

## تشخیص آزمایشگاهی سالک



روش نمونه برداری از ضایعات مشکوک به سالک و بررسی میکروسکوپی :

– لبه های ملتهب و متورم ضایعه مهم ترین قسمتی است که بیشترین تراکم آماستیگوت ها را دارند. نکته مهم آنکه هر چه نمونه بیشتری از بافت برداشت شود احتمال مشاهده انگل درنمونه بیشتر است. از آنجایی که ضایعات پوستی ممکن است دچار عفونت های ثانویه باکتریایی و یا قارچی شده باشند، لازم است محلی از ضایعه را که قصد برداشت نمونه از آن وجود دارد، کاملاً تمیز نموده و اگر لازم باشد چندین مرتبه با پنبه الکل (اتانل ۷۰ درصد) ضد عفونی گردد (شکل شماره ۴) .

روش صحیح نمونه برداری و رنگ آمیزی به شرح زیر است:

- ۱- رعایت اصول ایمنی در هنگام نمونه گیری و نیز استفاده از وسایل حفاظتی مانند دستکش و غیره
- ۲- حذف کبره های روی ضایعه و هر گونه چرک روی آن
- ۳- انتخاب محل مناسب برای نمونه برداری شامل لبه خارجی قسمت متورم و ملتهب ضایعه پوستی و اجتناب از نمونه برداری از محل های باز و زخمی ضایعه.

۴- استفاده از اتانول ۷۰ درصد برای استریل کردن و شستشوی ضایعه ( قبل از نمونه برداری باید صبر کرد که الکل خشک شود)

۵- توجه به عدم استفاده از موادی مانند مرکورکوروم (ترکیبات جیوه) در محل ضایعه ( زیرا ممکن است باعث تغییر شکل آنها شود). در صورت استفاده از ترکیبات ید دار برای ضد عفونی ضایعه، قبل از نمونه برداری محل ضایعه بایستی به کمک پنبه آغشته به الکل، از این ماده پاک شود.

۶- محلی از ضایعه که برای نمونه برداری در نظر گرفته می شود بایستی توسط دو انگشت شست و سبابه محکم گرفته شده و ثابت گردد.

۷- با استفاده از واکسینواستیل استریل (یا لانستی که اطراف آن بریده و باریک شده باشد) و یا یک اسکالپل استریل نوک باریک (کند شده)، شکافی به عمق یک میلی متر در منطقه گرفته شده با انگشتان ایجاد گردد.

۸- توسط وسایل فوق از عمق محل شکافته شده به طرف سطح و مرکز ضایعه چند خراش (برای برداشت مقدار مناسب بافت و خونابه) داده شود.

۹- وسیله نمونه گیری را بیرون آورده و از ترشحات حاصله بر روی لام گسترش تهیه شود و مشخصات بیمار با قلم الماس روی لام حک گردد. (در صورت نیاز به کشت، در کنار شعله ابتدا نمونه به محیط کشت منتقل شود)

#### – روش رنگ آمیزی گیمسا:

رنگ گیمسا بصورت محلول تجارتي غلیظ به فروش می رسد. این ماده قبل از استفاده باید مورد کنترل کیفیت قرار گیرد. بطور معمول اگر گلبول های سفید و قرمز خون با کیفیت مطلوب رنگ پذیری داشته باشند، رنگ گیمسا برای رنگ پذیری انگل نیز مناسب است.

## روش رنگ آمیزی :

- ۱- باید گسترش تهیه شده بدون استفاده از شعله و در هوای اتاق خشک شود.
- ۲- متانول، به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه قبل از رنگ آمیزی روی گسترش ریخته شود .
- ۳- گسترش در مجاورت هوا خشک شود.
- ۴- با توجه به نوع گیسا آنرا به نسبت ۱ به ۱۰ با آب با pH تنظیم شده ۲/۷ رقیق شود ( اگر رنگ رسوب کندباید با کاغذ صافی صاف شود)
- ۵- لام را روی پل رنگ آمیزی قرار داده و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی آن محلول گیسا ی رقیق شده ریخته می شود ویا لام را در ظرف محتوی رنگ با همین مدت زمان قرار می دهیم ( باید توجه داشت که در ارتباط با رقت محلول رنگ آمیزی و نوع آن، مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه برای رنگ آمیزی لازم است و هر آزمایشگاه بایستی در حین اجرای برنامه کنترل کیفیت مدت زمان مطلوب را نیز جهت رنگ مورد استفاده، از قبل بدست آورد)
- ۶- لام برای مدت کوتاهی در آب با pH تنظیم شده ۲/۷ فرو برده شده به سرعت خارج شود و در هوا خشک گردد.

## گزارش نتایج :

لام ( با استفاده ازعدسی چشمی ۱۰ و عدسی شیئی ۱۰۰ و روغن ایمرسیون و بدون استفاده از لامل) در زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار می گیرد، تشخیص مثبت، شامل دیدن انگل لیسمانیا بطور واضح می باشد (شکل شماره ۵). درهرلام تا زمان مشاهده جسم لیشمن باید حداقل ۳۰ ثان مناسب که دارای سلول های ماکروفاژ باشد، بررسی گردد تا شانس مشاهده انگل بیشترشود ودرصورت منفی بودن نمونه، لام دوم و یا سوم

مورد بررسی قرارگیرد، شایان ذکر است که در صورت مشاهده گلبول قرمز فراوان و ندیدن جسم لیشمن، این نمونه مناسب ارزیابی نبوده و نمونه جدید عاری از خون و حاوی ماکروفاژ بایستی تهیه شود.