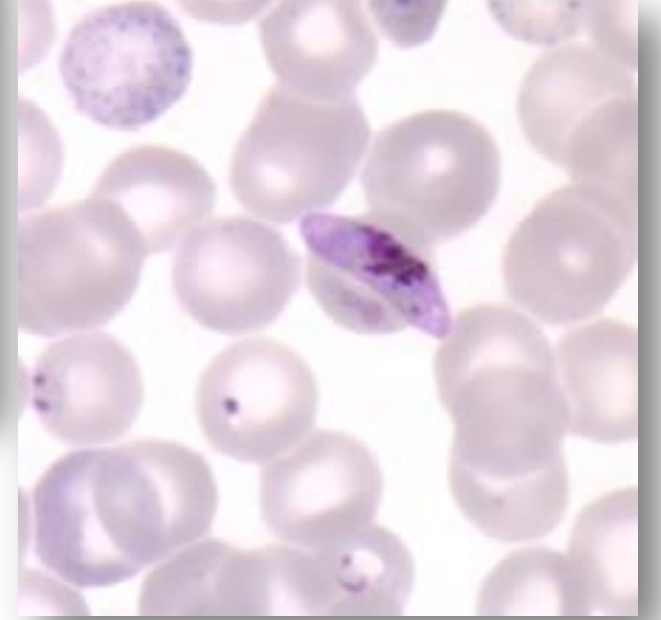
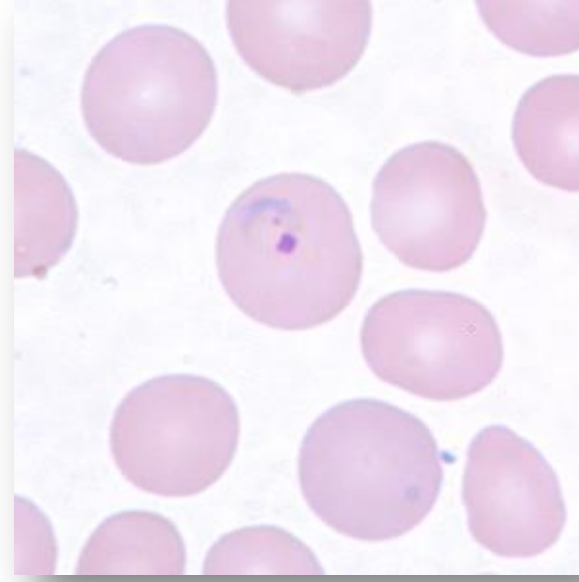




CELAL BAYAR
ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



Sıtmada Rutin ve İleri Tanı Yöntemleri

Prof. Dr. Nogay Girginkardeşler

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Parazitoloji AD

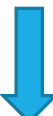
Sıtma

- Sıtma bildirimi zorunlu bir hastalıktır
- Tanı konması durumunda;
- Sağlık Bakanlığının,
- “Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi, Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi”

Sıtmada Tanı Yöntemleri



Sıtma Şüpheli Hastaya Yaklaşım

- Yakınmalarda sıtma düşünülmeli
- Erken tanı ve tedavi sıtmanın morbidite ve mortalitesini azaltır
- Bulaşma riskini azaltır
- Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ – WHO) mikroskopi veya hızlı tanı testlerini (HTT - RDTs) önermektedir
- Tanıdan önce tedavinin başlanması parazit sayısını  , tanıyı güçleştirir
- Mikroskopi «**altın standart**»

Mikroskopinin Avantajları

- Duyarlı bir yöntem
- 5-10 parazit/ μ l +
 - Saha koşullarında deneyimli uzman/teknisyen en az 100 parazit/ μ l varlığında tanı koyabilir...
- *Plasmodium* tür ve evre ayrımını sağlar
- Enfekte eritrosit ve parazit yüzdesi
- Ucuz, basit
- Kalıcı kayıt sağlar

Mikroskopinin Dezavantajları

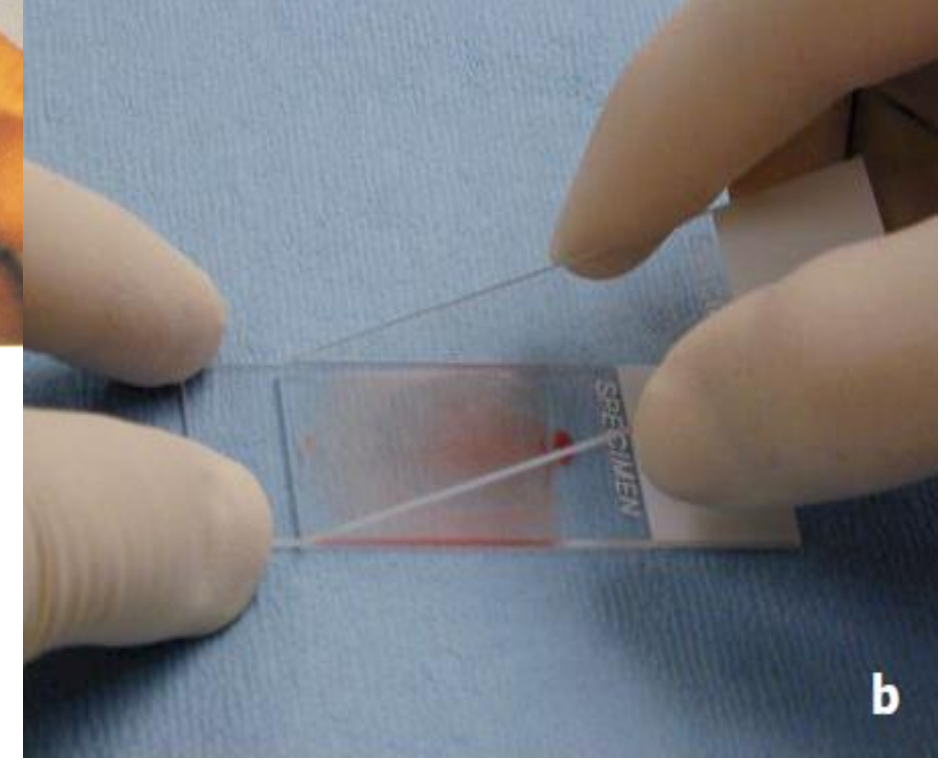
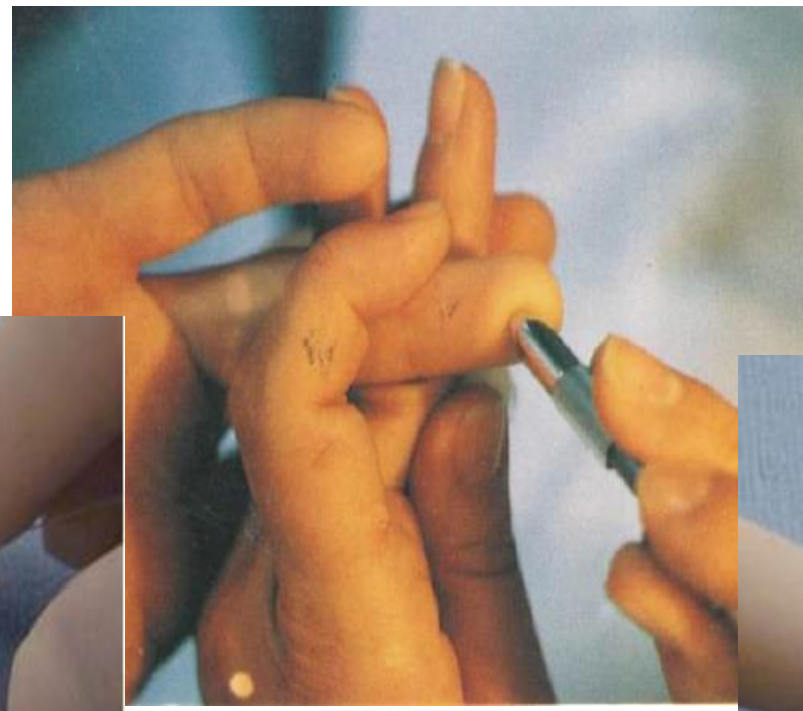
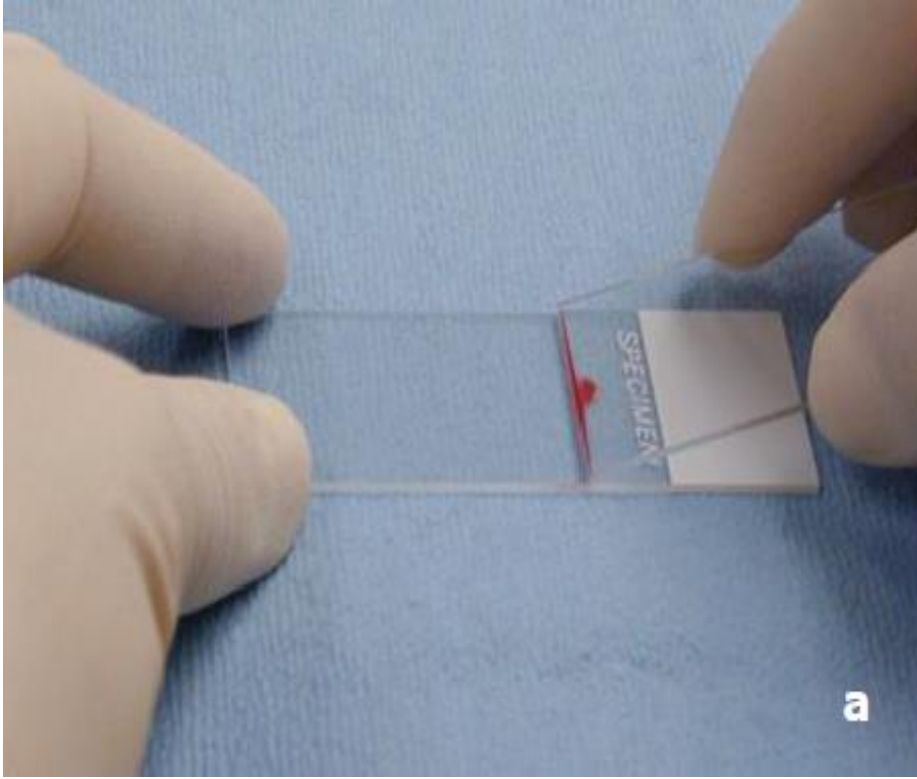
- Deneyim, emek ve zaman gerektirir, min 60 dk,
- Tedavi gecikebilir, öne alınabilir
- Subjektif, eğitim ve deneyimli uzman/teknisyen
- Mutlaka doğru uygulama, solüsyonlar ve mikroskop
- Sahada uygulamak zor
- Şüpheli sonuç?

Örnek Alınması

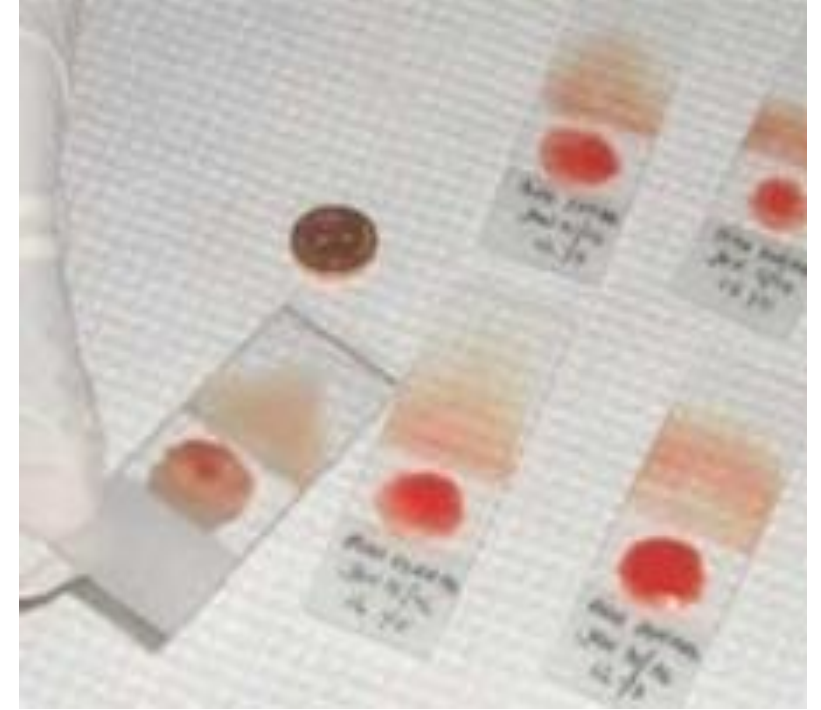
- Periferik kan, EDTA'lı venöz kan, kemik iliği (Kİ)
- Parmak ucu, venöz kan, bebeklerde ayak baş parmağı
- **İnce yayma, kalın damla**
- Kİ aspirasyonu
- Antikoagülanlar parazit morfoloji ve boyanmasını etkileyebilir
- En iyi zamanlama; tedaviden önce ve nöbetler arasında
- Çok sayıda preparat, 8 - 12 saat arayla 2 - 3 kez örnek

Periferik Yaymaların Karşılaştırılması

- Kalın damla parazitin saptanmasında faydalı
- Kalın damlada bir alanda 20 x ince yayma
- Kalın damla duyarlılığı > ince yayma
- İnce yayma tür ayrımında faydalı



İnce yayma preparatlar metanol (%100) 10-15 saniye sabitlenir (fikse edilir)



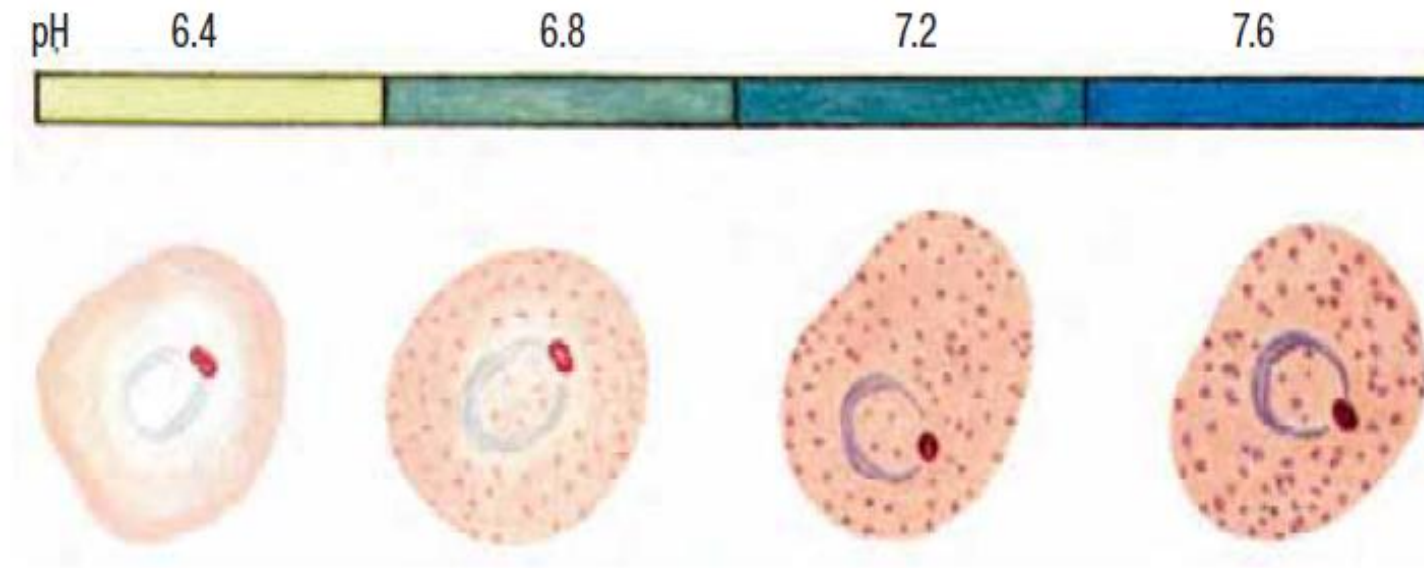
Kalın damla preparatlar asla fikse edilmez

Hemen boyanmayacaksa distile su ile dehemoglobinizasyon

Kan Yaymalarının Giemsa ile Boyanması

- Kurutulur, fiksasyon – ince yayma
- Saf su (pH 7,2 çok önemli) 3 – 5 ml/lam
- 1 ml saf su + 1 damla Giemsa boyası (%3, yavaş boyama)
- 30 – 40 dakika beklenir, yıkanır
- İnce yayma çeşme suyu (zayıf akan)
- Kalın damla saf suya daldırılarak
- Işık mikroskopunda x100 objektif ile immersiyon yağı
- 1 ml saf su + 3 damla Giemsa boyası (%10, hızlı boyama)
- 8 -10 dakika beklenir, yıkanır

pH'in Parazit Morfolojisi Üzerine Etkisi



Kan yaymaları hazırlanırken yapılan hatalar

Kalın damla preparatlarda

- Hastanın ellerinin kirli olması
- Yayma sırasında kanın pıhtılaşması (yayarken yavaş davranma)
- Yaymanın gereğinden fazla kalın olması
- Yaymanın yeterince kurumaması, ıslak kalması
- Kurutmada uzun süre beklenmesi
- Kurutma sırasında ve sonrasında kanın tozlanması
- Yaymanın sıcakta kalması alkolle veya buharıyla temas etmesi

İnce yayma preparatlarda

- Alınan kan damlası fazla büyük olursa, kan yayması lamın sonuna kadar gittiği halde yine de yeterli incelikte olmamaktadır.
- Yayma yapan lamın kenarları düzgün değilse, çentikli ise kan yayılırken lamın kenarı yayma yapılan lam üzerine tam temas etmezse, preparat düzgün olmaz.
- Yayma yaparken yavaş hareket edilirse, kan pıhtılaştığından, yaymada yer yer kalın pıhtılar oluşur.
- Yayma yapılacak lam eski ise yüzeyi çizik ise yaymada boşluklar oluşur.

Kan Yaymalarında Sık Yapılan Hatalar



Yanlış yerleştirme



Fazla miktarda kan



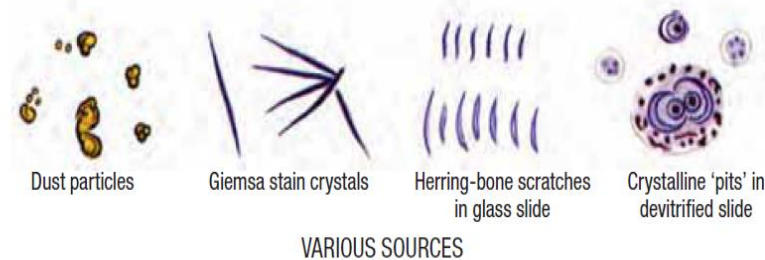
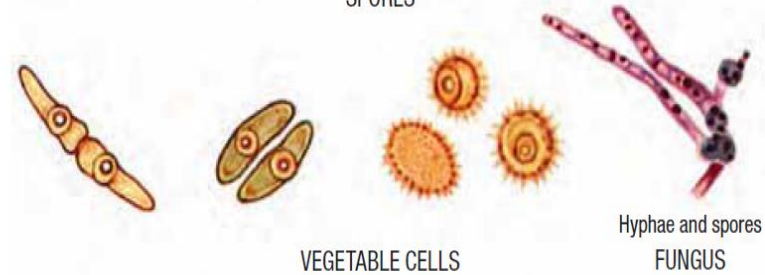
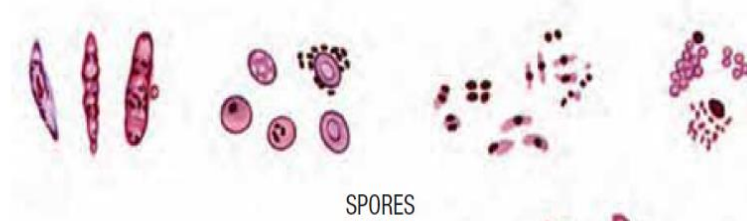
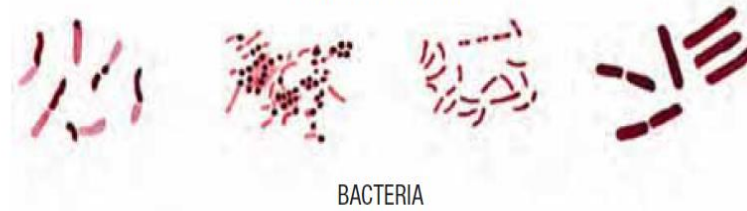
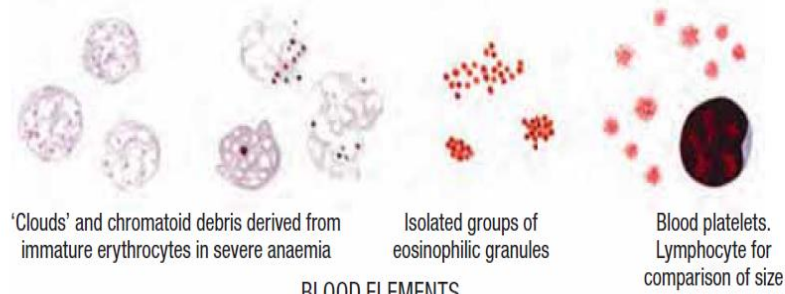
Az miktarda kan



Yağlı lam

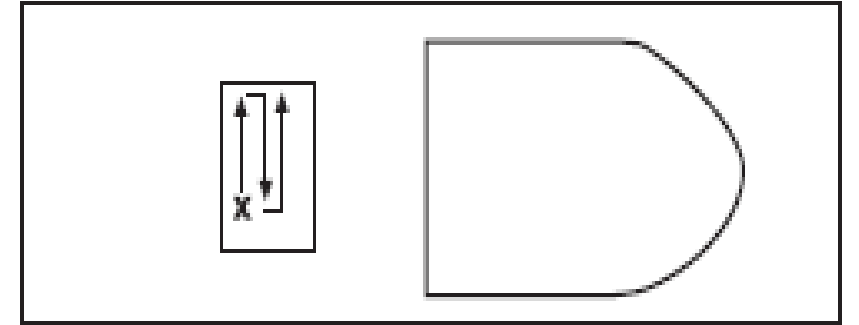
Artefaklar

Artefacts and contaminants that can cause confusion



Kalın Damlanın İncelenmesi

- İmmersiyon yağı, x100 objektif, (x10 oküler = x1000 büyütme)
- İyi boyanmış, boya kalıntısız, 10-20 lökosit/alan seçilmeli
- **En az 100 alan** incelenmeli, 10-15 dakika
- Karışık (miks) enfeksiyon ?
- Pozitif ise, + 50 saha daha incelenmeli
- **Negatif sonuç için;**
- 20 lökosit/alan, en az 100 alan incelenmeli
- Ortalama 8.000 lökosit/ μ l => kalın damla **duyarlılık sınırı 4 parazit/ μ l**



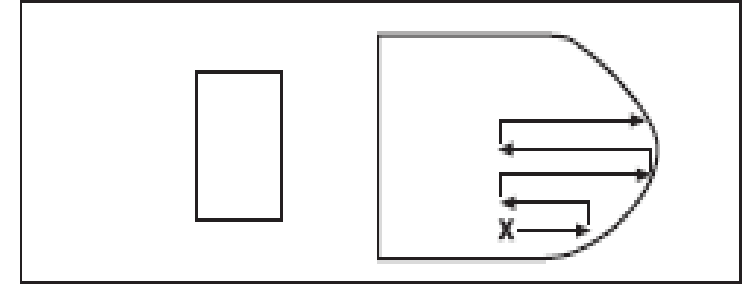
Kalın Damlanın İncelenmesi

Parazit var/yok kolay, ancak tür ayrımı zor

- *P. vivax* genç veya olgun trofozoitleri ve gametositlerini...
- *P. malariae* trofozoitleri ve yuvarlakmış *P. falciparum* gametositlerini...
- *P. malariae*'nin genç trofozoit ve gametositlerini...
- *P. vivax* ve *P. falciparum*'un erken yüzük formlarını...
 - Ayırt etmek çok zordur....

İnce Yaymanın İncelenmesi

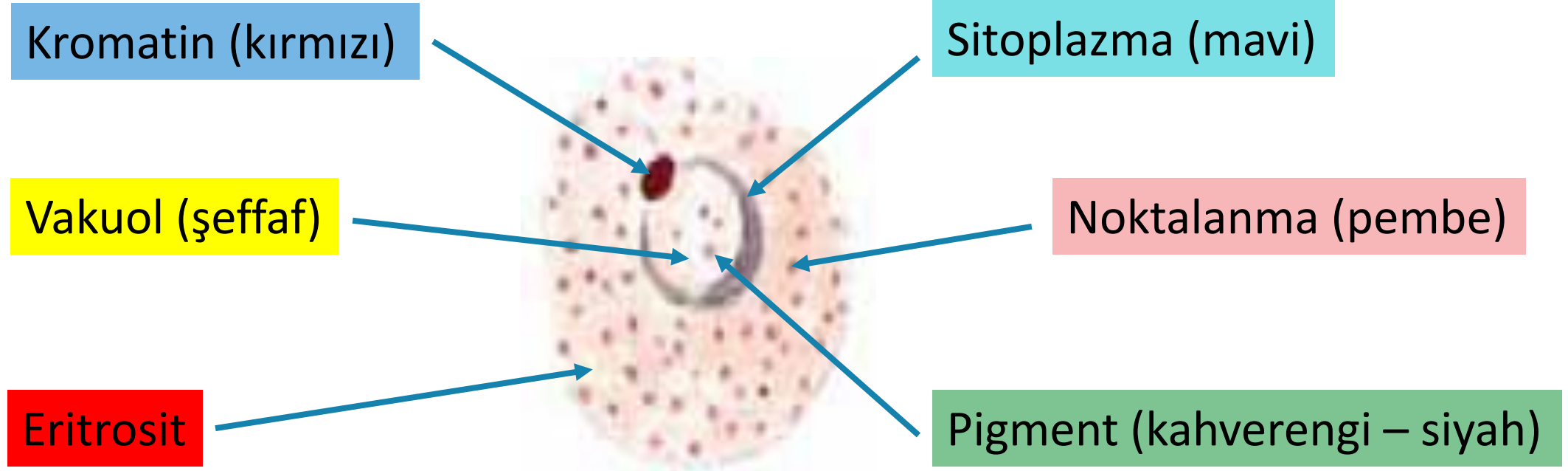
- İmmersiyon yağı, x100 objektif, (x10 oküler = x1000 büyütme)
- Yaymanın ortasının kenar kısmından...
- **En az 200 -300 alan** incelenmeli, 20 - 30 dakika
- Karışık (miks) enfeksiyon ?
- Pozitif ise, + 50 saha daha incelenmeli



Parazit Sayısının Hesaplanması

- Klinisyen enfeksiyonun şiddetini ve tedavinin etkinliğini öğrenmek ister...
- *P. falciparum* enfeksiyonlarında sayı önemlidir, potansiyel tehlike...
- Sahadaki olguların şiddeti sorumlu kişilerin uyarılması için gereklidir...
- Sahada tedavinin etkinliğinin izlenmesi için gereklidir...
- Kanda 8.000 lökosit/ μ l, 4.000.000 eritrosit/ μ l...
- Kalın damla: $(\text{Parazit sayısı} / \text{Lökosit sayısı}) \times 8.000 = \text{Parazit} / \mu\text{l}$
- İnce yayma: $(\text{Enfekte eritrosit sayısı} / \text{Eritrosit sayısı}) \times 100 = \text{Enfekte eritrosit } \%$

Eritrosit İçinde Sıtma Parazitinin Yapısı



Sıtma parazitinin boyanma özellikleri

Kromatin: Parazitin çekirdeğidir. Genellikle yuvarlaktır ve parlak kırmızı renk alır.

Sitoplazma: Maviye boyanır. Mavinin tonları türler arasında farklılık gösterebilir ve bazen ayırt edici özellik gösterir.

Pigment: Parazitin büyümesiyle ortaya çıkan taneciklerdir. Boya almazlar ancak renkleri kahverengiden siyaha değişebilir. Pigment taneciklerinin renk ve büyüklükleri türlere göre değişkenlik gösterir ve genellikle ayırt edici özellik gösterir.

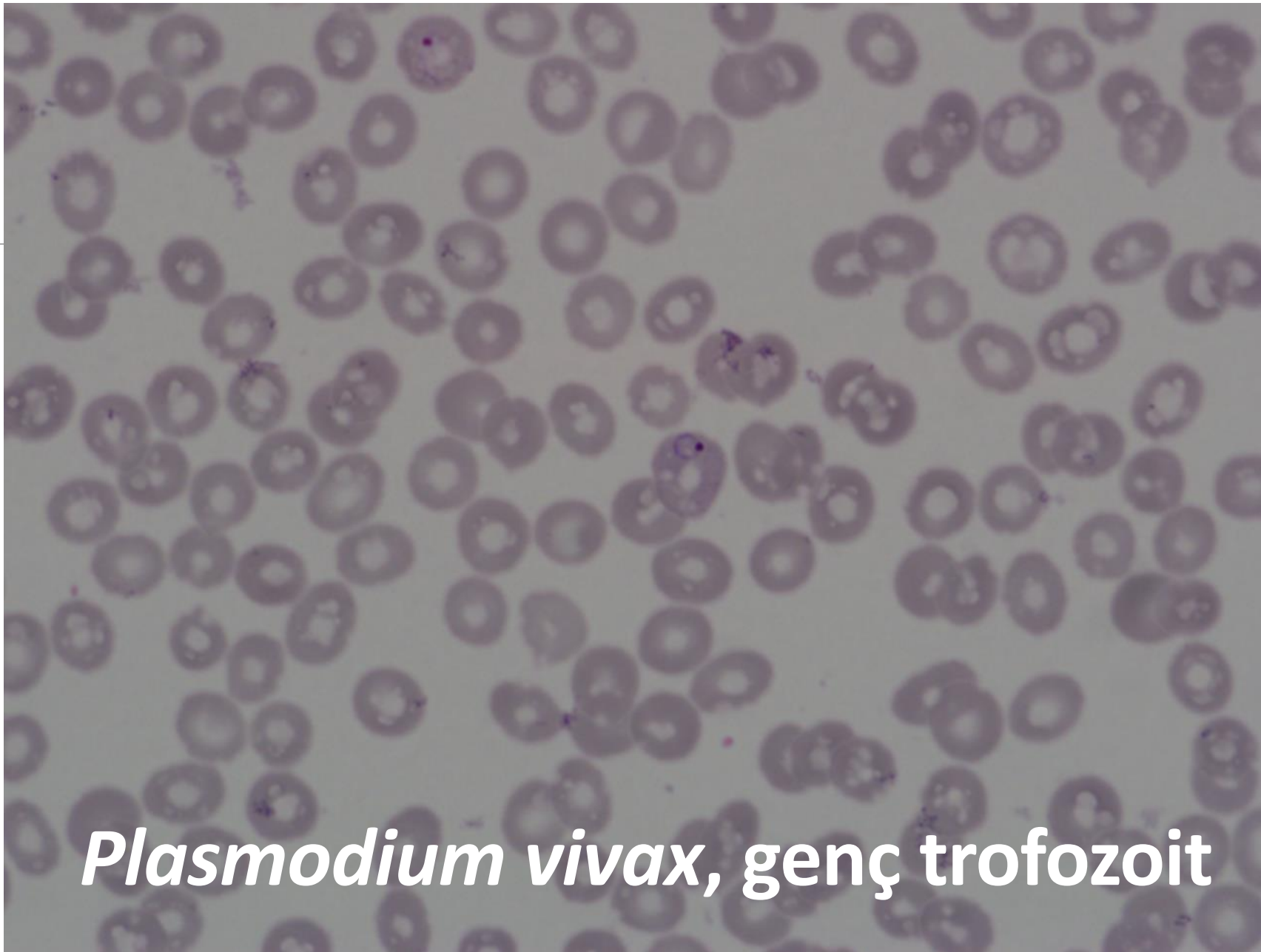
Sıtma Parazitinin Boyanma Özellikleri

Noktalanma:

Parazitin konak hücre üzerine yaptığı etkilerle «nokta veya leke» olarak isimlendirilir ve iyi boyandığının işaretidir. En iyi bilinen ve en kolay tanınan «**Schuffner granülleri**» pembe boyalı nokatalar şeklinde *P. vivax* ile enfekte eritrositleri kaplamış olarak görülür.

P. ovale enfeksiyonlarında leylak renginde «James tanecikleri» görülmesine rağmen, bir çok kişi tarafından halen «**Schuffner granülleri**» olarak isimlendirilmektedir.

«**Maurer tanecikleri**» *P. falciparum* ile enfekte hücrelerde ince yayma preparatlarda görülürken, boyanmanın kalitesine bağlı olarak gösterilmesi biraz daha zordur.



Plasmodium vivax, genç trofozoit

CBÜ, Tıbbi
Parazitoloji AD



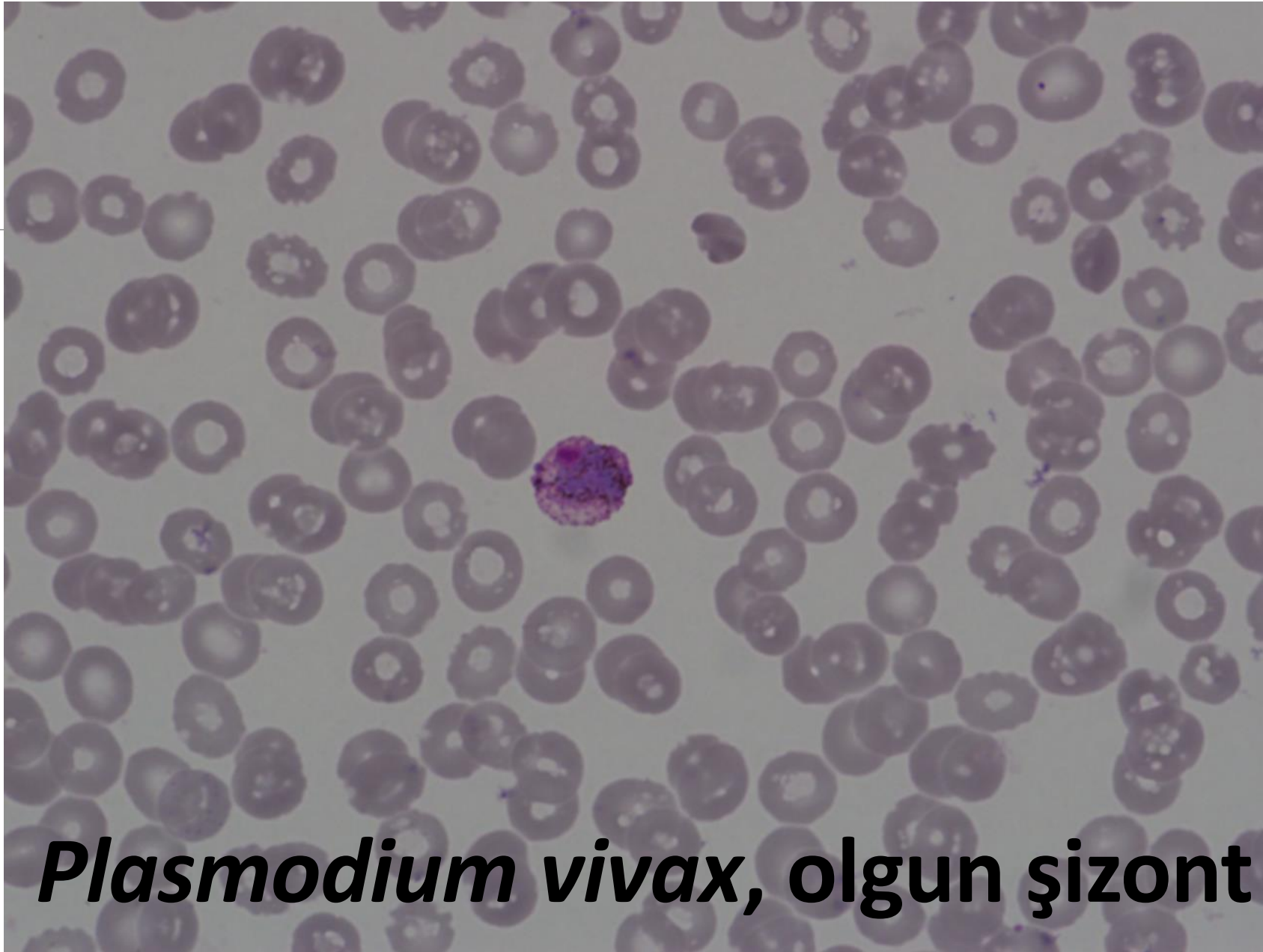
CBÜ, Tıbbi
Parazitoloji AD

***Plasmodium vivax*, olgun trofozoit**



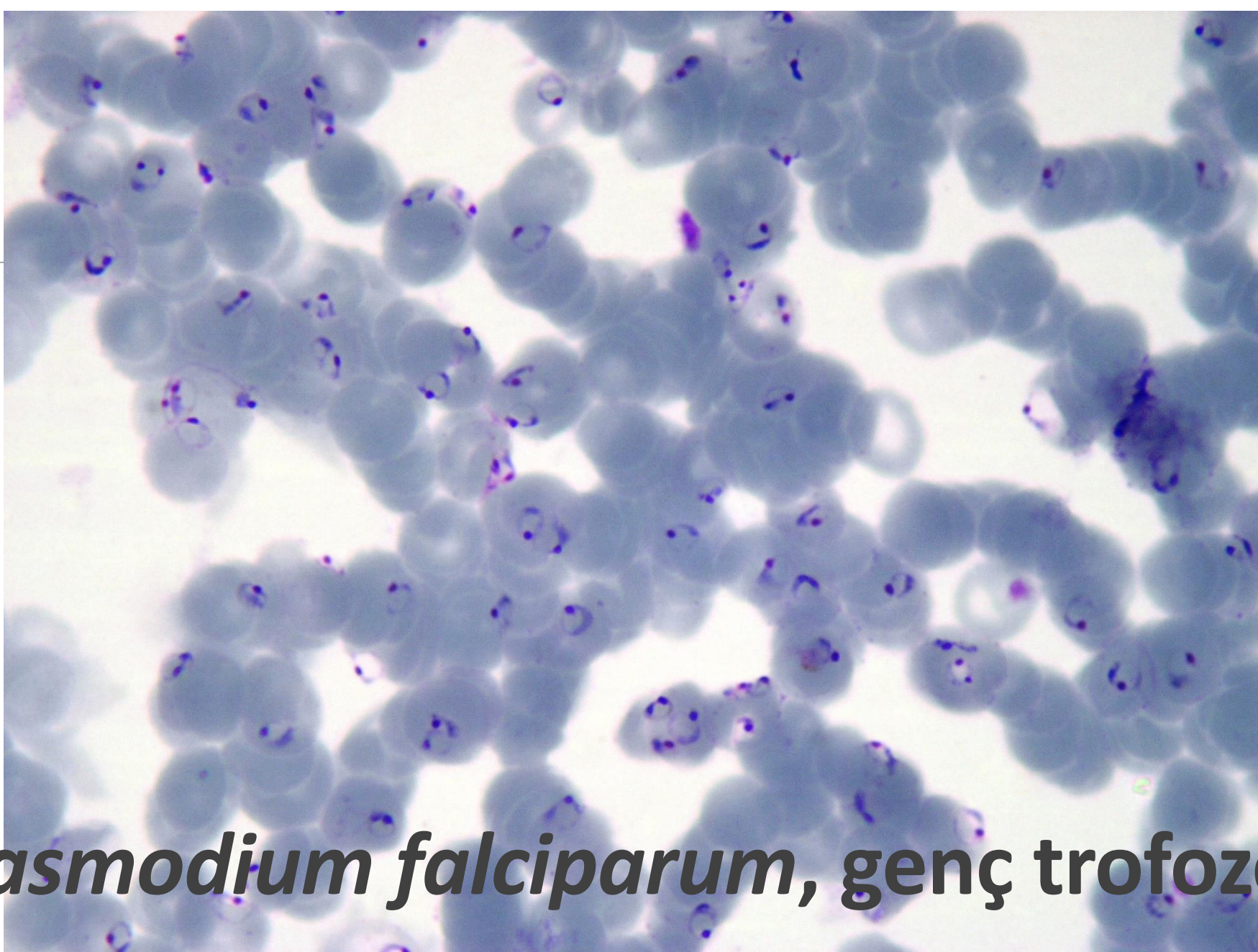
***Plasmodium vivax*, genç şizont**

CBÜ, Tıbbi
Parazitoloji AD



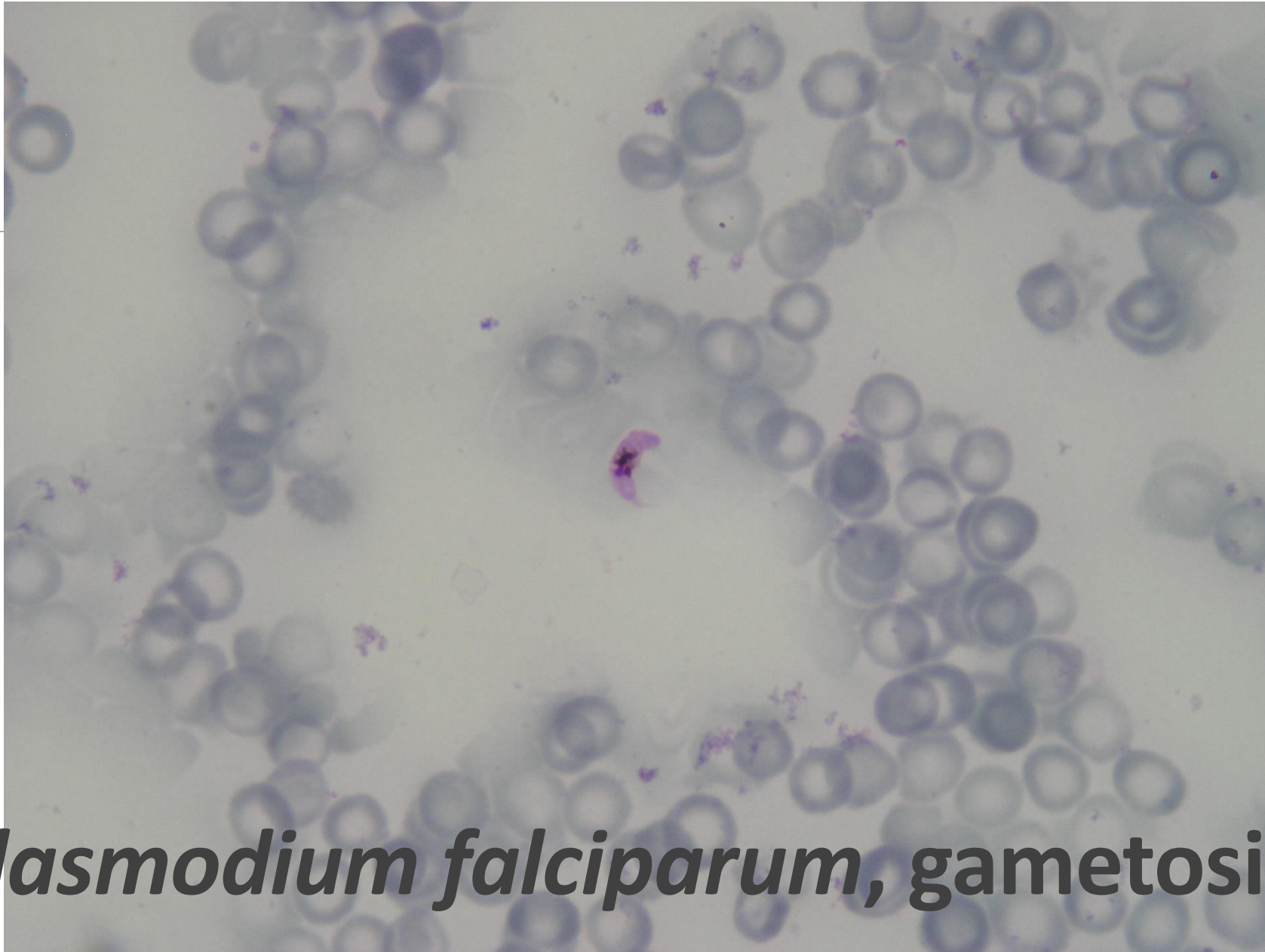
***Plasmodium vivax*, olgun şizont**

CBÜ, Tıbbi
Parazitoloji AD



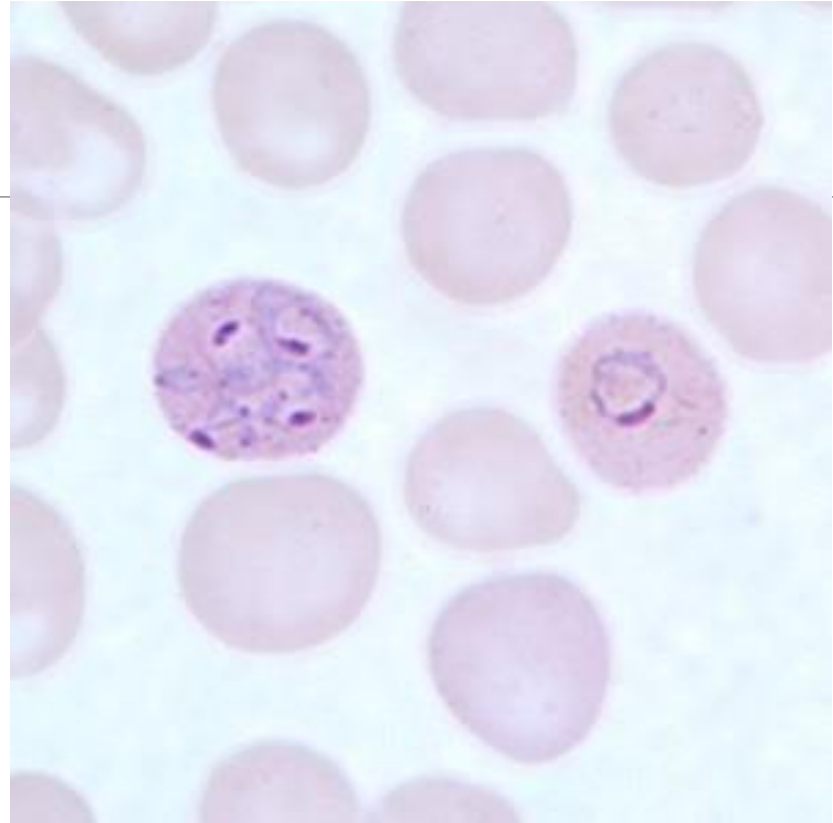
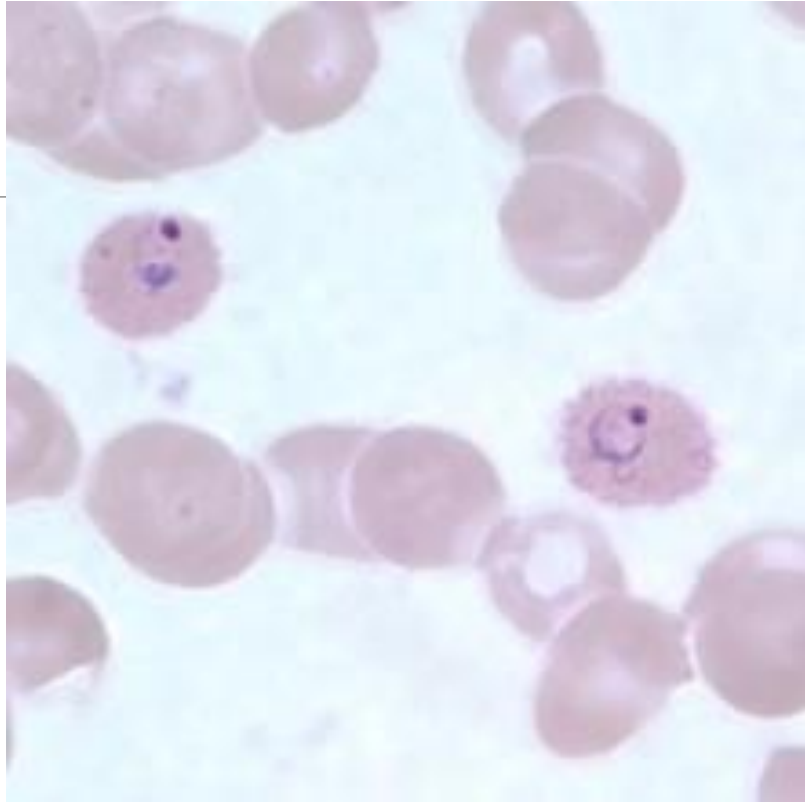
***Plasmodium falciparum*, genç trofozoit**

CBÜ, Tıbbi
Parazitoloji AD

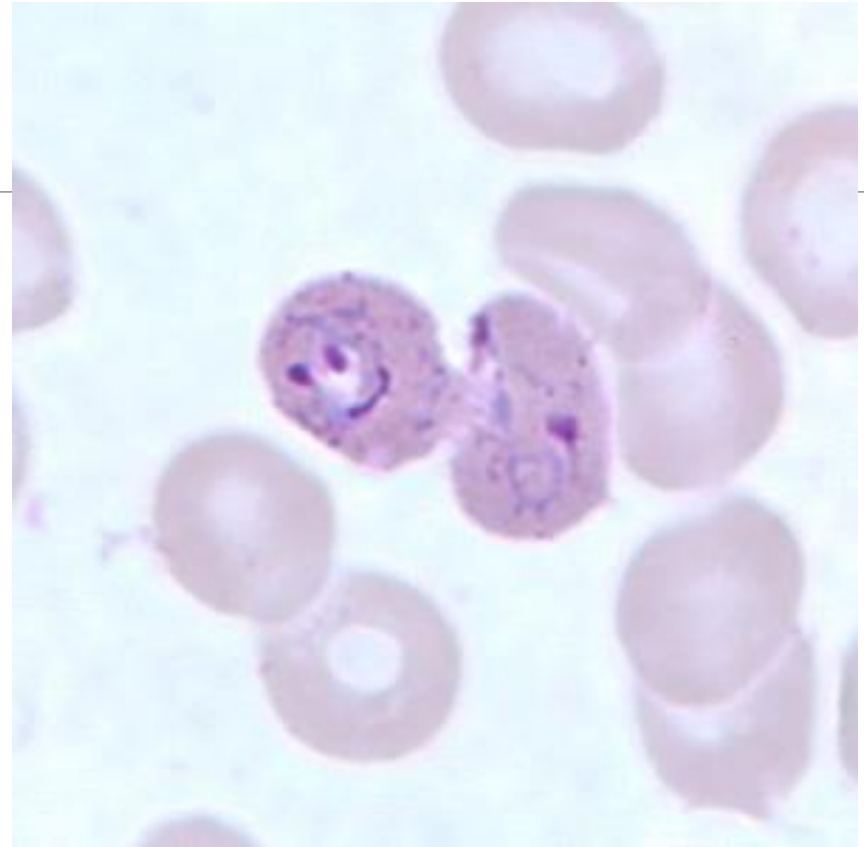
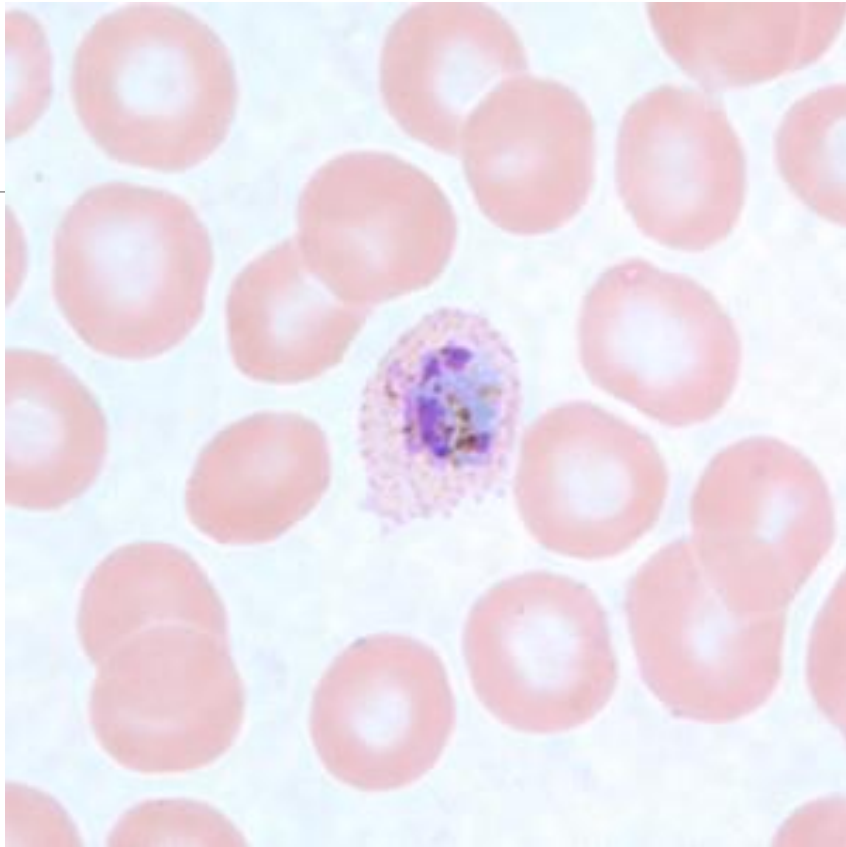


***Plasmodium falciparum*, gametosit**

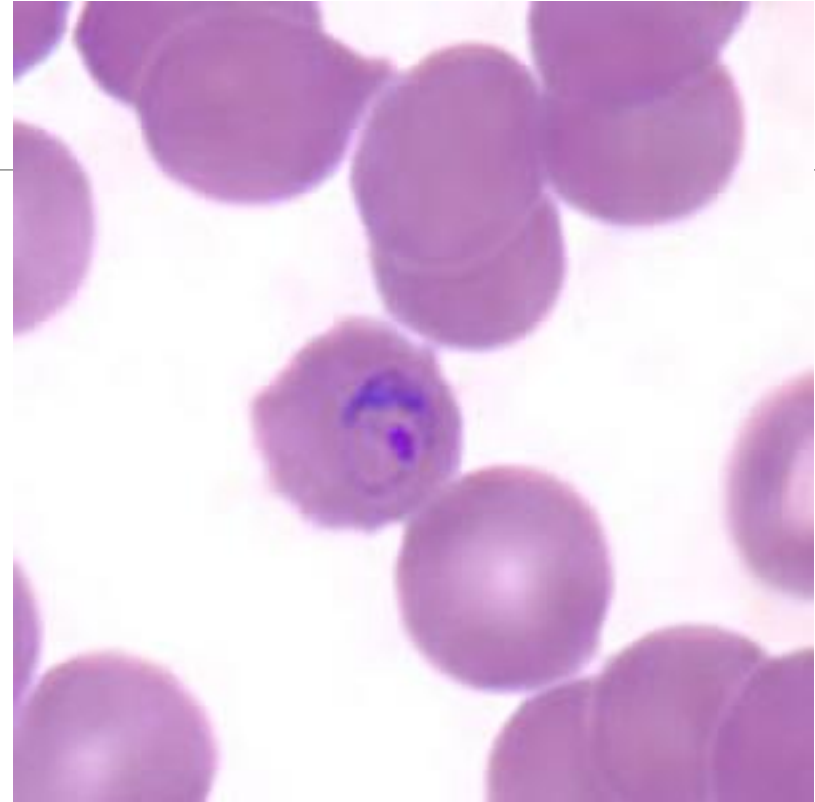
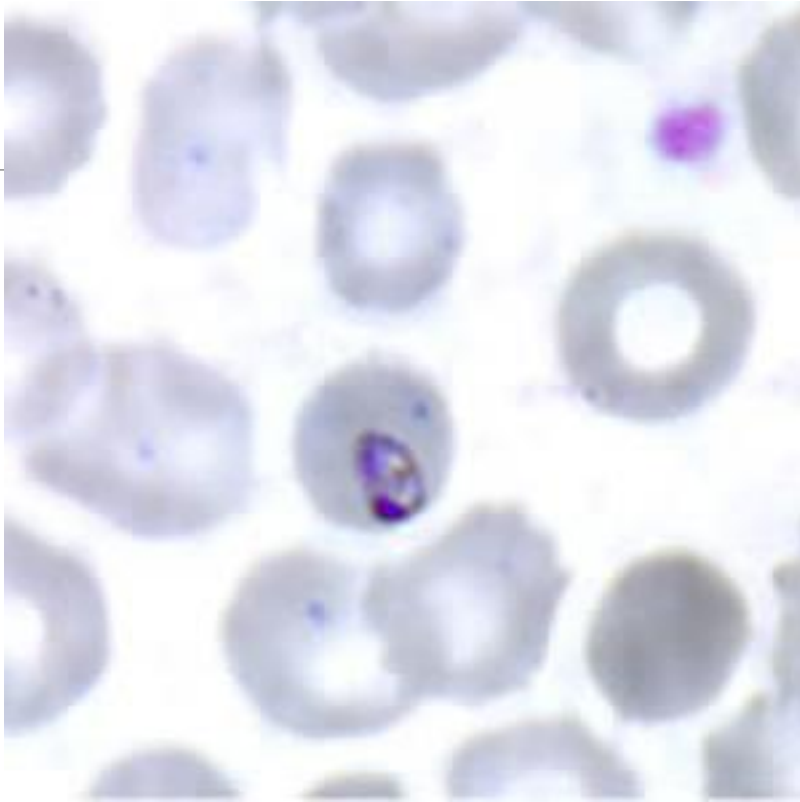
CBÜ, Tıbbi
Parazitoloji AD



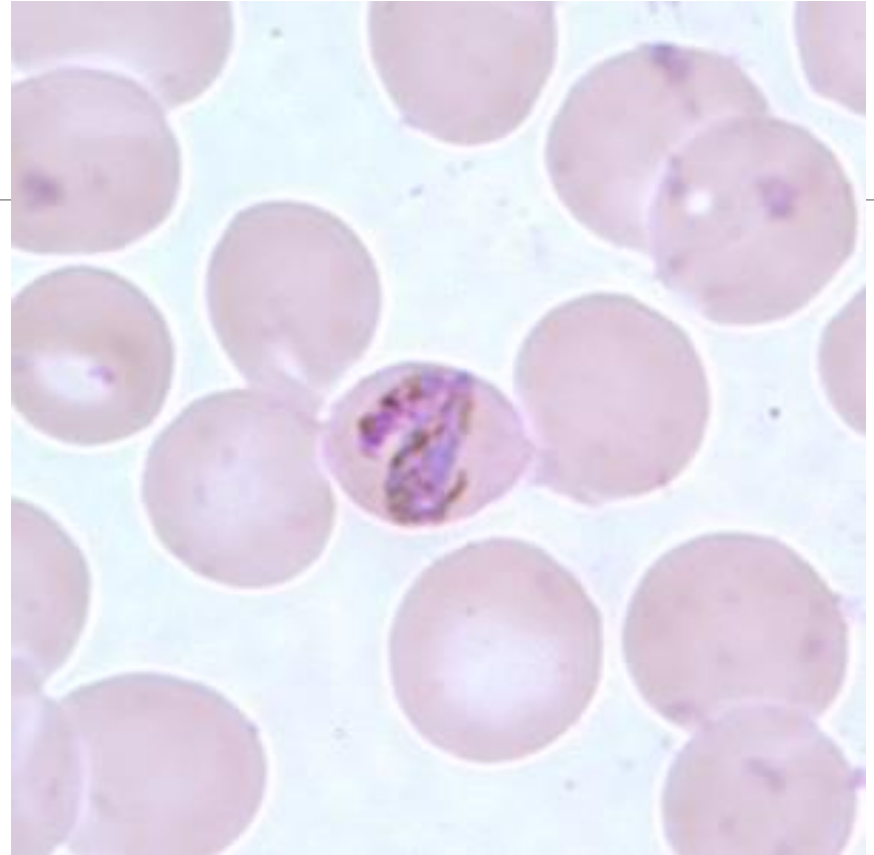
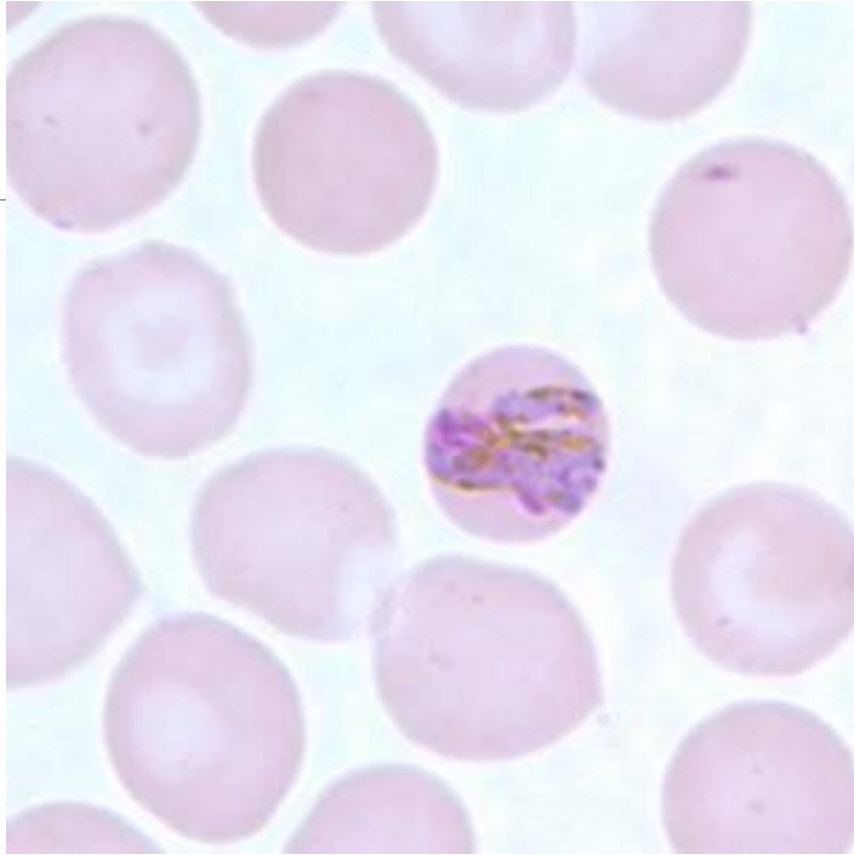
***Plasmodium ovale*, genç trofozoit**



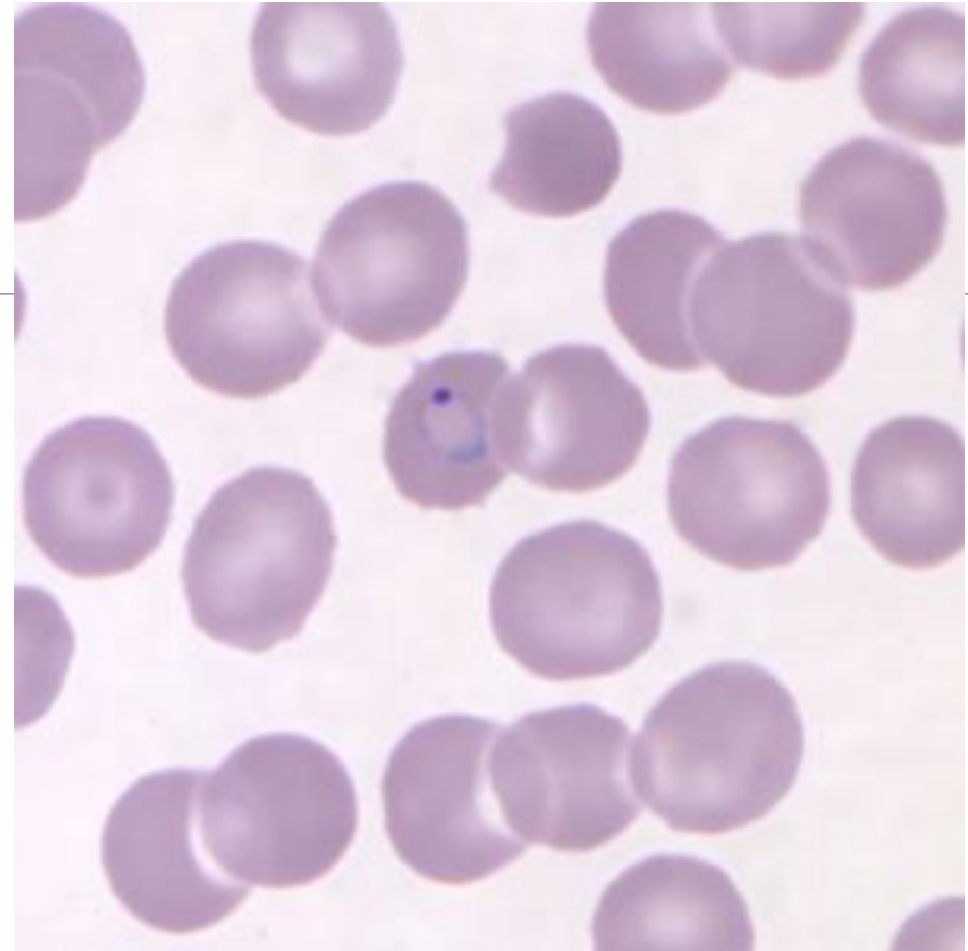
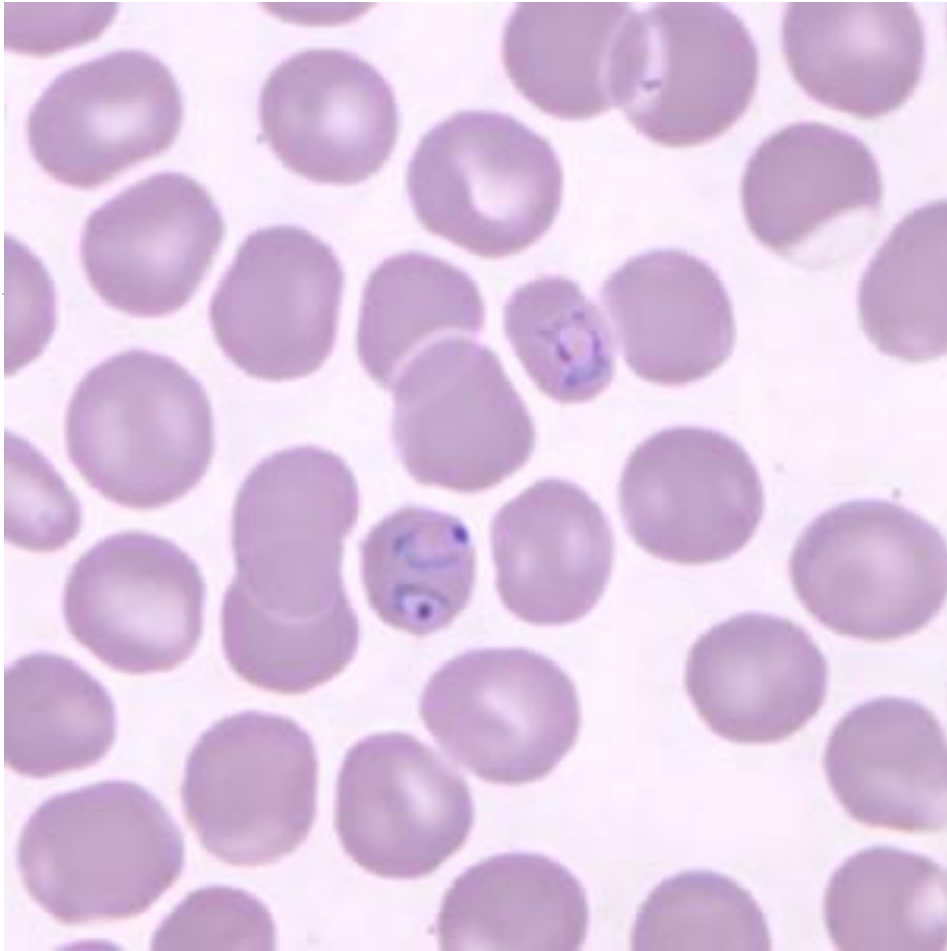
***Plasmodium ovale*, olgun trofozoit**



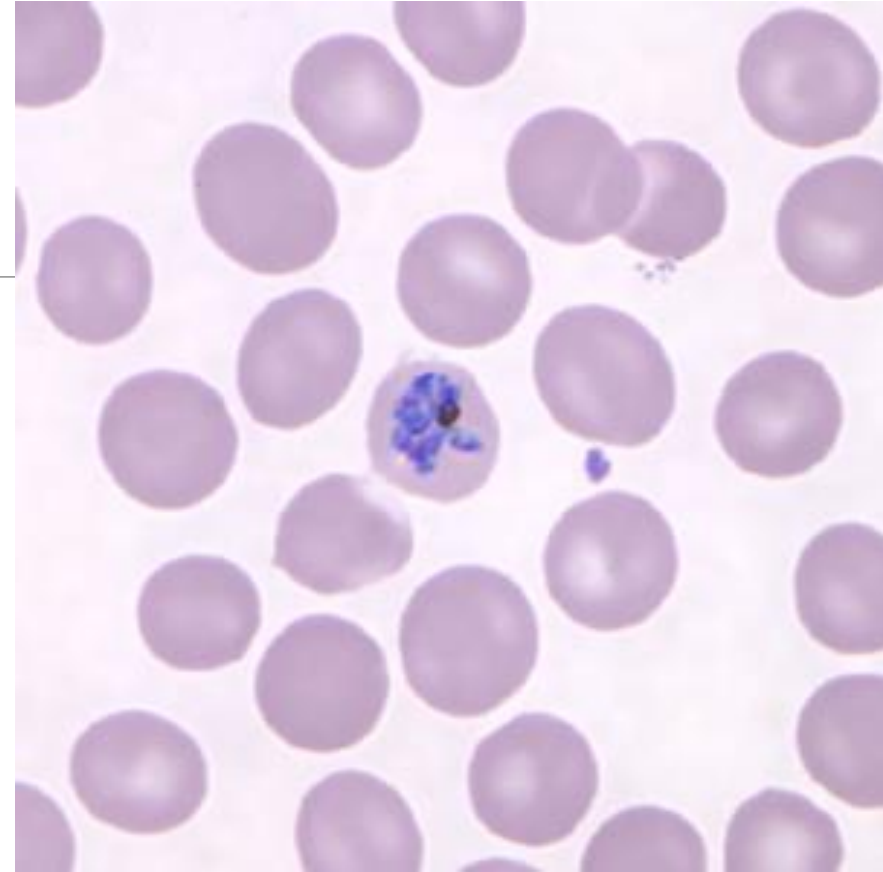
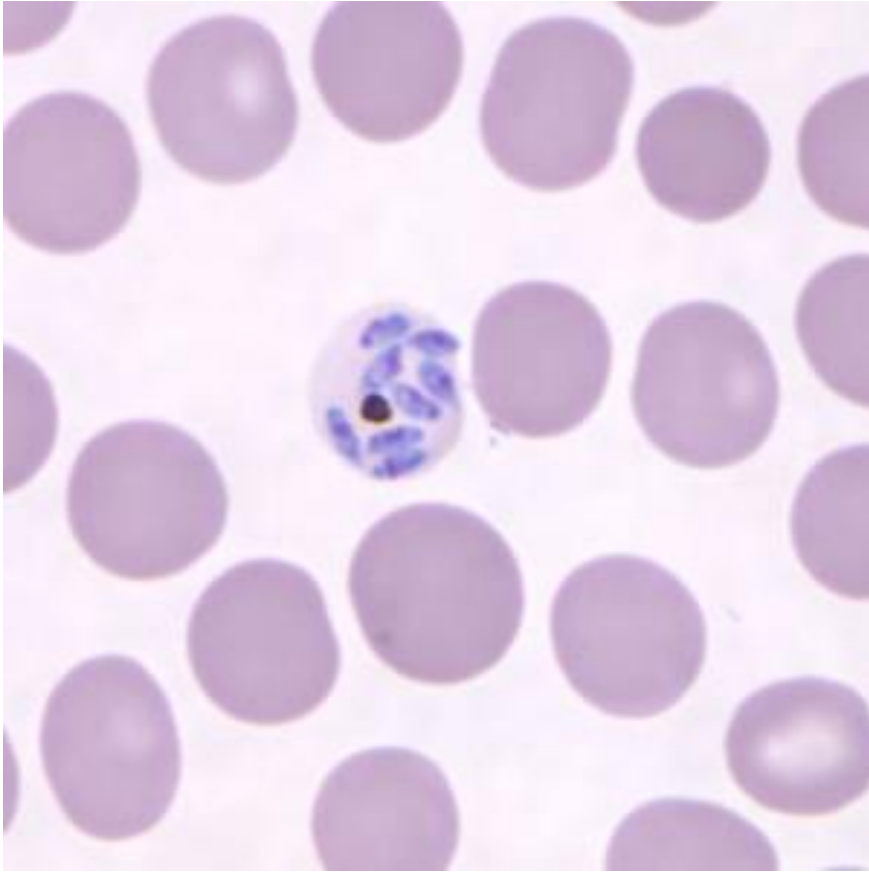
***Plasmodium malariae*, genç trofozoit**



***Plasmodium malariae*, olgun trofozoit**



***Plasmodium knowlesi*, genç trofozoit**



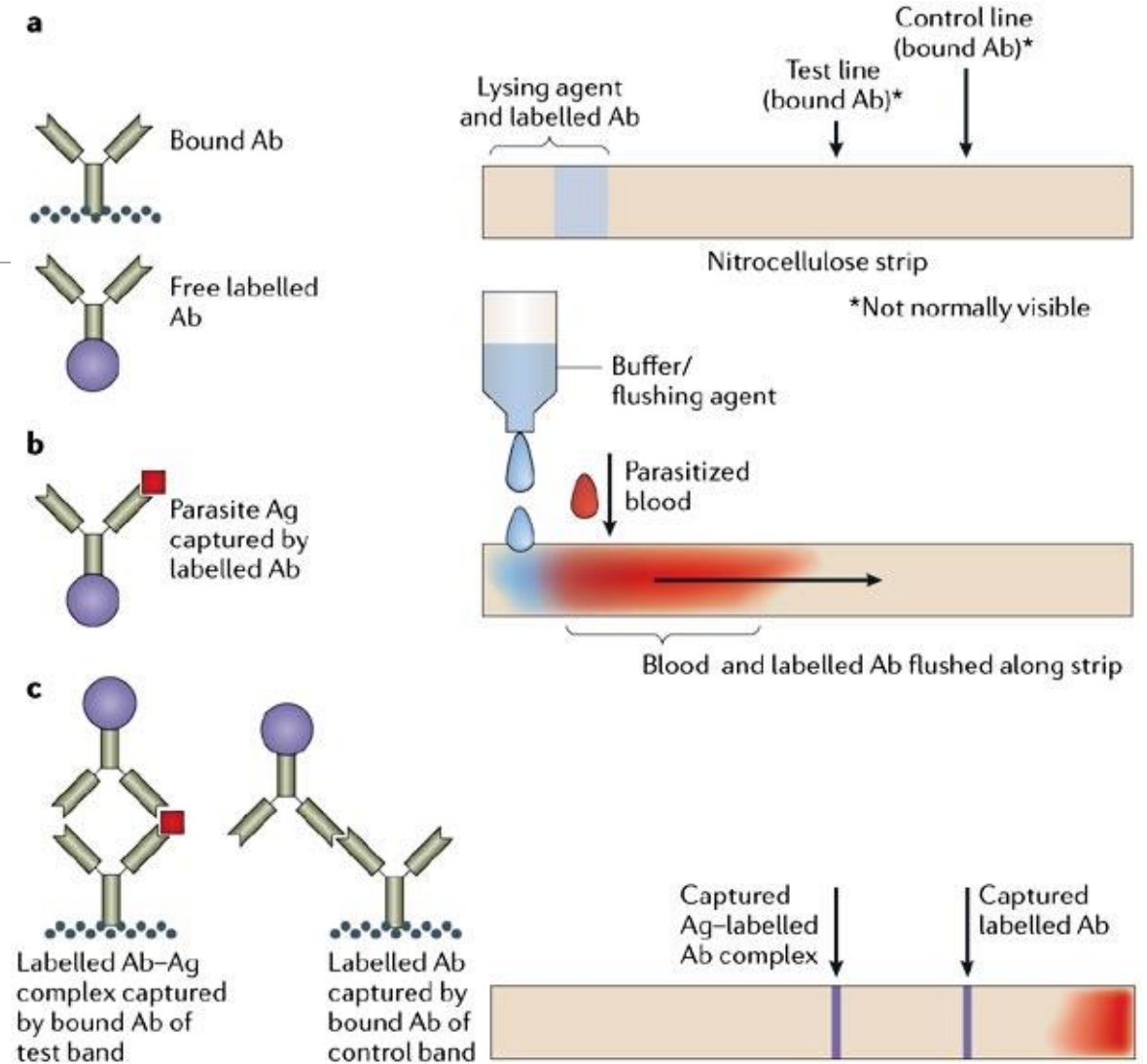
***Plasmodium knowlesi*, olgun şizont**

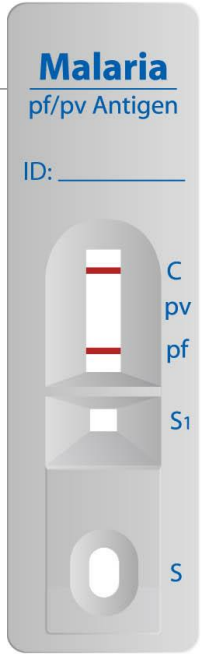
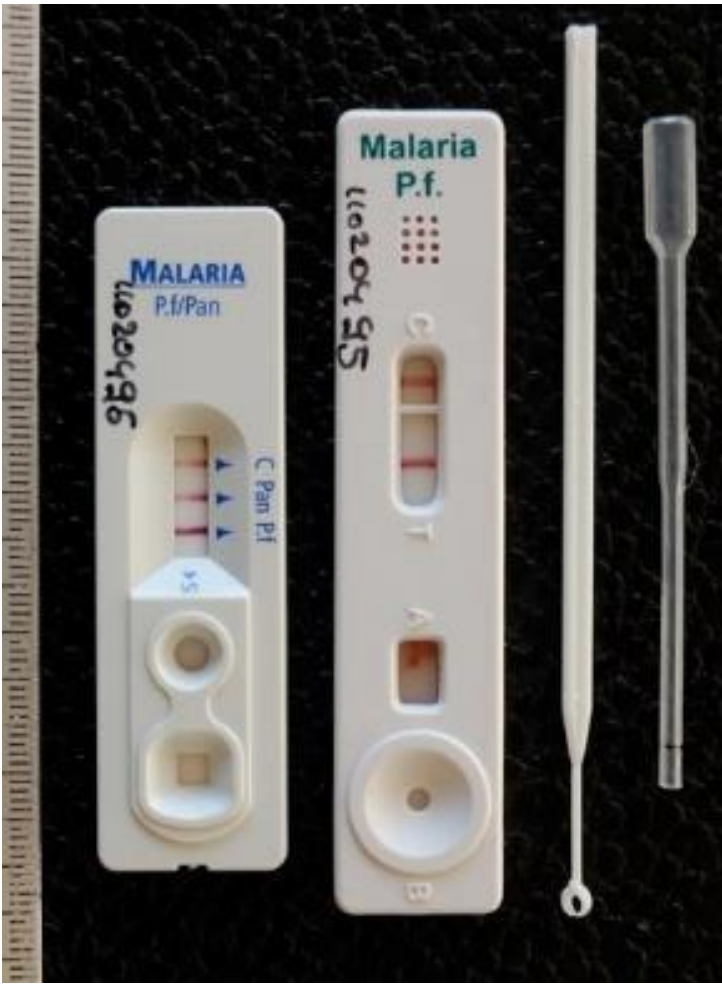
Antijen Saptayan Yöntemler

- Parazit Ag'lerini saptayan, immunokromatografik yöntemlerdir
- **Hızlı tanı testi (HTT)**, Rapid Diagnostic Tests (RDTs)
- Monoklaonal Ab kaplanmış dipstik, kaset, kart test veya strip test
- Çok hızlı sonuç verir, 5 - 15 dakika
- Endemik bölgelerde, saha koşullarında
- Histidinden zengin protein II (**HRP-II**) Ag (*P. falciparum*)
- Plasmodium laktat dehidrogenaz (**pLDH**) Ag (*Plasmodium* spp.)

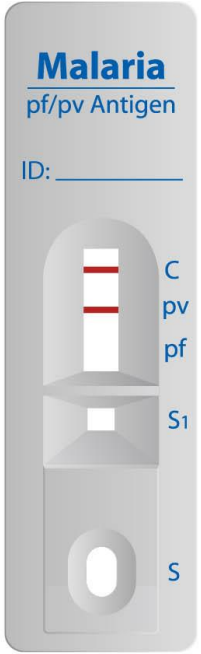
HTT

- HRP-II, yalnızca *P. falciparum*
 - Parasight F, MacroMal
 - Tedaviyi izleyen 2 hafta +
- pLDH, 4 *Plasmodium* spp.
 - optiMal
 - Tedaviyi izleyen dönemde + vermez
- Pan malarial Ag

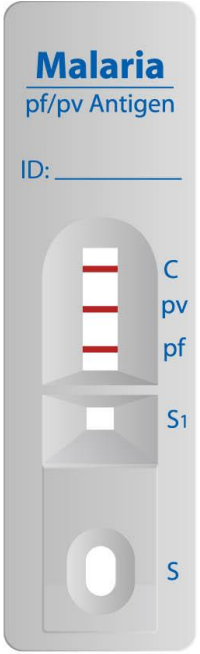




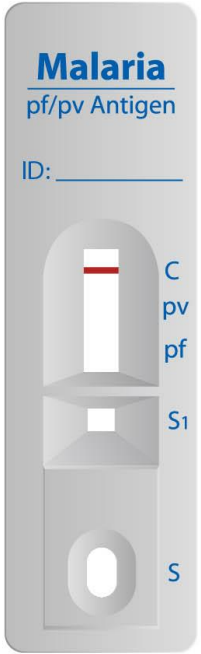
Positive
P. falciparum



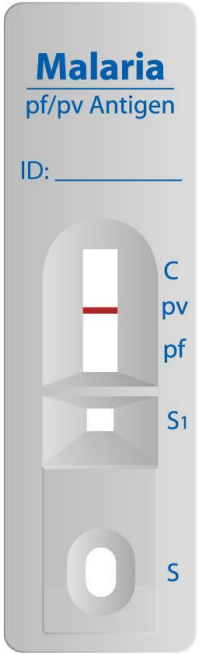
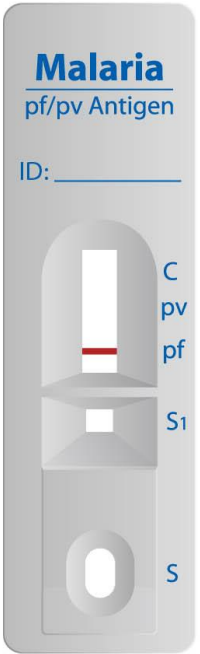
Positive
P. vivax



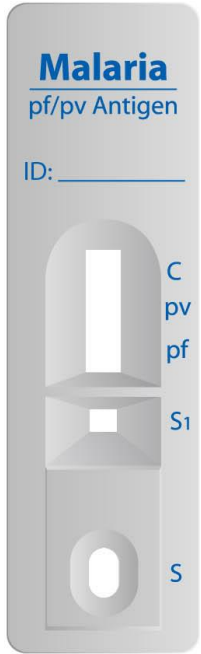
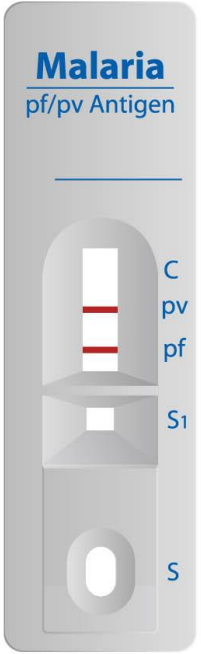
Positive
P. falciparum
and *P. vivax*



Negative



Invalid



HTT Performansı ve Avantajları

- Duyarlılıkları düşük (>100 parazit/ μ l olduğunda >%90)
- Özgüllüğü %90
- Pozitif ve negatif prediktif değerler kabul edilebilir düzeyde
- Deneyim gerektirmez, kolay uygulanır, hızlı sonuç verir
- Ekipman, elektrik gerektirmez, objektif sonuç verir
- Dolaşımdaki HRP-II Ag saptar, mikroskopi - , *P. falciparum* tanısı +

HTT Dezavantajları

- **Çapraz reaksiyon !!!** (romatoid faktör, ANA, heterofil Ab = **yalancı +**)
- Düşük parazitemide duyarlılığı az (<100parazit/ μ l)
- Negatif sonuçlar, mikroskopi ile doğrulanmalı !!!
- Pozitif sonuçlarda da mikroskopi gerekli, tür ayrımı ve evreleme...
- Tedavi sonrası 2 haftaya kadar pozitif...(tedavi başarısı – direnç ???)
- Pahalıdır, 0,6 – 2,5 USD/test...
- **Parazit sayısını veremez**

Moleküler Yöntemler

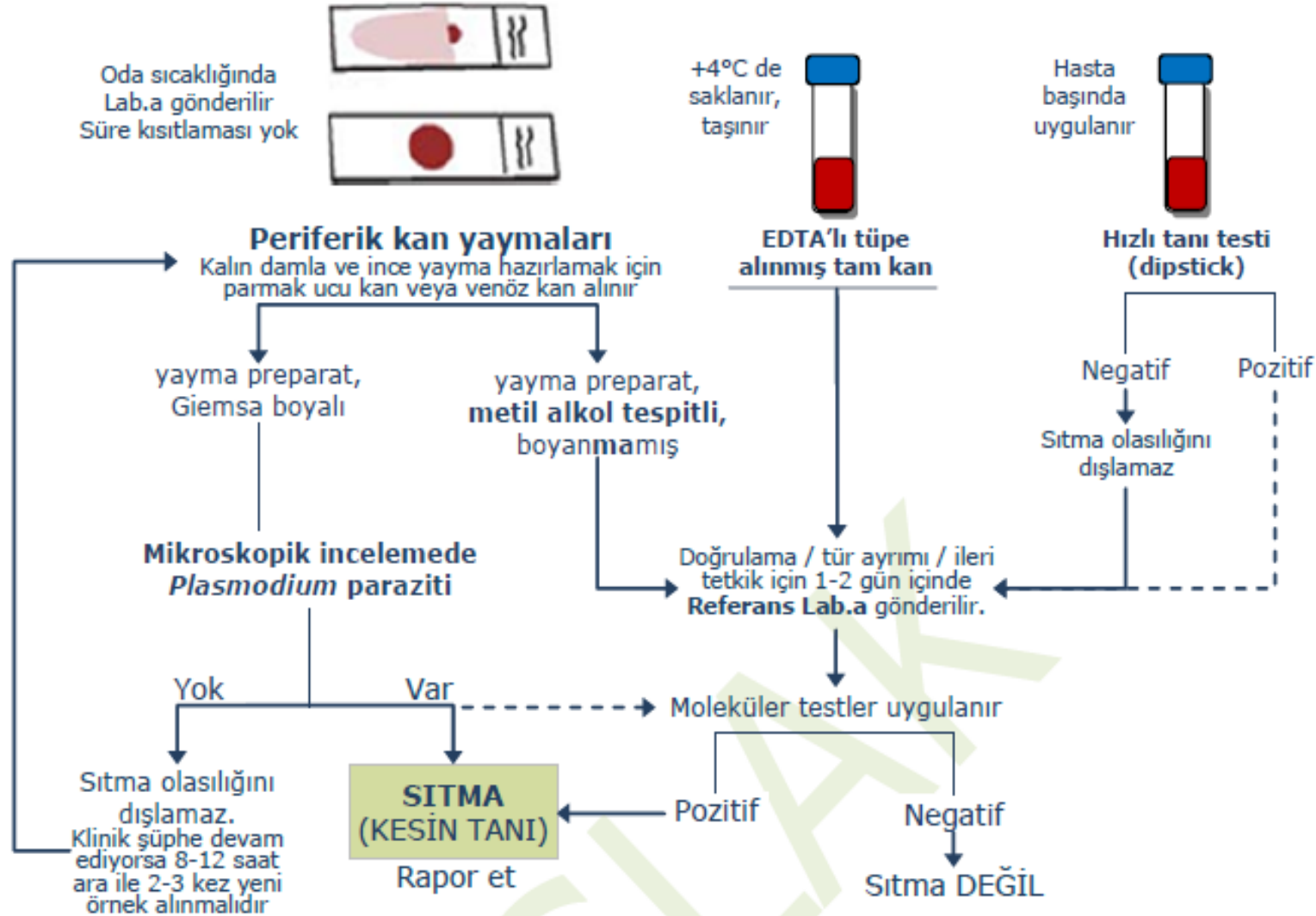
- Son yıllarda yaygın, parazit varlığı ve türünü tayin eder...
- Yüksek duyarlılık ve özgüllük
- Düşük parazitemi varlığı ve karışık enfeksiyonlarda dahi, +, 4 - 25 parazit/ μ l, %0,0015
- Mikroskopi x 10 duyarlı...
- Küçük alt-ünite **18S rRNA** gen bölgesini hedefleyen oligonükleotidler
- EDTA'lı venöz kan, filtre kağıdına (Whatman,3M) parmak ucu veya tam kan,
- **Boyanmamış veya boyalı yayma preparatlar**
- Tedaviye yanıt veya direncin izlenmesi
- Konvansiyonel, gerçek zamanlı veya nested (iç içe) polimeraz zincirleme reaksiyonu (**PZR – PZT**)

Sıtmada Az Kullanılan Tanı Yöntemleri

- Quantitative Buffy Coat (QBC, Becton Dickonson) yöntemi
 - Heparin, akridin – oranj
 - Floresan mikroskop
- Kültür yöntemleri
 - Zahmetli, aşı çalışmaları
 - Kültür plakları, SCMI 612, RPMI 1640
- Serolojik yöntemler
 - Transfüzyon kaynaklı, retrospektif
 - ELISA
 - IFAT

SITMA ŞÜPHELİ VAKA

- Ateş, üşüme-titrete, terleme,
- Anemi, splenomegali, trombositopeni
- Endemik bölgede yaşama veya seyahat
- Uygulanan farklı tedavilere rağmen bulguların devamı veya kötüleşmesi



Sağlık Bakanlığı

Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS)

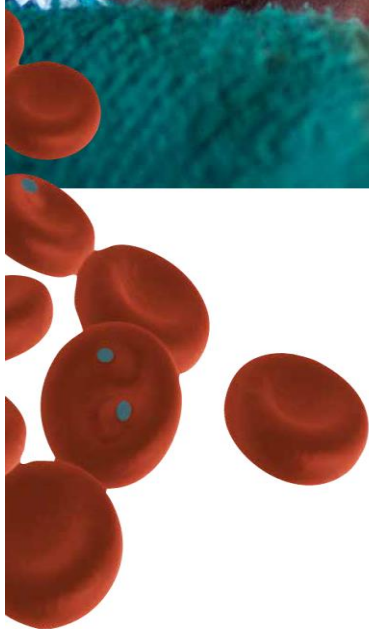
Referans Laboratuvar

Adres

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu,
Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı
Ulusal Parazitoloji Referans Merkez Laboratuvarı
"Ulusal Sıtma Referans Laboratuvarı"
Refik Saydam Yerleşkesi,
Sağlık Mahallesi, Adnan Saygun Caddesi, No: 55,
06100 - Sıhhiye/ANKARA

Tel: 0 312 565 5571

e-posta: parazitoloji@thsk.gov.tr; www.thsk.gov.tr



**WORLD
MALARIA
REPORT 2014**



WHO GLOBAL MALARIA PROGRAMME

WORLD MALARIA REPORT

2014



**World Health
Organization**

Malaria

Fact sheet N°94

Reviewed October 2015



Key facts

- Malaria is a life-threatening disease caused by parasites that are transmitted to people through the bites of infected female mosquitoes.
- About 3.2 billion people – almost half of the world's population – are at risk of malaria.
- Young children, pregnant women and non-immune travellers from malaria-free areas are particularly vulnerable to the disease when they become infected.
- Malaria is preventable and curable, and increased efforts are dramatically reducing the malaria burden in many places.
- Between 2000 and 2015, malaria incidence (the rate of new cases) fell by 37% globally. In that same period, malaria death rates fell by 60% globally among all age groups, and by 65% among children under 5.
- Sub-Saharan Africa carries a disproportionately high share of the global malaria burden. In 2015, the region was home to 89% of malaria cases and 91% of malaria deaths.

Malaria

Fact sheet N°94

Reviewed October 2015



Disease burden

According to the latest WHO estimates, released in September 2015, there were 214 million cases of malaria in 2015 and 438 000 deaths.

Between 2000 and 2015, malaria incidence fell by 37% globally; during the same period, malaria mortality rates decreased by 60%. An estimated 6.2 million malaria deaths have been averted globally since 2000.

Sub-Saharan Africa continues to carry a disproportionately high share of the global malaria burden. In 2015, the region was home to 89% of malaria cases and 91% of malaria deaths.

Some 15 countries – mainly in sub-Saharan Africa – account for 80% of malaria cases and 78% deaths globally. Since 2000, the decline in malaria incidence in these 15 countries (32%) has lagged behind that of other countries globally (54%).

In areas with high transmission of malaria, children under 5 are particularly susceptible to infection, illness and death; more than two thirds (70%) of all malaria deaths occur in this age group. Between 2000 and 2015, the under-5 malaria death rate fell by 65% globally, translating into an estimated 5.9 million child lives saved.

WHO Ekim 2015 Sıtma



- 3,2 milyar kişi risk altında
- Küçük çocuklar, hamile kadınlar ve bağışık olmayan turistler
- 2000 – 2015 insidans %37 ↓ , ölüm %60 ↓
- 2015 yılında 214 milyon yeni sıtma olgusu, 438.000 ölüm
- Ölümlerin %70, 5 yaşından küçük çocuklar...
- 1 yıl = 31.536.000 saniye
- 72 saniyede 1 ölüm...



”Öğretmenler!
Cumhuriyet sizden, fikri hür,
vicdanı hür, irfanı hür nesiller ister.“

Mustafa Kemal
ATATÜRK
eskimeyenkitaplar

Dinlediğiniz ve ilginiz için çok teşekkür ederim, saygılarımla...

Nogay