**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα**

**Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας**

Παρασιτολογία- Μυκητολογία

**Ενότητα 9: Διάγνωση πλασμωδίων με QBC**

Ανθούλα Νικολαΐδου

Tεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων

Msc Medical Microbiology

Τμήμα Δημόσιας και Κοινοτικής Υγείας

Χειμερινό Εξάμηνο (2013 – 2014)

|  |  |
| --- | --- |
| Το περιεχόμενο του μαθήματος διατίθεται με άδεια Creative Commons εκτός και αν αναφέρεται διαφορετικά | Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους. |

Περιεχόμενα

[1. Quantitative Buffy Coat (QBC), 3](#_Toc401579160)

[1.1 Αρχή της μεθόδου 3](#_Toc401579161)

[1.2 Σκεύη-Όργανα 3](#_Toc401579162)

[1.3 Διαδικασία 4](#_Toc401579163)

[1.4 Πλεονεκτήματα 5](#_Toc401579164)

[1.5 Μειονεκτήματα 5](#_Toc401579165)

# Quantitative Buffy Coat (QBC),

**Τεχνική διάγνωσης των πλασμωδίων με φθορισμό σε σωληνάρια μικροαιματοκρίτη**

## Αρχή της μεθόδου

Αίμα τριχοειδικό ή φλεβικό σε ειδικό σωληνάριο μικροαιματοκρίτη επικαλυμμένο με αντιπηκτικό και φθορίζουσα χρωστική, πορτοκαλί της ακριδίνης και με την προσθήκη μικρού πλαστικού φλοτέρ, φυγοκεντρείται στην μικροφυγόκεντρο, το σωληνάριο μικροσκοπείται με υπεριώδη ακτινοβολία. Τα παράσιτα και παρασιτούμενα ερυθρά συγκεντρώνονται σε μικρή περιοχή και γίνονται εύκολα ορατά με το φθορισμό.

Τα κύτταρα του αίματος διαχωρίζονται με την φυγοκέντρηση σε διακριτά στρώματα ανάλογα με την πυκνότητα τους. Πλάσμα, αιμοπετάλια, λευκά και ερυθρά.

Πλάσμα

Λευκοκύτταρα (buffy coat)

Ερυθροκύτταρα

Στην τεχνική QBC μετά την φυγοκέντρηση το plastic float επιπλέει στην περιοχή μεταξύ των ερυθρών και του πλάσματος. Επειδή καταλαμβάνει το 90% του εσωτερικού χώρου του σωληναρίου τα αιμοπετάλια τα λευκά και το ανώτερο στρώμα των ερυθρών καταλαμβάνουν 10 φορές μεγαλύτερη επιφάνεια από το κανονικό μεταξύ του εσωτερικού του σωληναρίου και το εξωτερικό του plastic float.

Τα παρασιτούμενα ερυθρά είναι ελαφρότερα από τα φυσιολογικά ερυθρά και μαζί με τα παράσιτα συγκεντρώνονται κάτω από το στρώμα των λευκών "buffy coat" στην κορυφή της στήλης των ερυθρών.

Τα κύτταρα που περιέχουν DNA, όπως τα παράσιτα και τα λευκά, βάφονται με την ακριδίνη και φθορίζουν με το υπεριώδες φως.

## Σκεύη-Όργανα

1. Αίμα τριχοειδικό ή φλεβικό

2. Υλικά για την λήψη τριχοειδικού ή φλεβικού αίματος

3. Ειδικά σωληνάρια μικροαιματοκρίτη επικαλυμμένα

* με πορτοκαλί της ακριδίνης, acridineorange, (φθορίζουσα χρωστική) για να φθορίζουν τα παράσιτα και τα λευκά,
* αντιπηκτικό
* και προστίθεται ένα plastic float (πλαστικό φλοτεράκι ) επίμηκες πλαστικό μπαλονάκι

Plastic float

Αντιπηκτικό τιπηκτικό

ικό

Αντιδραστήριο

ντιδραστήριο

Πώμαα

ώμα

4. Πλαστελίνη ή πώμα για σφράγιση του σωληναρίου

5. Μικροφυγόκεντρος

6. Μικροσκόπιο φθορισμού με κατάλληλο υποδοχέα για το σωληνάριο ή οπτικό μικροσκόπιο με προσθήκη εξαρτήματος φθορισμού (και με κατάλληλο υποδοχέα για το σωληνάριο).



“[Axio Zoom.V16 with ApoTome.2](http://www.flickr.com/photos/zeissmicro/6908563695/%22%20%5Ct%20%22_blank)”, από [ZEISS Microscopy](http://www.flickr.com/photos/zeissmicro/6908563695/)διαθέσιμο με άδεια [CC BY 2.0](http://creativecommons.org/licenses/by/2.0/deed.en)

7. Λάδι κατάδυσης (oil immersion)

8. Γάντια, δοχείο απόρριψης κλπ (τήρηση των κανόνων ασφαλείας)

## Διαδικασία

* Το σωληνάριο γεμίζεται με τριχοειδικό αίμα 55- 70 μl χωρίς φυσαλίδες ή μέχρι την ένδειξη. (Το φλεβικό αίμα αναμειγνύεται καλά και με το σωληνάριο ελαφρά κεκλιμένο γεμίζεται το σωληνάριο με αίμα χωρίς φυσαλίδες)

“[Rapid HIV test](http://www.flickr.com/photos/unicefethiopia/11114126796/)”, από [UNICEF Ethiopia](http://www.flickr.com/photos/unicefethiopia/11114126796/)  διαθέσιμο με άδεια [CC BY-NC-ND 2.0](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/)

* Κρατώντας το σωληνάριο οριζόντια περιστρέφεται δύο –τρεις φορές για να αναμιχθεί το αίμα με το αντιπηκτικό.

Αν η χρωστική είναι στο άλλο άκρο, μετακινείται το αίμα για να έρθει στο άλλο άκρο και να αναμιχθεί με τη χρωστική.

* Το ένα άκρο σφραγίζεται με πλαστελίνη ή με το ειδικό πώμα

© [WHO 2014](http://who.int/en/)

* Προστίθεται ανάλογα με την εταιρία plastic float στο σωληνάριο με λαβίδα ή με το καπάκι
* Σήμανση με ειδικό χαρτάκι ή τοποθέτηση σε καθορισμένη αριθμημένη θέση
* Τοποθετείται στη μικροφυγόκεντρο (το σφραγισμένο άκρο προς την περιφέρεια) και αντιδιαμετρικά με άλλο σωληνάριο. (τηρούνται οι κανόνες φυγοκέντρησης)
* Φυγοκέντρηση 12,000 rpm για 5 λεπτά

© [WHO 2014](http://who.int/en/)

* Τοποθέτηση του σωληναρίου στο ειδικό υποδοχέα συσκευής για την μικροσκόπιση
* Ενστάλαξη λαδιού πάνω στο τριχοειδές χωρίς καλυπτρίδα
* Μικροσκόπηση με 40Χ, 60Χ, το σωληνάριο περιστρέφεται και ελέγχεται όλη η περιφέρεια για παρατήρηση των παρασίτων που φθορίζουν και ειδικά το κάτω μέρος από την περιοχή buffy coat.

**Άλλα παράσιτα που ανιχνεύονται με την QBC :**

1. πιροπλάσματα,
2. μικροφιλάριες
3. τρυπανοσώματα.

## Πλεονεκτήματα

* **Πιο εύκολη και πιο γρήγορη από τα βαμμένα επιχρίσματα**
* **Περισσότερο ευαίσθητη από την παχιά σταγόνα και τη λεπτή επίστρωση**

## Μειονεκτήματα

* **Απαιτείται ειδικός και ακριβός** εξοπλισμός
* **Δύσκολα να ταυτοποιηθούν όλα τα είδη των πλασμωδίων**
* **Το σωληνάριο δεν διατηρείται για μελλοντική εξέταση**

|  |
| --- |
| **Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα****Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας** |
| **Τέλος Ενότητας** |
| **Χρηματοδότηση*** Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
* Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο ΤΕΙ Αθήνας**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
* Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.

 |

**Σημειώματα**

**Σημείωμα Αναφοράς**

Copyright ΤΕΙ Αθήνας, Ανθούλα Νικολαΐδου, 2014. Ανθούλα Νικολαΐδου. «Παρασιτολογία- Μυκητολογία. Ενότητα 9: Διάγνωση πλασμωδίων μεQBC ». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2014. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: [ocp.teiath.gr](https://ocp.teiath.gr/).

**Σημείωμα Αδειοδότησης**

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό. Οι όροι χρήσης των έργων τρίτων επεξηγούνται στη διαφάνεια «Επεξήγηση όρων χρήσης έργων τρίτων».

Τα έργα για τα οποία έχει ζητηθεί άδεια αναφέρονται στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».

[1] http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:

* που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
* που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
* που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο

Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

**Επεξήγηση όρων χρήσης έργων τρίτων**

|  |  |
| --- | --- |
| © | Δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου, παρά μόνο εάν ζητηθεί εκ νέου άδεια από το δημιουργό. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου και η δημιουργία παραγώγων αυτού με απλή αναφορά του δημιουργού. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-SA | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού, και διάθεση του έργου ή του παράγωγου αυτού με την ίδια άδεια. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-ND | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού. Δεν επιτρέπεται η δημιουργία παραγώγων του έργου. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-NC | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού. Δεν επιτρέπεται η εμπορική χρήση του έργου. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-NC-SA | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού και διάθεση του έργου ή του παράγωγου αυτού με την ίδια άδεια. Δεν επιτρέπεται η εμπορική χρήση του έργου. |
| διαθέσιμο με άδεια CC-BY-NC-ND | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου με αναφορά του δημιουργού. Δεν επιτρέπεται η εμπορική χρήση του έργου και η δημιουργία παραγώγων του. |
| διαθέσιμο με άδεια CC0 Public Domain | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου, η δημιουργία παραγώγων αυτού και η εμπορική του χρήση, χωρίς αναφορά του δημιουργού. |
| διαθέσιμο ως κοινό κτήμα | Επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου, η δημιουργία παραγώγων αυτού και η εμπορική του χρήση, χωρίς αναφορά του δημιουργού. |
| χωρίς σήμανση | Συνήθως δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση του έργου. |

**Διατήρηση Σημειωμάτων**

* Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:
* το Σημείωμα Αναφοράς
* το Σημείωμα Αδειοδότησης
* τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
* το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

**Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων**

Το Έργο αυτό κάνει χρήση περιεχομένου:

* Ιστοσελίδα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας <http://who.int>