



## Лабораторна діагностика малярії

### Приготування препаратів крові

#### Забір крові для мазка та товстої краплі

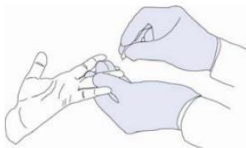
##### Забір капілярної крові:

1. Промаркуйте попередньо очищене скло: вкажіть ідентифікатор пацієнта (ПІБ, номер карти чи інший), дату та час забору крові.
2. Одягніть рукавички.
3. Очистіть скельця 70-90% розчином етилового спирту та дайте висохнути. Не торкайтеся до поверхні скельця, на яку буде наноситись кров.

4. Оберіть палець для уколу (зазвичай третій або четвертий) У немовлят пунктують п'яту.



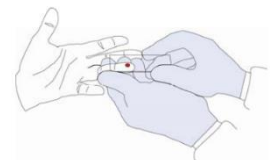
5. Очистіть зону проколу 70% розчином спирту, дайте висохнути.



6. Проколiть подушечку пальця чи п'яту у дітей.

7. Витріть першу краплю крові чистою серветкою.

8. Доторкніться до наступної краплі чистим склом, відступивши 1,5 см від краю скла. Повторіть з декількома скельцями (зробіть мінімум два мазки та дві товсті краплі). Якщо крові недостатньо – акуратно стисніть палець.



##### Забір венозної крові:

1. Промаркуйте пробірки для забору крові та попередньо очищені скельця: вкажіть ідентифікатор пацієнта (ПІБ, номер карти чи інший), дату та час забору крові.
2. Очистіть ділянку забору крові 70% розчином етилового спирту; дайте висохнути.

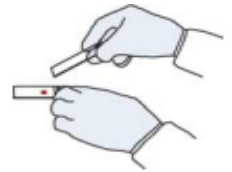
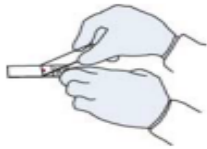
3. Проведіть забір венозної крові у вакуумну пробірку з антикоагулянтом (переважно EDTA); або наберіть кров у шприц та перенесіть у пробірку з антикоагулянтом; добре перемішайте.
4. Приготуйте щонайменше два мазки та дві товсті краплі, якнайшвидше після забору.

## Лабораторна діагностика малярії

### Приготування мазка та товстої краплі

1. Завжди використовуйте окремі скельця для мазка і товстої краплі, коли це можливо.

2. Мазок (а): Чисте скельце з шліфованими краями поставте на краплю крові під кутом 45° до скла, на якому буде мазок.



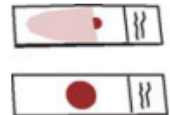
3. Мазок (б): Почекайте коли кров розподілиться вздовж краю шліфованого скельця.

4. Мазок (в): Тримаючи шліфоване скельце під тим самим кутом, швидко і плавно просувайте його вперед. Мазок повинен бути тонким, рівномірним, не доходити до краю скла на 1-1,5 см, закінчуватись бахромчатою частиною.



5. Товста крапля: кутиком чистого скельця розподіліть краплю у коло діаметром 1-2 см. Не робіть краплю занадто товстою, тому що вона в подальшому може відпасти від скла. Товщина краплі має бути такою, щоб через неї читався друкований текст.

6. Почекайте поки мазок і товста крапля повністю висохнуть перед фарбуванням. Зафіксуйте мазок 100% спиртом (метанол або етанол) і дайте повністю висохнути перед фарбуванням. Товсту краплю фіксувати не потрібно.



7. Якщо існує необхідність приготувати мазок і товсту краплю на одному склі, фіксувати необхідно лише мазок, товста крапля не має бути зафіксована.

Опис процедури підготований на основі матеріалів сайту CDC's Division of Parasitic Diseases and Malaria <https://www.cdc.gov/dpdx/index.html>



ЦЕНТР  
ГРОМАДСЬКОГО  
ЗДОРОВ'Я



## Лабораторна діагностика малярії

### Фарбування препаратів крові

#### Приготування розчину фарби Романовського-Гімза

Фарбуйте лише один набір зразків (мазок і товста крапля), інші залиште непофарбованими. Вони можуть знадобитися у випадку виникнення проблем у процесі фарбування та/або якщо пізніше ви направлятимете зразки до референс-лабораторії.

**Фарба Романовського-Гімза** – рекомендована для виявлення і ідентифікації паразитів крові.

#### 1. Концентрований (X100) буферний розчин:

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	67 г
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	27 г
Дистильована вода	1000 мл

Автоклавуйте готовий розчин.

#### 2. Робочий буферний розчин, рН 7,2:

Концентрований буферний розчин	10мл
Дистильована вода	990 мл

Стабільний при кімнатній температурі протягом 1 місяця. Перевірте рН перед використанням - показник має бути 7,2. У разі необхідності коригуйте розчин 1% розчинами фосфатів натрію та калію.

#### 3. Робочий розчин фарби Романовського-Гімза 3%:

Робочий буферний розчин	97 мл
Маточний розчин фарби Романовського-Гімза	3 мл

Свіжий робочий розчин фарби готуйте щодня перед застосуванням.

#### Фарбування

1. Приготуйте свіжий робочий розчин фарби, як описано в попередньому розділі. Адаптуйте кількість розчину до об'єму контейнера, в якому будете фарбувати препарати.
2. Помістіть препарати в штатив для фарбування, якщо будете занурювати препарати вертикально. Переконайтеся, що всі препарати «товста крапля» знаходяться на одному із кінців штативу.
3. Обережно наливайте фарбу в ємність для фарбування, поки всі скельця не будуть повністю занурені. Уникайте наливання фарби прямо на препарати.

4. Залиште препарати у фарбі на 30-40 хвилин. Виходячи з досвіду роботи з певною партією фарби, коригуйте час фарбування.
5. Обережно наливайте чисту воду у ємність для фарбування доки з поверхні розчину фарби не змиється райдужна плівка. Воду слід наливати з боку ємності, де знаходяться препарати з мазками щоб уникнути зайвого пошкодження товстих крапель.
6. Обережно злийте залишки фарби і промийте чистою водою декілька секунд. Потім злийте воду.
7. Висушіть препарати на стійці вертикально. Переконайтеся, що товста крапля не торкається стінок стійки.

*Примітка:* при необхідності отримати швидкий результат тесту, можна проводити фарбування препаратів у 10% розчині фарби Романовського-Гімза протягом 10 хвилин. Але цей метод фарбування призводить до великих витрат фарби та погіршення якості препаратів.

### Помилки при приготування препаратів крові

1. Занадто короткий/довгий мазок:
  - ❖ Неправильний кут нахилу шліфованого скельця
  - ❖ Занадто маленька / велика крапля крові відповідно
  - ❖ Неправильна швидкість просування шліфованого скла
2. Розриви, проміжки, бульбашки у мазку:
  - ❖ Брудне/жирне предметне скло, на якому приготований препарат
  - ❖ Просування шліфованого скла ривками
  - ❖ Нерівний край шліфованого скла
3. Мазок/товста крапля знаходяться біля самого краю скла – неправильно розташована крапля крові на склі.
4. Неправильне маркування:
  - ❖ Підпис по діагоналі мазка
  - ❖ Неповна інформація (відсутні ідентифікатор/ дата і час забору крові)
5. Блідий препарат – мало часу витриманий у фарбі / занадто довго промивали.
6. Плями фарби – нефільтрована фарба, брудні предметні скельця, погано промитий препарат.
7. Препарат сіро-зелений, еритроцити сіро-блакитного кольору – лужний рН робочого розчину фарби.
8. Препарати яскраво-рожевого кольору – кислий рН робочого розчину фарби.
9. Товста крапля відбилася на інше скло – неправильне зберігання препаратів.

Опис процедури підготований на основі матеріалів сайту 1) CDC's Division of Parasitic Diseases and Malaria <https://www.cdc.gov/dpdx/index.html>, 2) ВООЗ «Микроскопическая диагностика малярии», Копенгаген, 2000

[http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/144940/9241544309\\_Rus.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/144940/9241544309_Rus.pdf?sequence=1)