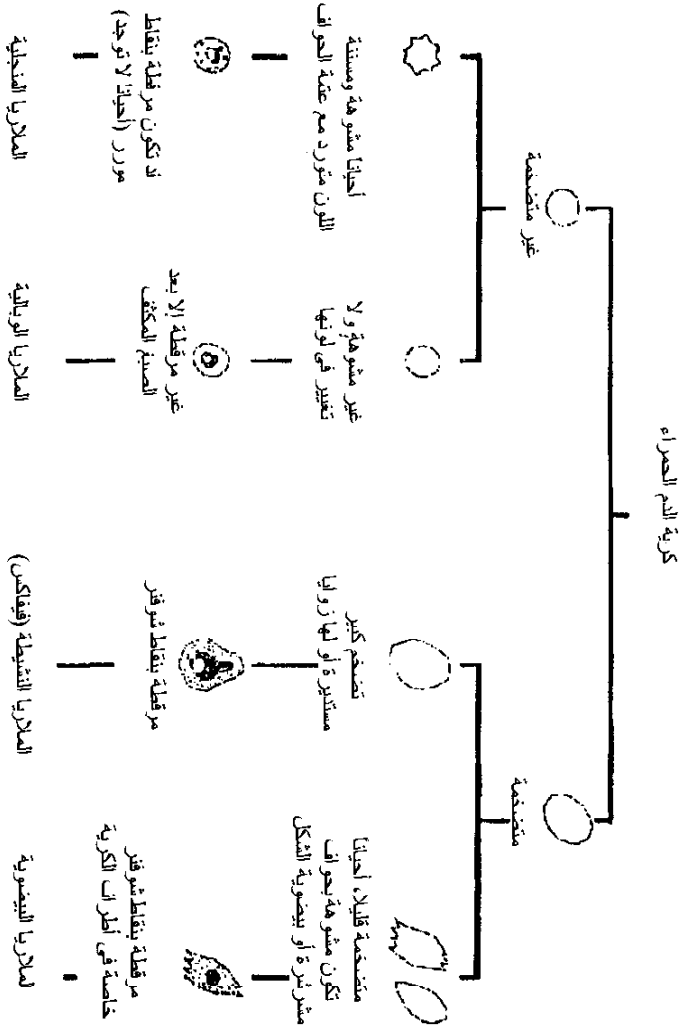
- زيادة حجم الكرية
- ظهور نقاط/حببيات شوفنر (Shuffner's granules /Schuffer's dots)
- ظهور نقاط / فوح مورر (Maurer's dots /Maurer's clefts)

المميزات التشخيصية في الشكل 3 ستساعدك على التعرف على نوع الملاريا. ويمكن الإستعانة باللوحات (الشكل 4-7) في هذا الدليل. الجانب الأيسر من كل شكل يوضح الاطوار المختلفة لكل نوع من أنواع الملاريا كما تبدو في فيلم الدم الرقيق والجانب الأيمن يوضح كيف تظهر نفس الأطوار في الفيلم السميك. سيكون لك وقت كاف لكي تتعرف على أنواع الطفيليات في الأفلام الرقيقة، فعندما يتأكد المشرف عليك

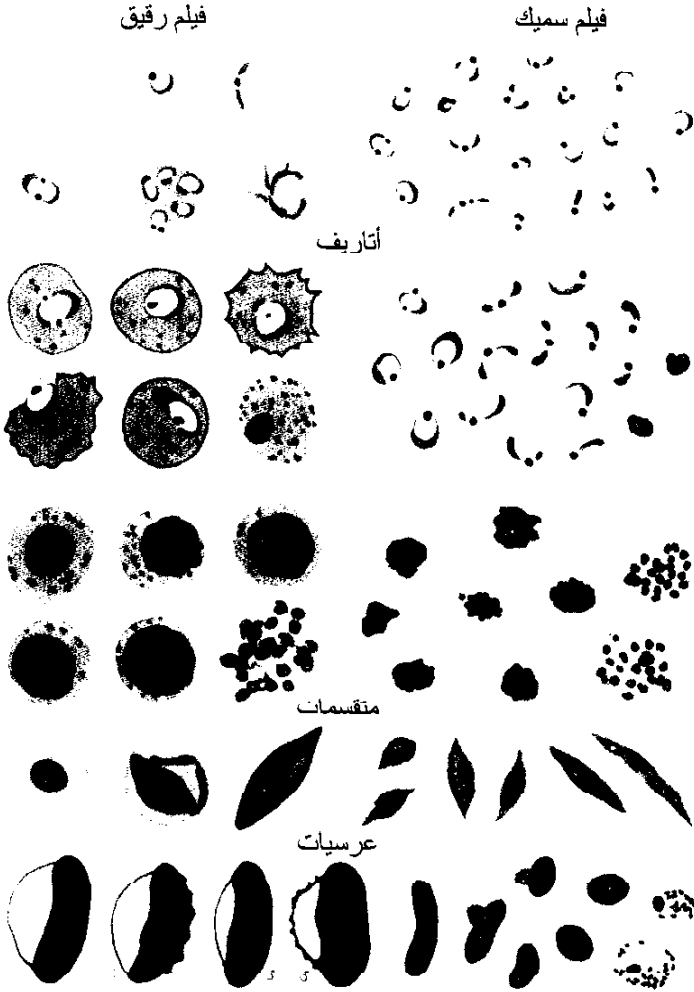
من قدرتك على معرفة مراحل وأنواع طفيليات الملاريا، حينئذ يمكنك الانتقال إلى دراسة الطفيليات في أفلام الدم السميك.

الأشكال المختلفة لأنواع الملاريا في فيلم الدم السميك :

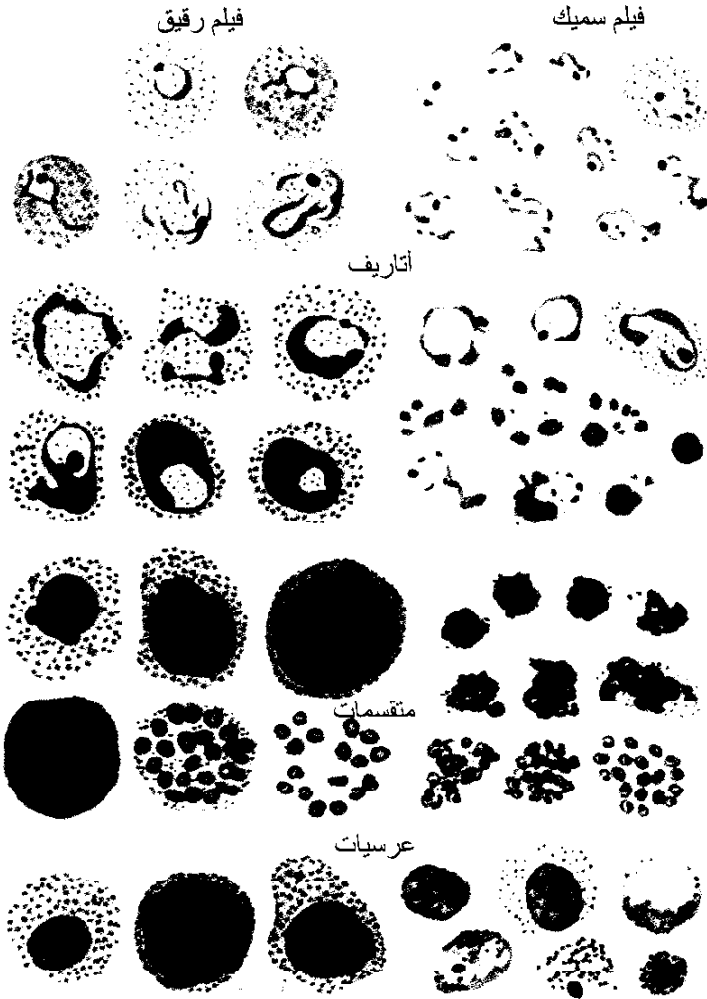
كما تختلف أشكال كريات الدم في الفيلم السميك عن أشكالها في الفيلم الرقيق كذلك نجد أن هناك اختلافات في مظهر الطفيليات في النوعين من الأفلام. أول هذه الاختلافات يظهر للوهلة الأولى التي تشاهد فيها الفيلم السميك بالشيئية الغاطسة في الزيت (قوة $\times 100$) مع العينية (قوة $\times 7$) : لا توجد كريات دم حمراء في الفيلم السميك. لكن بالرغم من ذلك تظهر طفيليات الملاريا لكنها تبدو أصغر حجماً مما هي عليه في الفيلم الرقيق. لابد من الفحص بعناية للتمكن من رؤية الطفيليات. قد تحتاج لإعادة ضبط الإحكام الدقيق لبؤرة المجهر كلما غيرت حقل المشاهدة في الشريحة وهذا يمكنك من فحص أعماق مختلفة من الفيلم السميك. حلقات سيتوبلازم الملاريا قد تبدو وكأنها غير مكتملة أو مقطوعة لكن هذا هو الشكل الشائع للطفيلي كما يظهر في الفيلم السميك.



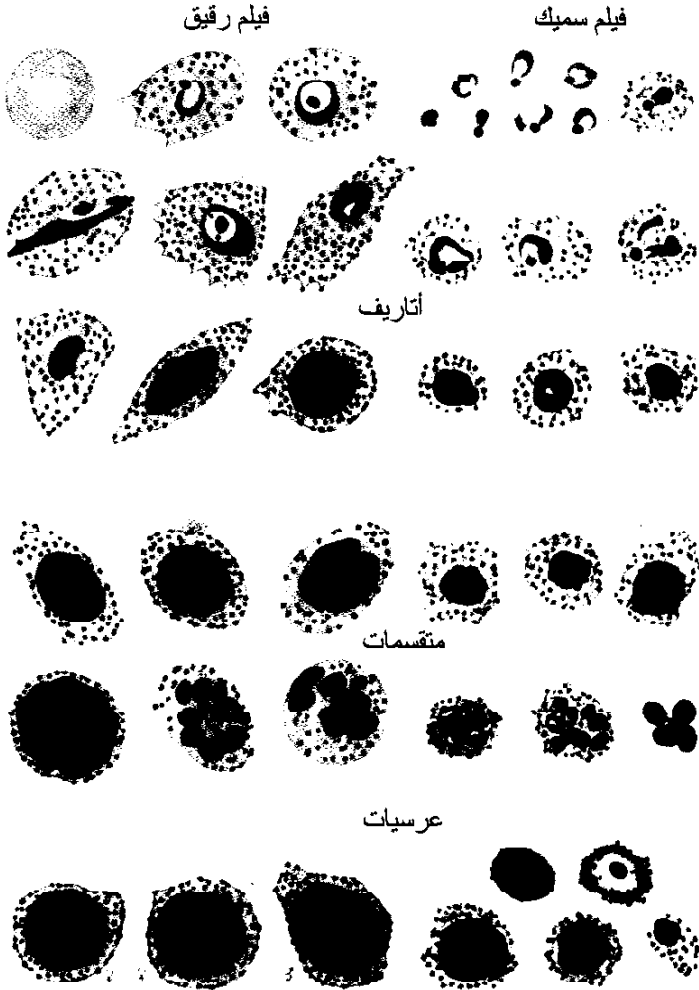
التشكل 3 التفريق بين أنواع طفيليات الملاريا حسب التغيرات في شكل كريات الدم الحمراء المصابة ، في الأفلام الرقيقة المصبوغة بصبغة جيماسا



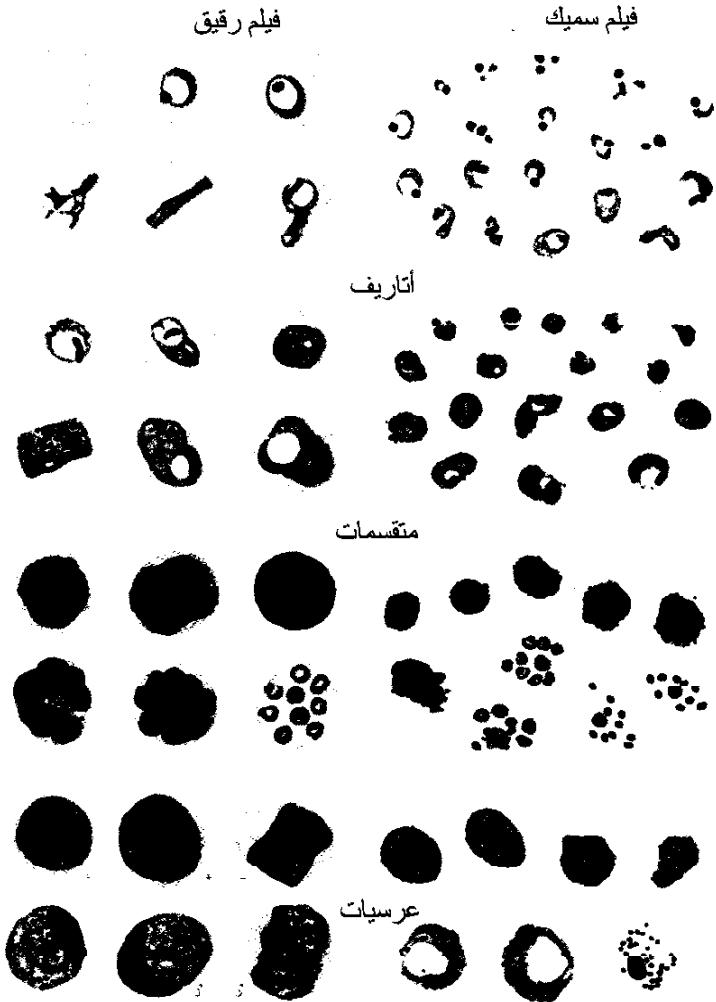
لوحة (4) مظهر أطوار المتصورة المنجلية في الأفلام
السميكة والرقيقة مصبوغة بصبغة جيمسا.



لوحة (5) مظهر أطوار المنصورة النشيطة في الأفلام السمكية والرفيعة مصبوغة بصبغة جيمسا.

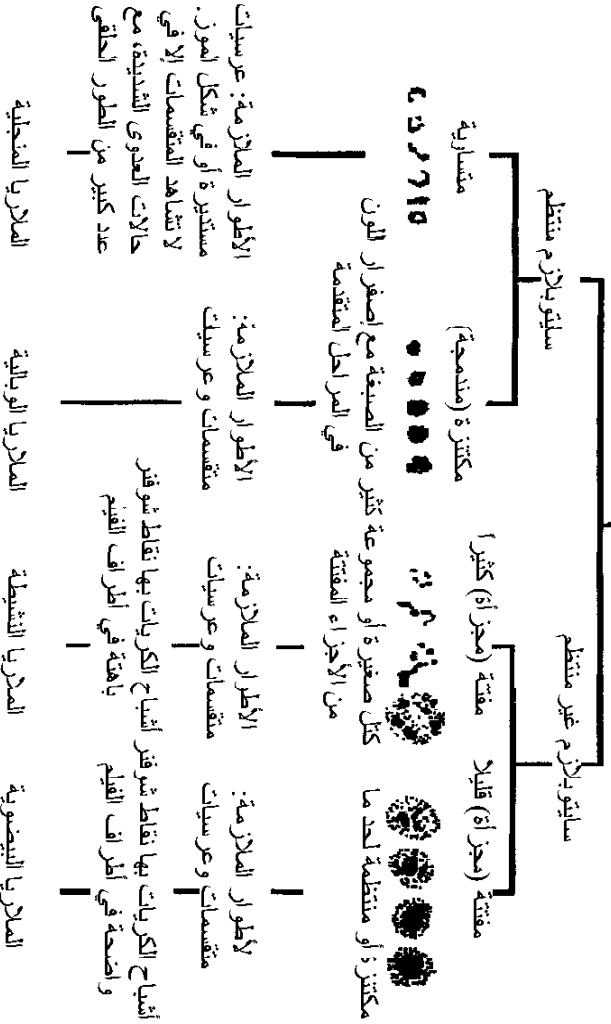


لوحة (6) مظهر أطوار المتصورة البيضوية في الأفلام السميكة والرقيقة مصبوغة بصبغة جيمسا.

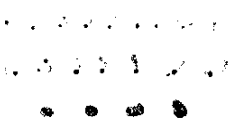
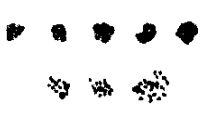



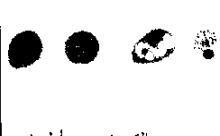


لوحة (7) مظهر أطوار المتصورة الوبالية في الأفلام السميكة والرقيقة مصبوغة بصبغة جيمسا.

(الأنواع (طور التروفوزويت)



شكل (4) التفريق بين أنواع طفيليات الملاريا حسب نمط السيتوبلازم في الفيلم السميك (صبغة جيمسا)

النوع	ما يشاهد في الفيلم	طور الطفيلي في الدم		
		الأتروفة (Trophozoite)	المتقسمة (SD)chizont	العريسة (Gametocyte)
م. المنجلية	الأتراف (التروفوزو) (تبا) و العرسيات (جاميتوسية) (ات)	 <p>الحجم: صغيرة لموسطة العدد: كثيرة الكروماتين: يكثر وجود نقطتين كروماتين السيتوبلازم: منظم وديق. الأطوار الناضجة: أحيانا تشاهد في الماريا الوخيمة مكتنزة مع وجود خضابا الماريا في شكل حبيبات غليظة أو كتلة.</p>	 <p>عادة توجد مع عدد كبير من الحلقات الصغيرة. الحجم: صغيرة مكتنزة العدد: قليلة ونادرة ما عدا في الماريا الوخيمة. الأطوار الناضجة: الأقسام عددها 12-30 أو أكثر في مجموعة متلاصقة. خضاب الماريا في شكل كتلة واحدة داكنة اللون.</p>	 <p>من غير المألوف وجود الأطوار غير الناضجة ذات أطراف مستديرة. الأطوار الناضجة تشبه ثمرة الموز أو مستديرة. الكروماتين كتلة وحيدة ومحددة. خضاب الماريا: حبيبات غليظة. أحيانا يوجد جسم منبثق لونه احمر وردي. كثيرا ما توجد عرسيات متأكلة لا تحوي غير الكروماتين وخضاب الماريا.</p>
م. النشيطة	حل الأطوار يمكن مشاهدتها بوضوح ترقط شوفر في بغايا الكريات خاصة في أطراف الفيلم	 <p>الحجم: صغيرة إلى كبيرة العدد: قليل إلى متوسط. الشكل: تكثر الحلقات المتعلمة والأشكال غير المنتظمة الكروماتين: نقطة واحدة وأحيانا نقطتين السيتوبلازم: غير منظم</p>	 <p>الحجم: كبيرة العدد: قليلة إلى متوسطة العدد: الأطوار الناضجة: الأقسام عددها 12-24 (عادة 16) مجموعة متلاصقة ومنتظمة. خضاب الماريا في شكل</p>	 <p>يصعب التمييز بين أطوار العرسيات غير الناضجة وبين الأتراف الناضجة. الأطوار الناضجة: مستديرة وكبيرة الكروماتين كتلة وحيدة ومحددة. خضاب الماريا دقيقة ومشتتة. قد توجد عرسيات متأكلة بها</p>

<p>كروماتين وخضاب الملايا لكن السيوبلازم بها يكون قليلا أو قد لا يوجد.</p>	<p>كتلة سانية.</p>	<p>ومفتت. الأطوار الناضجة: مكتنزة وكثيفة، مع وجود خضاب الملايا في شكل حبيبات دقيقة منتشرة.</p>	
<p>يصعب التمييز بين أطوار العرسيات غير الناضجة وبين الأتارييف الناضجة. الأطوار الناضجة: مستديرة وقد تكون أصغر من م. فايفاكس. الكروماتين كتلة وحيدة ومحددة. خضاب الملايا حبيبات غليظة ومشتتة. قد توجد عرسيات متأكلة تحوي غير الكروماتين وخضاب الملايا.</p>	<p>الحجم: تشبه م. البوانية العدد: قليلة. الأطوار الناضجة: الأقسام عددها 4-12 (عادة 8) في مجموعته سانية خضاب الملايا: في شكل كتلة مركزة.</p>	<p>الحجم: قد تكون أصغر من م. النشيطة (يفاكس). العدد: عادة قليل. الشكل: من الحلقات إلى أشكال مكتنزة مستديرة. الكروماتين: نقطة واحدة واضحة. السيوبلازم: منظم ومكتنز. خضاب الملايا في شكل حبيبات غليظة منتشرة.</p>	<p>م. البيضوية كل الأطوار يمكن مشاهدتها بوضوح نر فط شو فتر في بقايا الكريات خاصة في أطراف الفيلم</p>
<p>يصعب التمييز بين أطوار العرسيات غير الناضجة وبعض العرسيات الناضجة وبين الأتارييف الناضجة. الأطوار الناضجة: مستديرة وكثيفة. الكروماتين كتلة وحيدة ومحددة. خضاب الملايا غليظة ومشتتة قد توجد في الأطراف. قد توجد عرسيات متأكلة لا تحوي غير الكروماتين وخضاب الملايا.</p>	<p>الحجم: صغيرة مكتنزة العدد: قليلة. الأطوار الناضجة: الأقسام عددها 6-12 (عادة 8) في مجموعة سانية بعضها يبدو بدون سيوبلازم. خضاب الملايا: متكتل.</p>	<p>الحجم: صغيرة. العدد: عادة قليل. الشكل: من الحلقات إلى أشكال مكتنزة مستديرة. الكروماتين: نقطة واحدة وكبيرة. السيوبلازم: منظم وكثيف. خضاب الملايا بكمية كبيرة ومنتشرة وتميل للون الأصفر في الأطوار المتقدمة.</p>	<p>م. البوانية كل الأطوار يمكن مشاهدتها</p>

وبالمثل فإن عدم وجود خلايا الدم الحمراء ربما يؤدي إلى صعوبة في رؤية نقاط شويفر خاصة في الأجزاء السمكية من الفيلم وبذلك فإنه من غير الممكن أن ترى "التراكت" فيها.
ولكن خيالات الدم قد ترى عادة محاطة للطفيليات في الأجزاء الرقيقة من الفيلم خاصة على الحافة وذلك يساعدك في التشخيص.

ملحوظة: نقاط ماورر للمتصورة المنجلية لا يمكن أن ترى في الأفلام السمكية.

بالاستعانة بشكل 4 والجانب الأيمن من لوحات 4-7 وأيضاً لوحة 8 يمكنك التعرف على فصائل الملاريا في الأفلام السمكية.

الباب التاسع

الأشياء الخادعة في فيلم الملاريا

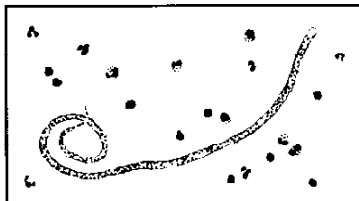
الأهداف التعليمية

بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :

- تذكر أن هناك أشياء خادعة في فيلم الدم يمكن أن تشخص خطأ بأنها طفيليات ملاريا
- التعرف على الأشياء الخادعة الشائعة وأن تستطيع التمييز بينها وبين طفيليات الملاريا.
- تذكر الطرق المختلفة التي يمكن أن يتلوّث بها فيلم الدم بهذه الأشياء الخادعة.
- شرح كيفية منع تلوث فيلم الدم بهذه الأشياء الخادعة.

في المرحلة الحالية من تدريبك لا بد أنك قد شاهدت في فيلم الدم عدداً من الأشياء التي تشبه طفيليات الملاريا و نساءلت عما هي هذه الأشياء. فيلم الدم قد تكون به العديد من المعالم التي تسبب المشاكل في التشخيص. هذه المعالم تسمى خوادع. بعض هذه المعالم أكثر شيوعاً من غيرها كما أن بعضها يسهل التحكم فيه أكثر من غيرها. قد تشاهد الفطريات كشوائب في فيلم الدم. أحسن طريقة لتفادي نمو الفطريات على الشرائح هي الإسراع قدر الاستطاعة بصيغ أفلام الدم فور أخذها وتجفيفها ومن المغنزل أن يتم ذلك في غضون 48 ساعة كحد أقصى. لكن للأسف، قد لا يكون ذلك ممكناً في بعض الأحيان. الأشياء الخادعة الأخرى قد يتم التقاطها من البيئة مثل ذرات الغبار قد تترسب في الفيلم أثناء تجفيفه أو صبغه ويقع الأوساخ يمكن أن تنتقل من أصابع المريض عند أخذ العينة أو قد يكون مصدرها التريحة نفسها.

اللوحة (3) تبيّن أمثلة من الخوادم التي يمكن مشاهدتها في الفيلم السميك أو الرقيق.



مايكروفيلاريا الفخرية البنكرفتية

أحيانا قد تشاهد مايكروفيلاريا (مثل مايكروفيلاريا الفخرية البنكرفتية) في الفيلم السميك أو الفيلم الرقيق. هذه لا تعتبر أشياء خادعة ويجب تدوينها في نتيجة الفحص وتبلغ المشرفين بعثورك عليها

الباب العاشر

الفحص الروتيني لأفلام الدم للبحث عن طفيليات الملاريا

الأهداف التعليمية

- بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :
 - تذكر أن فحص أفلام الدم السميكة و الرقيقة يجب أن يتم بطريقة منهجية وثابتة.
 - تذكر أن استخدام الفيلم الرقيق لفحص الملاريا يكون في حالات استثنائية و أن تعدد هذه الحالات
 - الفحص المنهجي لأفلام سميكة و رقيقة متبعا في ذلك الطرق المعيارية للفحص.
 - شرح لماذا يجب تدوين عدد طفيليات الملاريا.
 - عدّ الطفيليات بدقة، متبعاً الطريقتين اللتين تم وصفهما في هذا الباب.

فحص الفيلم الرقيق :

- بما أن فحص الفيلم الرقيق يستغرق عشر أضعاف الوقت الذي نحتاجه لفحص الفيلم السميك لذا لا يوصى بالفحص الروتيني للفيلم الرقيق حتى أن فني المختبر المتمرس لايقوم بفحص الأفلام الرقيقة إلا نادراً اثناء عمله اليومي ومع ذلك فإن فحص الفيلم الرقيق يوصى به في الحالات الاتية:
- عندما يتعذر فحص الفيلم السميك لصغره أو لأنه قد تثبت قبل الصبغ أو أصبح غير صالح لأسباب أخرى.

• للتأكد من نوع طفيلي الملاريا.

وعند وجود ضرورة لفحص الفيلم الرقيق لا بد أن يتم بطريقة منهجية وثابتة كالآتي:

الخطوة 1: ضع الشريحة في المسرح الميكانيكي

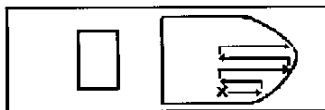
الخطوة 2: صوب العدسة الزيتية $\times 100$ فوق طرف حافة الفيلم (مكان علامة \times) في الشكل أدناه.

الخطوة 3: ضع قطرة زيت غطس في حافة وسط الشريحة.

الخطوة 4: اخفض العدسة الزيتية إلى أن تلمس زيت الغطس .

الخطوة 5: افحص الفيلم متبعا نمط الحركة الموضح في الرسم وذلك بالتحرك أفقياً على طول الفيلم إلى نهايته ثم التحرك رأسياً مسافة حقل واحد ومن ثم التحرك أفقياً على طول الفيلم في الاتجاه المعاكس للتحرك الأفقي السابق واستمر على هذا المنوال.

الخطوة 6: اكمل فحص حوالي 100 حقل قبل تسجيل النتيجة بأن الفيلم سائب أو موجب من حيث وجود طفيليات الملاريا. لو كان هناك شك في التشخيص فيمكن زيادة الفحص لما قد يصل إلى 400 حقل.



فحص الفيلم الرقيق

فحص الفيلم السميك:

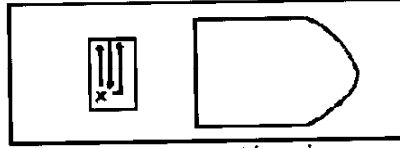
عادة يتم فحص الملاريا في الأفلام السمكية. من الممكن التعرف على نوع الملاريا في

الفيلم السميك إذا كان الفيلم قد تم تحضيره جيداً ولم يتنبتت قبل الصبغ. لكن أحياناً قد تجد صعوبة في التمييز بين أثاريف الملاريا النشيطة الناضجة وعرسياتها، أثاريف الملاريا الوبالية وعرسيات الملاريا المنجلية المتكورة، أيضاً قد لا يكون من الممكن التمييز بين أثاريف وعرسيات الملاريا الوبالية. في الفيلم السميك من الناحية العملية تقتصر أهمية إثبات وجود عرسيات الملاريا في الدم على عدوى المتسورة المنجلية وهذا التشخيص يعتبر سهلاً نسبياً في الفيلم السميك.

الفحص الروتيني للفيلم السميك يحدد بمئة حقل، أي أنه لا يمكن الحكم بأن الفيلم سالب للملاريا إلا بعد أن يتم فحص 100 حقل بدون مشاهدة أي طفيليات ملاريا. لو وجدت طفيليات فيجب فحص 100 حقل إضافية لتحديد نوع الطفيلي. هذه الطريقة تقلل من إغفال العدوى المختلطة (بأكثر من نوع واحد).

طريقة فحص الفيلم السميك:

- **الخطوة 1:** افحص الفيلم مستعملاً الشبينة $40\times$ وذلك لاختيار المكان المناسب من الفيلم وهو مكان صلب جيداً وتقل فيه الشوائب وبه عدد جيد من كريات الدم البيضاء.
- **الخطوة 2:** ضع زيت الغطس في الفيلم السميك.
- **الخطوة 3:** لف العدسة الزينية $100\times$ وصوبها فوق المكان المختار من الفيلم.
- **الخطوة 4:** أخفض الشبينة (أو أرفع المسرح) حتى تلامس الشبينة نقطة الزيت.
- **الخطوة 5:** تأكد من صلاحية المكان المختار للفحص واستمر في الفحص حتى تكمل 100 حقلًا تحت عدسة الغطس بنفس النمط المبين في الشكل. تذكر أن تستعمل زر التعديل الدقيق في المجهر.
- **الخطوة 6:** يمكن استعمال جهاز عد يدوي للمساعدة في عدّ الحقول أثناء فحصها. ستستخدم هذه الطريقة فيما بعد لمساعدتك في تحديد كثافة الطفيليات كما سيتضح في تمرين لاحق.



فحص فيلم الدم السميك

بعد الانتهاء من الفحص ينبغي أن تدون نتيجة الفحص في نموذج التقرير المناسب. "ومن المحتمل أن تتضمن النتيجة عدّ الطفيليات خاصة في حالة الملاريا المنجلية"

عدّ طفيليات الملاريا في الدم:

من الضروري أن تتمكن من عدّ الطفيليات في فحص الملاريا للأسباب الآتية:

- قد يود الطبيب المعالج أن يقدر مدى شدة المرض.
 - قد يود الطبيب المعالج للمريض أن يتتبع مدى استجابة الطفيلي للعلاج. ويتم ذلك بمقارنة عدد الطفيليات في الدم قبل العلاج وفي فترات معينة بعد العلاج.
 - عدّ الطفيليات مهم في علاج ومتابعة حالات الإصابة بالمتصورة المنجلية إذ أنها قد تزداد وخامة وتكون مميتة.
 - عدّ الطفيليات قد يساعد السلطات الصحية بتوفير أحد المؤشرات لشدة حالات الملاريا في المنطقة.
 - قد يُطلب القيام بعدّ الطفيليات لأغراض خاصة، مثال لذلك تقدير مدى استجابة الطفيلي لأدوية الملاريا.
- لا نبدأ عدّ الطفيليات إلا بعد أن تكون قد أكملت فحص المنة حقل وتعرفت على أنواع وأطوار الطفيلي في الفيلم.

هناك طريقتان لعدّ الطفيليات :

الطريقة الأولى عدّ الطفيليات في مليونر الدم:

هذه طريقة عملية وذات درجة مقبولة من المضبوطية (الدقة). عدد الطفيليات في الميكروولتر من فيلم الدم السميك تحسب مقابل عدد معياري ثابت من كريات الدم البيضاء(8000) (و ذلك بافتراض أن عدد الكريات البيضاء في كل شخص هو 8000 كرية / ميكروولتر). بالرغم من وجود بعض التفاوت في عدد كريات الدم البيضاء في الأشخاص الأصحاء، ووجود تفاوت أكبر بين المرضى إلا أن استخدام هذه الطريقة يمكن من عمل مقارنات معقولة. ستحتاج لجهازي عد يدوي ، أحدهما لعد الطفيليات والآخر لعد كريات الدم البيضاء.

الخطوة 1:

- إذا وجدت 10 طفيليات أو أكثر مقابل عد 200 كرية دم بيضاء فيمكن أن تسجل هذا العدد في نموذج التقرير على أنه عدد الطفيليات لكل 200 كرية دم بيضاء.
- إذا وجدت 9 طفيليات أو أقل من ذلك مقابل عد 200 كرية دم بيضاء فاستمر في عد الطفيليات وكريات الدم البيضاء إلى أن تصل إلى 500 كرية وبعد ذلك سجل العدد في نموذج التقرير على أنه عدد الطفيليات لكل 500 كرية دم بيضاء.

الخطوة 2: في كلتا الحالتين يمكن تحويل عدد الطفيليات مقابل كريات الدم البيضاء إلى عدد الطفيليات في الميكروولتر من الدم بالمعادلة الآتية:

$$\text{عدد الطفيليات في الميكروولتر} = \frac{\text{عدد الطفيليات} \times 8000}{\text{عدد كريات الدم البيضاء}}$$

وهذا يعني أنه لو تم عدّ 200 كرية دم بيضاء يتم ضرب عدد الطفيليات في 40 ، وإذا كان قد تم عدّ 500 كرية بيضاء يضرب عدد الطفيليات في 16.

ملحوظة: من العادة عدّ كل أنواع الملاريا الموجودة في الفيليم وأن يتم عدّ وتسجيل عرسيات م. المنجلية بصورة منفصلة. هذه النقطة هامة جداً خاصة عند رصد الاستجابة لأدوية الملاريا المبيدة للمتقسمات في الدم والتي لا يتوقع أن يكون لها أي تأثير على العرسيات (gametocytes).

الطريقة الثانية : الرمز بعلامات الجمع:

الطريقة الأكثر بساطة لعد الطفيليات في الفيليم السميك هي استعمال نظام علامات الجمع (+) للاستدلال على عدد الطفيليات كما في الجدول أدناه. هذه الطريقة أقلّ دقة من الطريقة الأولى لكن يلجأ لها عندما يتعذر عد الطفيليات كما في الطريقة الأولى.

+	10-1 طفيليات في 100 حقل فيلم سميك
++	100-11 طفيليات في 100 حقل فيلم سميك
+++	10-1 طفيليات في الحقل الواحد للفيليم السميك
++++	أكثر من 10 طفيليات في الحقل الواحد للفيليم السميك

الباب الحادي عشر دورة حياة طفيلي الملاريا

الأهداف التعليمية

- بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :
- وصف دورة حياة طفيلي الملاريا في الإنسان
 - وصف تطور طفيلي الملاريا في بعوض الأنوفيليس
 - تذكر الأطوار المختلفة من طفيلي الملاريا التي تعيش في دم الإنسان

في الإنسان:

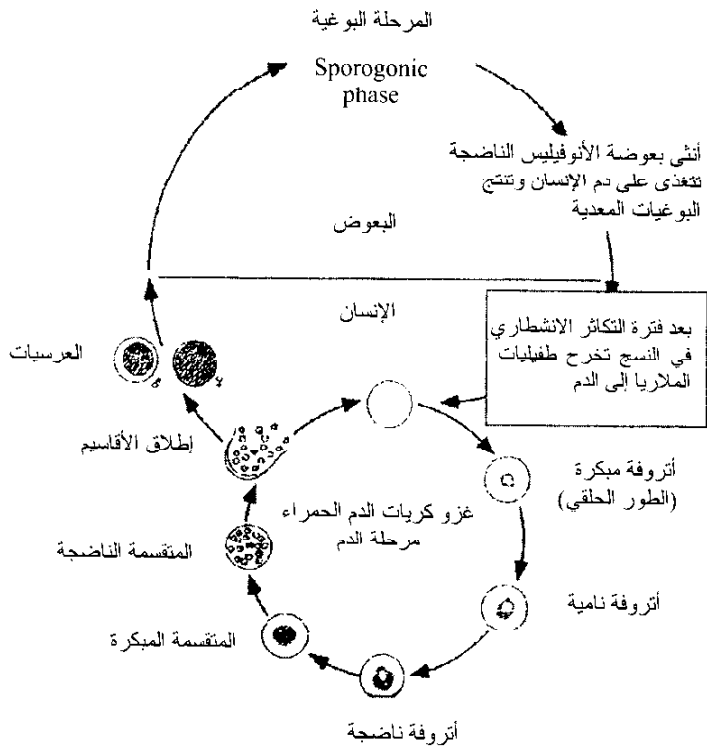
مرحلة الكبد:

تدخل طفيليات الملاريا لجسم الإنسان عندما تلدغه أنثى بعوض الأنوفيليس الحاملة للعدوى. تتحرك الطفيليات بسرعة للكبد حيث تغزو خلية كبدية . ينمو الطفيلي ويتكاثر لمدة 7-21 يوماً. في النهاية تنفجر الخلية وتطلق الطفيليات في الدم حيث تلتصق الطفيليات بكريات الدم الحمراء وتغزوها. ينطبق هذا الوصف على المتصورة المنجلية والمتصورة الوبالية أما في حالات المتصورة النشيطة والمتصورة البيضاوية فبعض الطفيليات التي تغزو خلايا الكبد لا تتكاثر مباشرة بل تظل في طور كمون إلى أن تبدأ في التكاثر في وقت لاحق مسببة الانتكاس في حالات العدوى بالمتصورة النشيطة والمتصورة البيضاوية.

مرحلة الدم :

من دراستك للأبواب السابقة تكون قد تعرفت على هذه الأطوار وهي موضحة في شكل (5).

في البعوض: مرحلة التكاثر الجنسي من دورة حياة طفيلي الملاريا تتم في معدة البعوض. حالما ابتلعت أنثى الأنوفيليس الدم من شخص مصاب بالعدوى تقوم كل عرسية (gametocyte) مذكورة بتكوين 4-8 أسواط. هذه الأسواط تتفصل ومعها مادة نووية وتقوم باختراق وتلقيح العرسية (gametocyte) المونثة. البيضة المخصبة تتطور لطور متحرك يتسلل بين خلايا المعدة ليستقر تحت غشاء البطن حيث يتكيس. ينقسم الطفيلي داخل هذه الكيسات مكوناً الحيوانات البوغية. عند انفجار الكيسات تتطلق الحيوانات البوغية وتخترق الغدد اللعابية. الدورة في البعوض تتفاوت في مدتها حسب نوع الطفيلي ودرجة الحرارة لكنها عادة تكون بين 7 إلى 14 يوماً تصير بعدها بعوضة الأنوفيليس ناقلة للملاريا.



الشكل 5 - دورة حياة الملاريا التي تصيب الإنسان

الباب الثاني عشر الإشراف على الفحص المجهري للملاريا

الأهداف التعليمية

- بعد إكمال دراسة هذا الباب ستكون قادراً على :
- تفهم لماذا يعتبر الإشراف على عملك أمراً ضرورياً
 - إدراك أن للإشراف طرقاً متعددة
 - تفهم ماذا عليك أن تفعله من أجل مساعدة المشرف على عملك على القيام بوظيفته.

الحاجة للإشراف:

- هناك عدة أسباب تجعل الإشراف ضرورياً:
- أنها الوسيلة للتأكد من أنك تقوم بأداء مهمتك بالطريقة التي تم تدريبك عليها.
 - تمكنك من عمل إصلاحات بسيطة ولكنها هامة في عملك.
 - تحدد ما إذا كنت تحتاج لإعادة تدريب أو أنك مؤهل لتدريب أكثر تقدماً.
 - الإشراف يوفر لك فرصة لتناقش مع المشرف عليك أي صعوبات تواجهها في عملك.

أنواع الإشراف:

هناك نوعان من الإشراف :

- 1- إشراف مباشر
- 2- إشراف غير مباشر.

الإشراف المباشر:

في الإشراف المباشر يستطيع المشرف أن يكون على مقربة منك لفترات من الوقت. هذه الفترة قد تكون يوم واحد إذا كان المشرف في زيارة لموقع عملك أو قد تكون لفترة أطول. يتمكن المشرف من رؤية ما تقوم بعمله وكيف تقوم به. وهذا قد يوفر لك الفرصة لمناقشة الجوانب المهمة لمملك مع المشرف وفي هذا فائدة لكليهما.

الإشراف غير المباشر:

في الإشراف غير المباشر يقوم المشرف بتقويم عملك فقط من خلال التقارير التي تقوم بتقديمها دورياً. لكن المشرف يحتاج لأن يرى كيف تتعامل مع الشرائح ، ما مدى جودة صيغتك للشرائح وما مدى دقة فحصك للشرائح وقد يود التأكد من صلاحية المجهر والمعدات التي تستخدمها في عملك.

للتأكد من نوعية الصبغ والفحص قد يحتاج المشرف لإعادة الفحص أو مراجعة عدد من شرائحك. عادة ستقوم بإرسال كل الشرائح الموجبة للتأكد من نوع وكثافة الطفيليات وللتأكد من أنك لا تخلط بين الطفيليات والأشياء الخادعة في الفيلم. كذلك سيطلب منك إرسال 10% من الشرائح السالبة وهذه ستراجع للتأكد من أنك لم تغفل الشرائح الموجبة ذات الكثافة المنخفضة من الطفيليات.

اختيار 10% من الشرائح السالبة ليس بالشيء الصعب. أكثر الطرق استعمالاً هي أن يقوم المشرف بتحديد الاختيار حسب العدد الأخير من الرقم

المتسلسل للشريحة. كمثال لذلك قد يطلب المشرف كل الشرائح السالبة والتي ينتهي رقمها بالعدد "5" (إذا صادف أن كانت الشريحة ينتهي رقمها بالعدد "5" وكانت موجبة فينبغي أن تختار الشريحة التي تليها أي تنتهي بالرقم "6". الشرائح المختارة ترسل بعد ذلك للمشرف مع النماذج والتقارير القصير الذي أعدته).

ستكون مهمة المشرف هي فحص الشرائح بأسرع فرصة، إذا كان هناك اختلاف في تشخيص الطفيليات أو عذها فيجب أن تتم مناقشة هذا الموضوع في أسرع فرصة ويستحسن أن تتمكن من رؤية الشريحة المعنية حتى تتمكن من معرفة موضع الخطأ. الرجوع لأبواب هذا الكتيب ورسوماته ولوحاته الملونة سيعينك أثناء عملك اليومي. تذكر أن لديك وظيفة هامة جداً ينبغي أن تؤديها بأقصى ما تستطيع من الكفاءة والدقة. تذكر كذلك أن مهمة المشرف هي مساعدتك حتى ولو لم يكن بجانبك ، فلا تتوانى في الاتصال به وإبلاغه بالمشاكل التي تعترض أداء عملك.



للمراسلة يرجى الاتصال بالعنوان التالي:

دحر الملاريا

منظمة الصحة العالمية

المكتب الإقليمي لشرق المتوسط

شارع عبد الرزاق السنهوري، ص.ب. 7608

مدينة نصر - القاهرة 11371، مصر

هاتف: (202) 6702535؛ فاكس: (202) 6702492/4

بريد إلكتروني: rbm@emro.who.int

www.emro.who.int/rbm

ISBN 92-9021-314-0