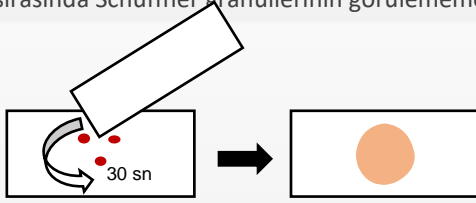
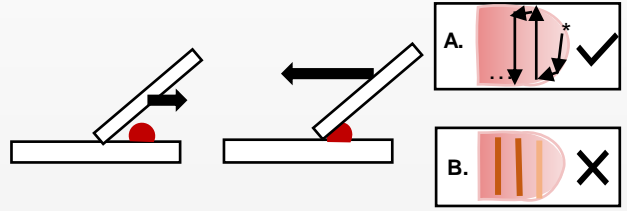


Sıtma, vektör *Anopheles* cinsi dişi sivrisineklerin kan emmesi sırasında konağa etken *Plasmodium* sporozoitlerini aktarması ile oluşur. Sıtma gibi vektör aracılı enfeksiyon hastalıkları afet sonrası erken dönemde bir tehdit oluşturmasa da ilerleyen dönemde ciddi sorunlara sebep olabileceği öngörülen etkenler arasındadır. Ateş etiolojisi araştırılan hastalarda seyahat öyküsü mutlaka sorgulanmalıdır. Sıtma şüphesi acil bir durumdur; **tedavisiz olguların fatal seyredebilmesi nedeniyle hızlı tanı ve tedavi kritik önem taşır**. Ülkemizde 2010 yılından beri yerli yeni vaka görülmemekte, yurt dışı kaynaklı olgular saptanmaktadır.

Tanıda altın standart yöntem kalın damla ve ince yayma örneklerinin Giemsa ile boyanması ve x100'lük büyütmede immersiyon yağı kullanılarak etken varlığı açısından araştırılmasıdır. Sıtma tanısı için en uygun örnek hastanın **parmak ucundan alınacak kapiller periferik kandır**. Bunun yerine EDTA'lı venöz kandan preparat hazırlanacaksa örnek alındıktan sonraki bir saat içinde preparatlar hazırlanmalıdır, aksi takdirde inceleme sırasında Schüffner granüllerinin görülebilmesi vb. sorunlar yaşanabilir.



Şekil 1. Kalın damla preparatının hazırlanması



Şekil 2. İnce yayma preparatının hazırlanması  
A. Uygun preparat  
B. Preparatta tereddüt çizgileri oluşumu

## Kalın Damla ve İnce Yayma Hazırlanışı:

Kullanılacak lamlar %70 etil alkollü gazlı bez ile silinerek hazırlanmalıdır. Kirli olduğu düşünülen lamlar etil alkolle muamele öncesinde deterjanla yıkanmalıdır. Parmak pulpası cilt antisepsisi sağlandıktan sonra lanset ile delinir. İlk damla kan steril gazlı bez ile silinir. Parazitlerin ekstraselüler mayii ile seyreltilmesini önlemek için pulpa sıkılmadan, kendiliğinden gelen kandan kalın damla için 2-3 damla ve ince yayma için 1 damla kan alınması yeterlidir. Preparatlar yedekli olarak hazırlanır. Kalın damla için preparat üzerine alınan kan damlaları fibrin oluşumunu önlemek için başka bir lamın köşesi ile 30 sn süreyle ~2 cm çapında bir daire oluşturacak şekilde karıştırılır (Şekil 1) ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılır. Preparat daha sonra boyanacaksa, uzun süre bekleyerek fikse olmasını önlemek için, kuruma sonrası tamponlu suda bekletilmelidir.

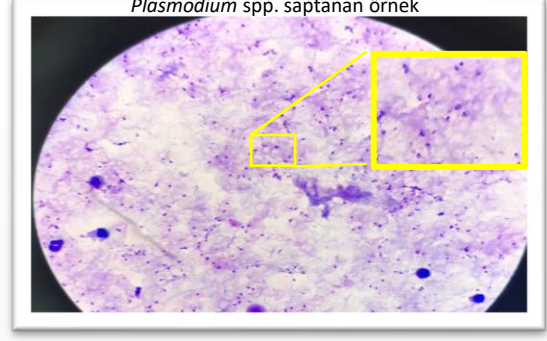
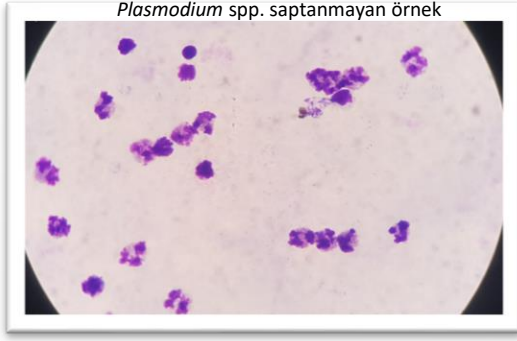
İnce yayma ise başka bir lamın kısa kenarı kapiller etki ile kanı tüm lam kısa kenarına dağıtacak şekilde dar açıyla kan damlasına temas ettirilip diğer yönde kararlı, tek hareket ile lama yayılır (Şekil 2). İnce yayma ve kalın damla oda sıcaklığında tamamen kuruduktan sonra ince yayma asetonsuz saf metanol ile 1 dakika fikse edilip kurutularak kalın damla ise fikse edilmeden taze hazırlanmış Giemsa ile boyama yapılır.

## Reaktifler: Stok Giemsa boyası, fosfatlı tamponlu su, pH 7.2

Reaktifler ile hazırlanan %2.5'lük Giemsa boyası bulunan şalede preparatlar 40 dakika boyanır. Ardından ince yaymalar sadece tamponlu su içeren şaleye 3-4 defa batırılarak yıkanırken kalın damla 5 dakika bekletilmelidir.

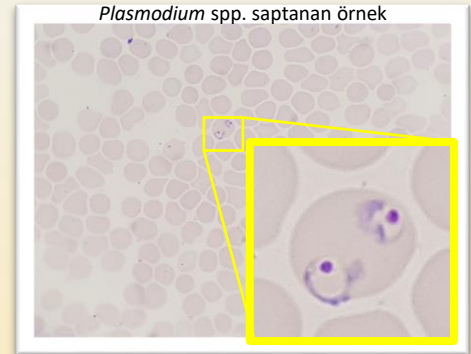
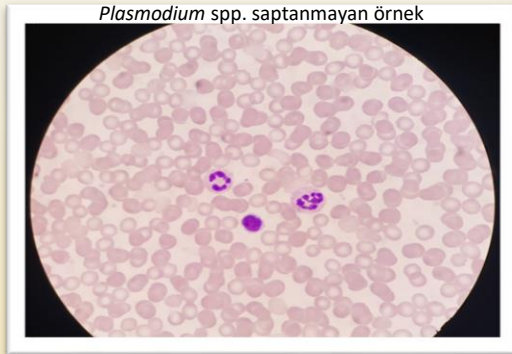
Daha yüksek yüzdeyle hazırlanmış (%10'lük) boya ile boyama süresi daha kısa (10 dk) olmakla birlikte, uzun boyama süresi değerlendirmeyi daha etkili kılmaktadır.

Boyama için kullanılacak Giemsa solüsyonu, her boyama için stok solüsyondan hazırlanmalı ve 1 saat içinde boyama yapılmalıdır.



Şekil 3. Giemsa boyalı kalın damla preparatlarının immersiyon objektifi (x100) görüntüsü

- **Kalın damla** ile tek bir mikroskop sahasında ince yayma preparatına göre 20 kat daha fazla örnek incelenir.
- *Kalın damla fikse edilmez.* Bu nedenle eritrositler ozmotik parçalanmaya uğrar ve paraziter etkenler açığa çıkmış şekilde gözlenir.
- Doğru yoğunlukta hazırlanmış kalın damla preparatı, yazılı bir kağıt üzerine koyulduğunda preparatın altında kalan yazı ancak okunabilecek şekilde olmalıdır. Mikroskopik olarak ise her alanda yaklaşık 20 lökosit görülmelidir.
- Örnekte paraziter etken olmadığını söyleyebilmek için en az 300 alan taramış olmak gerekir.
- *Parazit saptanmayan örnek sıtma tanısını dışlamaz.* Klinik şüphenin devamı halinde 8-12 saat aralıklarla yeni hasta örnekleri incelenmelidir.



Şekil 4. Giemsa boyalı ince yayma preparatlarının immersiyon objektifi (x100) görüntüsü

- **İnce yayma** metanol ile fikse edilir. Eritrositler intaktır, parçalanmaya uğramaz.
- Parazite ait evrim şekillerinin incelenerek *Plasmodium* türlerinin tür düzeyinde ayırımını yapmayı sağlar. İncelemeye preparatın eritrositlerin süperpoze olmadığı tek tek düştüğü alandan başlanmalıdır (Şekil 2.A).
- Tedavi öncesi ve sonrası etken saptanan tüm preparatlarda, prognoz ve tedavi başarısı hakkında bilgi vereceği için, enfekte eritrosit yüzdesi hesaplanmalıdır.

**Tablo 1.** İnsanı enfekte eden *Plasmodium* türlerine ait genel özellikler

|   | <i>P. vivax-P. ovale</i>   | <i>P. falciparum</i>  | <i>P. malariae</i>                                      | <i>P. knowlesi</i>   |
|---|--|---|---|--|
| <b>İnkübasyon süresi</b>                | ~ 14 gün   | ~ 12 gün  | ~ 28 gün  | 9-12 gün   |
| <b>Enfekte ettiği eritrosit</b>         | Retikülosit  | Hepsi   | Olgun eritrosit   | Hepsi  |
| <b>Döngü süresi</b>                     | 48 saat  | 36-48 saat  | 72 saat   | 24 saat  |
| <b>Parazitemi yüzdesi</b>               | <%2  | ≥ %10   | <%2   | Yüksek olabilir  |
| <b>Granül çeşidi</b>                    | Schüffner  | Maurer  | Ziemann   | İlerleyen döngülerde soluk tanecikler  |
| <b>Rekürrens</b>                        | Relaps   | Görülmez  | Rekrüdesens   | Görülmez   |
| <b>Genç trofozoit</b>                   | Taşlı yüzük şeklinde, eritrosit içinde bir adet bulunur, eritrositin 1/3'ünü kaplar (diğer türlere göre büyük) | Taşlı yüzük şeklinde, tek eritrositte birden fazla görülebilir, parçalı çekirdekli olabilir (walkman kulaklığı) | Taşlı yüzük şeklinde, eritrosit içinde bir adet bulunur | Taşlı yüzük şeklinde, tek eritrositte birden fazla görülebilir, birden çok çekirdekli olabilir |
| <b>Olgun trofozoit şekli</b>            | Ameboid  | Ameboid   | Bant şeklinde olabilir                                  | Bant şeklinde olabilir   |
| <b>Şizontta bulunan merozoit sayısı</b> | <i>P. vivax</i> 12-24<br><i>P. ovale</i> 6-12  | 16 (8-24)   | 6-12  | 16   |
| <b>Makrogametosit şekli</b>             | Yuvarlak   | Muz şeklinde  | Yuvarlak  | Yuvarlak   |

- Örneklerin hazırlanması sırasında kan kaynaklı patojenlerin bulaşını önlemek için eldiven mutlaka giyilmelidir.
- İnce yayma preparatlarının fiksasyonunda kullanılan metanolün yanıcı, parlayıcı ve toksik olduğu unutulmamalıdır.
- Taze preparatlar havada kuruma aşamasında vektörlerin ulaşamayacağı şekilde muhafaza edilmelidir.
- Endemik bölgede sahada zaman ve iş gücünü etkin kullanmak adına varsa hızlı antijen testleri kullanılabilir. Ancak düşük parazitemili olgularda hızlı antijen testlerinin negatif sonuç vereceği akılda tutulmalı, en kısa sürede mikroskopik inceleme ile yapılmalıdır.
- Kalın damla preparatlar daha sonra boyanacaksa, fikse olmasını önlemek için, kuruma sonrası tamponlu suda bekletilmelidir.
- Referans laboratuvara örnek göndermek için filtre kağıdına periferik kapiller kan veya tam kan damlatılabilir ya da EDTA'lı tüpte örnek iletilebilir.
- Falciparum sıtmasının sıklıkla yüksek parazitemi ve şiddetli klinik seyre yol açtığı ve bu türde klorokine yaygın direnç saptandığı unutulmamalıdır.

## Kaynaklar

1. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. TC Sağlık Bakanlığı THSK Başkanlığı Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı Ankara – 2014. Cilt III. Sıtma.
2. Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. 6th edition. Washington, DC ASM Press, 2016.
3. Malaria. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>.
4. Özmen Çapın BB, Sönmezer MÇ, Tortop S, Ünalın T, Bölek H, Altıntop SE, İnkaya AÇ, Metan G, Ergüven S. Sıtma profilaksi ve erken tanı için farkındalığın önemi: Türkiye'de yurt dışı kaynaklı iki sıtma olgusu. Mikrobiyol Bul 2019;53(4):472-479.