हेल्थ एण्ड वेलनेस सेंटर - प्राथमिक स्वास्थ्य केन्द्र के प्रयोगशाला टेक्नीशियन के लिए मैनुअल

प्राथमिक स्वास्थ्य केन्द्र (हेल्थ एण्ड वेलनेस सेंटर) के प्रयोगशाला टेक्नीशियन के लिए मैनुअल

विषय सूची

अध्याय - 1	मैनुअल के उद्देश्य	1
अध्याय - 2	उपकरणों व उपभोज्य सामग्री की जानकरी	4
अध्याय - 3	अभिकारक और उन्हें बनाना	14
अध्याय - 4	स्वच्छता एवं निर्जीवीकरण	24
अध्याय - 5	प्रयोगशाला के कचरे का निपटान	36
अध्याय - 6	प्रयोगशाला में सुरक्षा	38
अध्याय - 7	सूक्ष्मदर्शी	44
अध्याय - 8	रक्त की जांच	58
अध्याय - 9	पेशाब की जांच	107
अध्याय - 10	मल की जांच	123
अध्याय - 11	वीर्य के नमूने की जांच	161
अध्याय - 12	योनि स्राव की जांच	165
अध्याय - 13	बैक्टीरिया विज्ञान	167
अध्याय - 14	मस्तिष्क - मेरूरज्जू द्रव की जांच	179
अध्याय - 15	जल में मानव अपशिष्ट की जांच H_2S स्ट्रिप टेस्ट	186
अध्याय - 16	सिकलसेल हीमोग्लोबीन का त्वरित परीक्षण	187
अध्याय - 17	मधुमेह (डायबिटीज) की जांच	196
अध्याय - 18	एच.आई.व्ही. एड्स की जांच	203
अध्याय - 19	हेपेटाइटिस बी की जांच	206
अध्याय - 20	डेंगू की जांच	207
अध्याय - 21	सिफलिस की जांच	209
अध्याय - 22	टायफाइड बी की जांच	211

v/;k; & 1
euvy dk mn';

यह मैनुअल मूलतः प्राथमिक स्वास्थ्य केंद्रों की प्रयोगशालाओं में उपयोग के लिए है। इसे खास तौर से इस तरह तैयार किया गया है कि इसका उपयोग छोटे व मध्यम अस्पतालों से सम्बद्ध प्रयोगशालाओं और दवाखानों व ग्रामीण स्वास्थ्य केन्द्रों में किया जा सके, जहां प्रयोगशाला टेक्नीशियन को अक्सर अकेले काम करना पड़ता है। जहां तक संभव है, भाषा को सरल रखा गया है मगर ज़रूरी होने पर तकनीकी शब्दों का उपयोग भी किया गया है।

मैनुअल में जिन परीक्षणों की जानकारी दी गई है, उन्हें एक सूक्ष्मदर्शी या अन्य साधारण उपकरणों की मदद से किया जा सकता है। निम्नलिखित परीक्षण विधियां शामिल की गई हैं:

- कृमियों के अण्डों हेतु मल की जांच ।
- मलेरिया परजीवी हेतु रक्त की जांच ।
- टी.बी. बैक्टीरिया हेतु खखार की जांच ।
- पेशाब में पित्त वर्णकों की जांच ।
- रक्त में विभिन्न किस्म की श्वेत रक्त कोशिकाओं (ल्यूकोसाइट्स) की संख्या की जांच - अलग-अलग किस्म के ल्यूकोसाइट संख्या यानी डी.एल.सी.।

मकसद यह है कि ऐसी बुनियादी प्रयोगशाला तकनीकों की विधियां बताई जाएं जो परिधीय प्रयोगशालाओं में उपयोगी हैं और चंद साधारण उपकरणों की मदद से की जा सकती हैं।

अभिकारक व उपकरण

अभिकारक

प्रत्येक अभिकारक को एक क्रमांक दिया गया है। प्रत्येक तकनीक की विधि बताते समय अभिकारक का नाम और क्रमांक दोनों दिए गए हैं। अध्याय के अंत में परिशिष्ट में वर्णमाला क्रम में सारे अभिकारकों की सूची, उनके क्रमांक, बनाने की विधि और भण्डारण की जरूरतों की जानकारी दी गई है। उदाहरण के लिए, ग्राम अभिरंजन के लिए क्रिस्टल वायलेट, संशोधित हकर अभिकारक (क्रमांक 18) की ज़रूरत होती है। क्रिस्टल वायलेट का संघटन और इसे बनाने की विधि परिशिष्ट में वर्णमाला क्रम सूची में दी गई है।

उपकरण

प्रत्येक तकनीक में लगने वाले उपकरणों की सूची उस खण्ड के शुरू में दी गई है। इस मैनुअल में दिए गए सारे परीक्षणों को करने के लिए प्रयोगशाला में ज़रूरी उपकरणों की सूची भी प्रस्तुत की गई है।

यदि कोई उपकरण विशेष उपलब्ध न हों, तो उपयुक्त विकल्प की जानकारी भी दी गई। जैसे,.....।

प्रयोगशाला कर्मी की ज़िम्मेदारी

प्रयोगशाला कर्मी प्रयोगशाला में जांच करके यह जानकारी चिकित्सा स्टाफ को उपलब्ध कराते हैं ताकि मरीज़ को लाभ मिल सके। यानी प्रयोगशाला कर्मी मरीज़ को भला-चंगा करने में महत्वपूर्ण भूमिका अदा करते हैं। इसके अलावा, अपना काम करते हुए वे मरीज़ों और उनकी बीमारियों के बारे में काफी जानकारी हासिल कर लेते हैं। चिकित्सा स्टाफ के समान प्रयोगशाला कर्मियों को भी इस जानकारी को निहायत गोपनीय मानना चाहिए। यह जानकारी सिर्फ उस चिकित्सा स्टाफ को दी जानी चाहिए जिसने इस जांच के लिए अनुरोध किया था। यदि कोई मरीज़ अपनी जांच रिपोर्ट के बारे में पूछे तो उसे कह देना चाहिए कि वह चिकित्सा स्टाफ से पूछे।

अधिकांश देशों में चिकित्सा स्टाफ और प्रशिक्षित प्रयोगशाला कर्मियों के लिए नैतिक व व्यावसायिक मानक काफी ऊंचे हैं। चिकित्सकीय सामग्री को संभालने वाले प्रत्येक प्रयोगशाला कर्मी को इन मानकों का ख्याल रखना

चाहिए।

मापन की इकाइयां

प्रयोगशाला में आपको राशियों व मापन की इकाइयों का उपयोग करना होगा। इनके बीच के अंतर को समझना ज़रूरी है। किसी भी मापन योग्य भौतिक गुण को राशि (क्वांटिटी) कहते हैं। ध्यान दें कि 'राशि' शब्द के दो अर्थ हैं - एक वह जो अभी यहां परिभाषित किया गया तथा दूसरा आम बोलचाल का अर्थ ('कितना पदार्थ')। वैज्ञानिक भाषा में लंबाई, ऊंचाई, चाल, तापमान और विद्युत धारा विभिन्न राशियां हैं और इन्हें जिस मानक से नापा जाता है, वे इकाइयां या मात्रक हैं।

चिकित्सा प्रयोगशाला में राशियां और इकाइयां

प्रयोगशाला में आपके तकरीबन सारे काम में राशियों को नापना तथा इन मापन के परिणामों को व्यक्त करने लिए इकाइयों का उपयोग ज़रूरी होगा। मरीज़ का स्वास्थ्य और शायद जीवन इस बात पर निर्भर करेगा कि आप कितनी सावधानी से मापन करते हैं और रिपोर्ट करते हैं। लिहाज़ा आपको निम्नलिखित बातें गहराई से समझ लेनी चाहिए:

- राशियां जिनका आप मापन करते हैं,
- इन राशियों को दिए गए नाम,
- इन राशियों को नापने की इकाइयां।

राशियों के नाम और अंतर्राष्ट्रीय मानक इकाइयां

पिछली दो सदियों में वैज्ञानिकों ने मापन के लिए सरल मानकीकृत इकाइयां विकसित करने के प्रयास किए हैं। मेट्रिक प्रणाली 1901 में लागू की गई थी। उसके बाद इसमें लगातार विस्तार होता रहा और 1960 में इसे 'सिस्टम इंटरनेशनल डी'युनिट्स' का नाम दिया गया (अर्थात् अंतर्राष्ट्रीय इकाई प्रणाली)। इस प्रणाली में शामिल इकाइयों को अंतर्राष्ट्रीय मानक इकाइयां या एस.आई. इकाइयां कहते हैं। विज्ञान, खासकर भौतिक शास्त्र और रसायन शास्त्र में तो 1901 से ही इन इकाइयों का उपयोग बढ़ते क्रम में होने लगा था मगर चिकित्सा विज्ञान में इन्हें 1960 के बाद ही लागू किया गया।

एस.आई. इकाइयों के साथ-साथ चिकित्सा वैज्ञानिकों ने राशियों के नामों की भी एक व्यवस्थित सूची तैयार की है। इनमें से कुछ नाम तो पारंपरिक नाम ही हैं मगर अन्य मामलों में पारंपरिक नाम त्रुटिपूर्ण थे, भ्रामक थे या अस्पष्ट थे। ऐसे नामों की जगह सर्वथा नए नाम लागू किए गए।

इस मैनुअल में एस.आई. इकाइयों और राशियों के वर्तमान स्वीकृत नामों का उपयोग किया गया है। मगर चूंकि कई प्रयोगशालाओं में आज भी कई राशियों के पारंपरिक नामों व इकाइयों का उपयोग किया जाता है, इसलिए इन्हें भी शामिल किया गया है और इनका सम्बंध नए नामों व इकाइयों से दर्शाया गया है।

मैनुअल में प्रयुक्त मापन की इकाइयां

राशि का नाम	इकाई	संक्षिप्त रूप
लंबाई	मीटर	मी.
	सेंटीमीटर	से.मी. (1/100 मी.)
	मिलीमीटर	मि.मी. (1/1000 मी.)
	माइक्रॉन	µ (1/1000000 मी.)
क्षेत्रफल	वर्ग मीटर	मी.^{2}
	वर्ग सेंटीमीटर	से.मी.^{2}
	वर्ग मिलीमीटर	मि.मी.^{2}
आयतन (ठोस)	घन मीटर	मी.^{3}
	घन सेंटीमीटर	से.मी.^{3}

	घन मिलीमीटर	मि.मी.^{2}
आयतन (द्रव)	लीटर	ली. (=1000 से.मी.^{3})
	सेंटीलीटर	से.ली. (=10 से.मी.^{3})
	मिलीलीटर	मि.ली. (=1 से.मी.^{3})
	माइक्रोलीटर	μL (=1 मि.ली.^{3})
वज़न	ग्राम	ग्रा.
	सेंटीग्राम	से.ग्रा.
	मिलीग्राम	मि.ग्रा.
समय	घण्टा	

विभिन्न जांचों के परिणाम अलग-अलग ढंग से व्यक्त किए जाते हैं। उदाहरण के लिए

जांच	परिणाम किस रूप में	उदाहरण
कुल लाल रक्त कोशिका संख्या	प्रति माइक्रोलीटर रक्त में मिलियन लाल रक्त कोशिका	4.5 मिलियन/मि.मी.^{3}
कुल श्वेत रक्त कोशिका संख्या	प्रति माइक्रोलीटर रक्त में श्वेत रक्त कोशिकाओं की संख्या	5000/मि.ली.^{3}
हिमोग्लोबीन	प्रति 100 मिलीलीटर रक्त में हिमोग्लोबिन (ग्राम में)	15.0 ग्राम/ 100 मि.ली.

टीप: हिमोग्लोबीन की मात्रा को प्रतिशत के रूप में भी बताया जा सकता है। इसके लिए किसी एक मात्रा को 100 प्रतिशत मान लेते हैं। जैसे,

पुरुषों के लिए: 15.0 ग्रा/100 मि.ली. हिमोग्लोबीन = 100 प्रतिशत

तो, 10.0 ग्रा./100 मि.ली. हिमोग्लोबीन = 66.7 प्रतिशत

महिलाओं के लिए: 14.5 ग्रा./100 मि.ली. हिमोग्लोबीन = 100 प्रतिशत

तो, 10 ग्राम/100 मि.ली. हिमोग्लोबीन = 68.9 प्रतिशत।

v/;k; & 2

midj.kk ,o miHkkT; lkexh dh tkudkjh

उपकरण

नीचे उपकरणों की सूची दी गई है। इस मैनुअल में दी गई सारी जांचें करने के लिए ये उपकरण प्रयोगशाला में होना चाहिए। ऐसी प्रयोगशाला आम तौर पर किसी छोटे (30 बिस्तर वाले) ग्रामीण अस्पताल में स्थित होगी।

प्रयोगशाला के अनिवार्य उपकरण

1 सूक्ष्मदर्शी(चित्र - 2.1)[1]

प्रयोगशाला में दो सूक्ष्मदर्शी होने चाहिए।

- एक सूक्ष्मदर्शी रक्त अंवेषण (हिमैटोलॉजी) के लिए होगा। इसमें एक तिरछी द्विनेत्री नलिका, एक यांत्रिक मंच, तीन वस्यु लेंस यानी ऑब्जेक्टिव्स (X10, X40 और X100), दो नेत्र लेंस (आई पीस, X5 और X10), एक कंडेंसर और एक बिजली का लैंप होना चाहिए। लैंप ऐसा हो जिसे सामान्य बिजली सप्लाई या बैटरी से जोड़ा जा सके।
- दूसरा सूक्ष्मदर्शी अन्य प्रक्रियाओं (परजीवी जांच, पेशाब की जांच, बैक्टीरिया की जांच वगैरह) के लिए होगा। इसमें भी तिरछी द्विनेत्री नलिका तथा ऊपर बताई गई समस्त सुविधाएं होनी चाहिए।

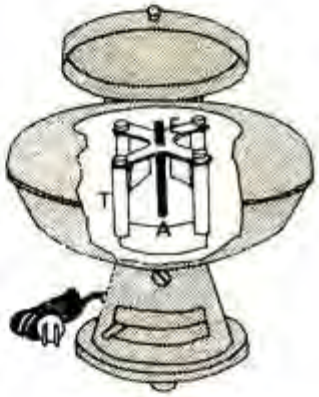
स्वास्थ्य केंद्र के स्तर एक द्विनेत्री सूक्ष्मदर्शी पर्याप्त है।

चित्र - 2.1 सूक्ष्मदर्शी

2 सेंट्रीफ्यूज (चित्र - 2.2) (अपकेन्द्रण यंत्र)[2]

दो सेंट्रीफ्यूज उपयोगी होंगे:

- एक बिजली चालित सेंट्रीफ्यूज
- एक हस्तचालित या चार परख नली वाला बिजली चालित सेंट्रीफ्यूज

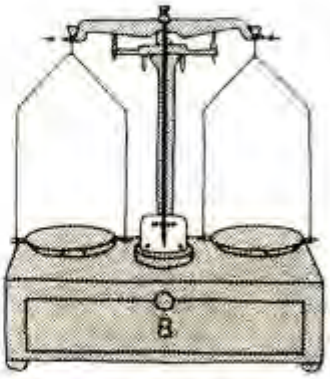


चित्र - 2.2 सेंट्रीफ्यूज

3 तुला (चित्र - 2.3) (तराजू)[3]

यदि अभिकारक प्रयोगशाला में ही बनाना है, तो एक विश्लेषण तुला और बाट ज़रूरी हैं।

यदि प्रयोगशाला में कई तरह के अभिकारक बनाना है, तो बेहतर होगा कि दो पलड़ों वाली तराजू और बाट उपलब्ध हों (देखें खण्ड 3.2.2)।



चित्र - 2.3 तुला या तराजू

4 रेफ्रिजरेटर

अभिकारकों (जैसे गर्भावस्था जांच के अभिकारक) तथा सामग्री (जैसे नमूने, कुछ वाहक माध्यम वगैरह) को रेफ्रिजरेटर में रखना चाहिए।

5 वॉटर बाथ

तापमान नियंत्रण के लिए थर्मोस्टेट से युक्त वॉटर बाथ तब ज़रूरी होता है जब नमूनों और सामग्रियों को एक निश्चित तापमान पर रखना हो और अभिकारक एक निश्चित तापमान पर बनाना हो।

6 विभेदी गणक (डिफ्रेंशियल काउन्टर)

यह सही है कि हाथ से गिनती करने वाले काउण्टर से काम चल जाता है मगर डिफ्रेंशियल काउन्टर से समय की बचत होती है।

7 प्रकाशमापी (फोटोमीटर) या रंगमापी (कलरीमीटर)

रक्त की रासायनिक जांच और हिमोग्लोबीन की सही मात्रा ज्ञात करने के लिए प्रकाशमापी या रंगमापी आवश्यक है। इनके बैटरी चालित मॉडल उपलब्ध हैं।

अतिरिक्त चीज़ें

8 ऑटोक्लेव

यदि प्रयोगशाला किसी अस्पताल में स्थित है तो अस्पताल की निर्जीवीकरण सुविधा का उपयोग किया जा सकता है। यदि प्रयोगशाला किसी स्वास्थ्य केंद्र में है, तो निम्न में से कोई एक उपकरण ज़रूरी होगा (देखें पृष्ठ क्र. .....):

- एक छोटा ऑटोक्लेव (बिजली या स्टोव या एल.पी.जी. से चलने वाला)
- एक प्रेशर कुकर
- गर्म हवा का ओवन

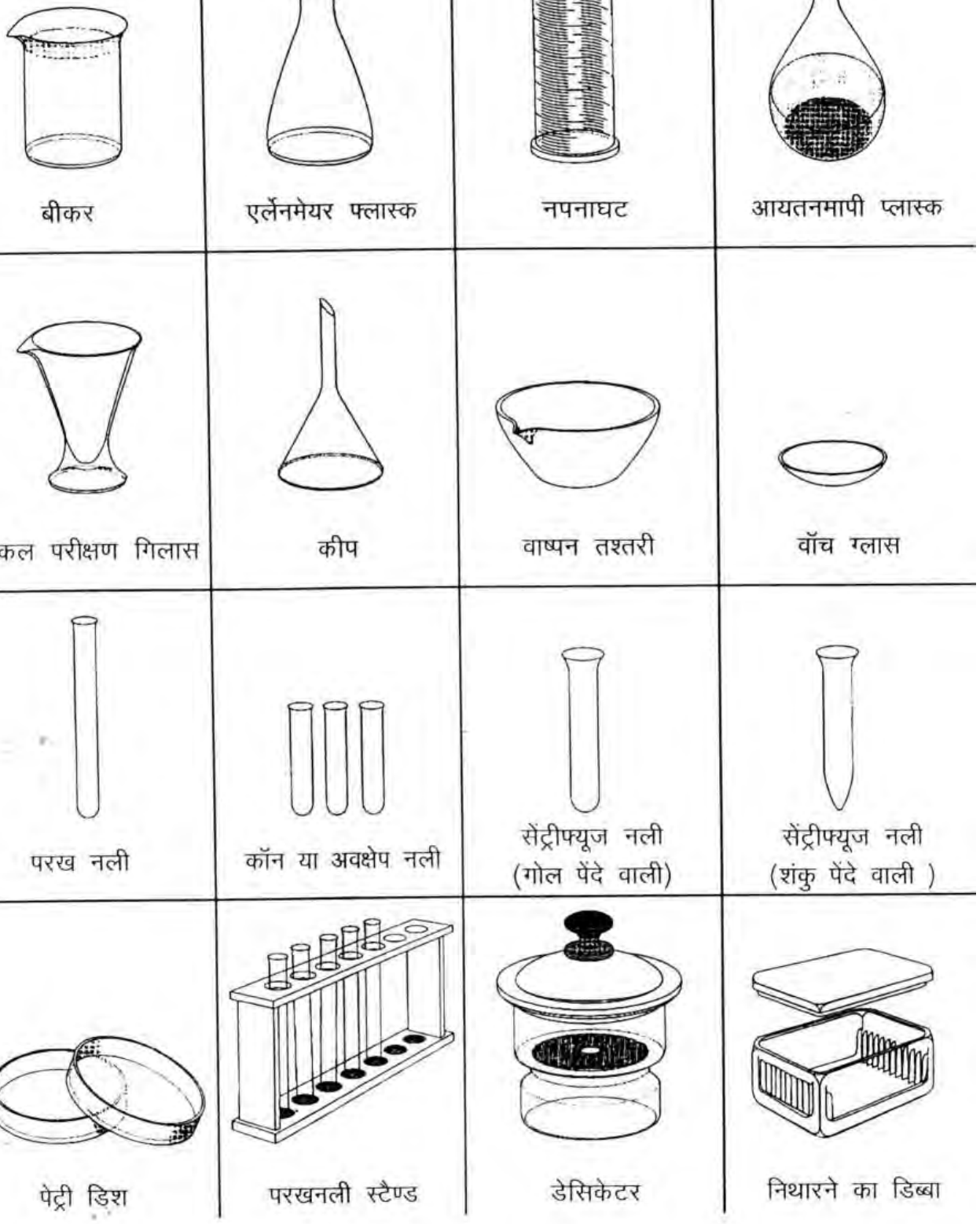
यदि प्रयोगशाला काफी बड़ी है, तो ऑटोक्लेव के साथ-साथ एक गर्म हवा का ओवन उपयोगी होता है जिसमें कांच के उपकरण सुखाए जा सकते हैं और निर्जीवीकरण किया जा सकता है (देखें पृष्ठ क्र. .....)।

प्रयोगशाला के लिए ज़रूरी कांच के उपकरण और उपभोज्य सामग्री

छोटे उपकरण व सामग्री

किसी परिधि स्तर (छोटे स्तर) की स्वास्थ्य प्रयोगशाला के लिए उपकरणों व सामग्री की सूची तालिका 2.2 में दी गई है। तालिका में निर्दिष्ट मात्राएं एक-दो टेक्नीशियन वाली प्रयोगशाला में 6 माह की अवधि तक प्रतिदिन 20-50 जांच करने के लिए पर्याप्त है। कांच का सामान और छोटे उपकरण चित्र 2.4 एवं 2.5 में दिखाए गए हैं।

(a)



चित्र 2.4 कांच के सामान एवं उपकरण लेबोरेट री उपयोग हेतु

(b)

बुंसन बर्नर

स्पिरिट लैम्प

मैकर बर्नर

त्रिपाद और ऐस्बेस्टस जाली

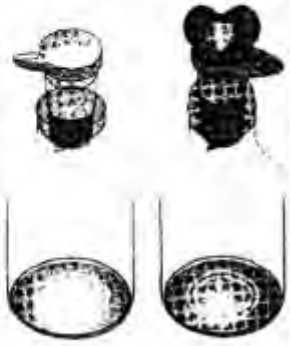
रबर सेफ्टी बल्ब

परख नली पकड़ (लकड़ी)

स्लाइड चिमटी

खल-बत्ता

टाइमर



ड्रॉप बोतल

वॉश बोतल

तापमापी

चित्र 2.5 कांच के सामान एवं उपकरण लेबोरेटरी उपयोग हेतु

तालिका 2.2 : परिधि स्तर की स्वास्थ्य प्रयोगशाला के लिए उपकरण व सामग्री

वस्तु	ज़रूरी मात्रा
नमूना प्राप्त करने के उपकरण	
अनिवार्य उपकरण	
सिरिंज, अंकित (ग्रेजुएटेड), फेंकने योग्य (डिस्पोज़ेबल), 20 मि.ली.	ज़रूरत के मुताबिक
सिरिंज, अंकित, फेंकने योग्य (डिस्पोज़ेबल), 10 मि.ली.	जरूरत के मुताबिक
सिरिंज, अंकित, फेंकने योग्य (डिस्पोज़ेबल), 5 मि.ली.	जरूरत के मुताबिक
सुई, फेंकने योग्य (डिस्पोज़ेबल), 18 गेज (1.2 मि.मी.) X 40 मि.मी.	जरूरत के मुताबिक
सुई, फेकने योग्य (डिस्पोज़ेबल), 19 गेज (1.0-1.1 मि.मी.) X 40 मि.मी.	जरूरत के मुताबिक
सुई, फेकने योग्य (डिस्पोज़ेबल), 20 गेज (0.9 मि.मी.) X 40 मि.मी.	जरूरत के मुताबिक
सुई, फेकने योग्य (डिस्पोज़ेबल), 22 गेज (0.7 मि.मी.) X 40 मि.मी.	जरूरत के मुताबिक
रक्तबंध (टूर्नीकेट) के लिए रबर की नली, 2-5 मि.मी. सुराख वाली	2 नग
कौशिका नली से रक्त लेने के लिए लैन्सेट (छुरी)	जरूरत के मुताबिक
रूई, सफेद, अवशोषक	2X500 ग्रा.
रूई, सफेद, गैर-अवशोषक	2X500 ग्रा.
खाली शीशियां (5, 10, 20 मि.ली.)	जितनी मिल सकें
अतिरिक्त उपकरण	
फेंकने योग्य ब्लेड वाली छुरी जिससे त्वचा का स्मीयर लेते है (कुष्ठ के लिए)	1
टेढ़ी टांग वाली चिमटी, बगैर दांत वाली जिससे त्वचा का स्मीयर लेते है (कुष्ठ के लिए)	1
मल का नमूना लेने के लिए प्लास्टिक या कार्डबोर्ड के डिब्बे, फेंकने योग्य	50
दवा लगाने का लकड़ी का उपकरण 12से.मी.X1मि.मी. (स्थानीय स्तर पर बनवाया जा सकता है)	50
शीशियां, 2.5 व 5 मि.ली., यथासंभव प्लास्टिक	50
शीशियां, चौड़ा मुंह, विभिन्न साइज़, पेशाब का नमूना लेने के लिए	20-40
जीभ दबाकर रखने का उपकरण, लकड़ी का	50
कांच का सामान	
अनिवार्य सामान	
कांच की छड़, ठोस, व्यास 6 मि.मी.	3
बीकर, प्लास्टिक, चपटा, 50 मि.ली.	4
बीकर, प्लास्टिक, चपटा, 100 मि.ली.	4
बीकर, प्लास्टिक, चपटा, 250 मि.ली.	4
अभिरंजन द्रोणिका (स्टेनिंग ट्रफ) 20 स्लाइड्स के लिए	4
कीप, कांच, 90 मि.मी. व्यास	2
बीकर, अंकित, कांच, 50 मि.ली.	3
बीकर, अंकित, कांच, 100 मि.ली.	3
फ्लास्क, एर्लेनमेयर, ऊष्मासह (हीट रजिस्टेंट), चौड़ा मुंह, 500 मि.ली.	3

ड्रॉप बोतल, प्लास्टिक या कांच, 100 मि.ली.	12
अभिकारक (री-एजेंट) बोतल, प्लास्टिक या कांच, 100 मि.ली.	20
अभिकारक (री-एजेंट) बोतल, प्लास्टिक या कांच, 500 मि.ली.	10
सूक्ष्मदर्शी स्लाइड 25X75 मि.मी.	2X1000
कवर स्लिप 20 मि.मी.X20 मि.मी.	20X100
वॉश बोतल, प्लास्टिक, 500 मि.ली..	2
पिपेट, अंकित (ऊपर से, सिरे से नहीं), 1 मि.ली. (प्रत्येक निशान 0.01 मि.ली.)	12
पिपेट, अंकित (ऊपर से, सिरे से नहीं), 2 मि.ली. (प्रत्येक निशान 0.01 मि.ली.)	10
पिपेट, अंकित (ऊपर से, सिरे से नहीं), 5 मि.ली. (प्रत्येक निशान 0.1 मि.ली.)	10
पिपेट, पाश्चर	2X144
परखनलियां, ऊष्मासह (हीट रजिस्टेंट), 150 मि.मी. X 16 मि.मी.	50
परखनलियां, ऊष्मासह (हीट रजिस्टेंट), 50 मि.मी. X 6 मि.मी. (क्रॉस मैचिंग नलियां)	20
सैंट्रीफ्यूज (अपकेंद्रण) नलियां, शंकु आकार, 15 मि.ली.	40
सैंट्रीफ्यूज नलियां, शंकु, अंकित (प्रत्येक भाग 0.1 मि.ली.), 15 मि.ली.	50
अन्य वस्तुएं	
पेट्री डिश, कांच, व्यास 112 मि.मी.	4
पेट्री डिश, कांच, व्यास 156 मि.मी.	4
रक्त विश्लेषण (हिमैटोलॉजी) के लिए उपकरण	
पिपेट, साहली, 0.02 मि.ली., रबर ट्यूब समेत	30
पिपेट, रक्त, 0.05 मि.ली.	20
काउण्टिंग चैम्बर्स, उन्नत न्यूबौर (संभव हो, तो चमकदार रेखा युक्त)	3
काउण्टिंग चैम्बर, फुक्स रोज़ेन्थल	1
कवर स्लिप्स, प्रकाशीय दृष्टि से समतल, काउण्टिंग चैम्बर के लिए	12
टैली काउण्टर	1
नलियां, वेस्टरग्रेन, एरिथ्रोसाइट तलछटीकरण दर के लिए	3
वेस्टरग्रेन नलियों का स्टैण्ड	2
बैक्टीरिया व जैव रासायनिक परीक्षणों के लिए	
प्रोटीन मानक नलियां	1 सेट
परखनली स्टैण्ड, बड़ा, 12 परखनलियों के लिए	4
परखनली स्टैण्ड, छोटा, 12 परखनलियों के लिए	4
लकड़ी की परखनली पकड़	2
चिमटी, स्टेनलेस स्टील, स्लाइड के लिए	2
बुंसन बर्नर, एल.पी.जी. के लिए	1
एल.पी.जी. गैस सिलेंडर	ज़रूरत के मुताबिक

प्रयोगशाला रिकॉर्ड और रिपोर्ट	6
रिकॉर्ड बुक, पुष्टे वाली, बड़ी	12
ग्लास मार्किंग पेंसिल, मोम, लाल	12
ग्लास मार्किंग पेंसिल, मोम, नीली	1
पेंसिल, सीसे वाली	12
पेन, बॉल पॉइन्ट, लाल स्याही (धनात्मक नमूनों को चिन्हित करने हेतु)	2
पेन, बॉल पॉइन्ट नीली या काली स्याही	3
सेलोफेन टेप	3 रोल
एडहेसिव टेप, सफेद	3 रोल
नमूनों की शीशियों के लिए लेबल	1000
प्रयोगशाला के लिए सामग्री आवेदन प्रपत्र (सभवतः मानकीकृत)	ज़रूरत के मुताबिक
सूक्ष्मदर्शी	2
रंगमापी (कोलोरीमीटर)	1
वॉटर बाथ	1
रेफ्रीजरेटर	1
गर्म हवा का ओवन	1
सेंट्रीफ्यूज	1
तराजू	2
अलार्मयुक्त टाइमर, 0-60 मिनट	1
स्पिरिट लैम्प	1
एम्पूल काटने की आरी	12
हॉट प्लेट	1
प्लास्टिक के कटोरे (50 से.मी X 30 से.मी.)	3
बाल्टी, प्लास्टिक, 12 लीटर	1
कैंची, मझोली	1
कैंची, बड़ी	1
तापमापी 0-100^0 सेल्सियस	1
डाट, रबर	1 सेट
डाट, कॉर्क	1 सेट
परखनली व बोतलें साफ करने के ब्रुश (विभिन्न साइज़)	6
छन्ना कागज़, 15 से.मी. व्यास (व्हाटमैन क्रमांक 1 या समकक्ष)	4 डिब्बे
पीएच कागज़, कम परास (6.8-7.2)	6 गड्डियां
पीएच कागज़, विस्तृत परास (0-12)	6 गड्डियां
लेंस कागज़	2 पैकेट
टायलेट टिशू	ज़रूरत के मुताबिक
इमर्शन तेल (10 मि.ली. प्रति बोतल)	6 बोतल

नमूना पात्र

प्रयोगशाला में मल, रक्त, पेशाब और खखार के नमूने रखने के लिए अलग-अलग प्रकार के पात्रों का उपयोग किया जाता है।

1. मल के नमूनों के लिए पात्र

मल के नमूने एकत्रित करने के लिए निम्नलिखित किस्म के पात्र उपयुक्त होते हैं (चित्र 2.6)

- मोम चढ़े कार्ड बोर्ड के डिब्बे
- ढक्कन वाले टीन के डिब्बे
- हल्के-फुल्के प्लास्टिक के डिब्बे
- खास तौर से मल का नमूना एकत्रित करने के लिए काच का जार, इसके ढक्कन में एक चम्मच होता है।

2. रक्त के नमूने लेने के लिए शीशियां और परखनलियां

(i) थक्कारोधी के बगैर

रक्त का नमूना लेने के लिए सबसे बढ़िया परखनली वह होती है जिसे सेंट्रीफ्यूज किया जा सके। इससे फायदा यह होता है कि नमूने को बेवजह निकालना-डालना नहीं पड़ता।

☐ ज़रूरत के मुताबिक 5-20 मि.ली. क्षमता की साफ, सूखी परखनली का उपयोग करें।

(ii) हिमैटोलॉजिकल परीक्षण के लिए थक्कारोधी समेत

ई.डी.टी.ए. डाई पोटेशियम लवण[1]

5 मि.ली. की शीशियों में प्रत्येक में 0.5 मि.ली. ई.डी.टी.ए. डाईपोटेशियम लवण का 10 प्रतिशत घोल डालिए (चित्र 2.7)। (या 2 मि.ली. की शीशियों में 0.2 मि.ली. घोल डालिए।) खुली शीशियों को इन्क्यूबेटर में 37° सेल्सियस तापमान पर रखिए या यदि इन्क्यूबेटर उपलब्ध न हो, तो शीशियों को कमरे के तापमान पर ही सूखने दीजिए।

चित्र 2.6 मल के नमूनों के लिए पात्र

1. इथायलीन डायअमीन टेट्रा एसिटिक एसिड (एडिटिक एसिड भी कहते हैं)।

2.7 रक्त के नमूने लेने से पहले परख नलियों में ई.डी.टी.ए. घोल डालें

इन शीशियों का उपयोग निम्नलिखित जांच के लिए करें:

- रक्त कोशिका संख्या
- हिमोग्लोबीन मापन

ट्राईसोडियम साइट्रेट

ट्राइसोडियम साइट्रेट के 3.2 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 60) का उपयोग एरिथ्रोसाइट तलछटीकरण दर के मापन में किया जाता है।

4 मि.ली.रक्त के लिए 1 मि.ली. ट्राईसोडियम साइट्रेट घोल (या 1.6 मि.ली. रक्त के लिए 0.4 मि.ली.) का उपयोग कीजिए।

ज़रूरी टीप: साइट्रेट युक्म रक्त में रक्त कोशिका संख्या मापन कदापि न करें।

(iii) थक्कारोधी सहित, जैव रासायनिक जांच हेतु

जैव रासायनिक जांच के लिए आम तौर पर सोडियम फ्लोराइड का उपयोग थक्कारोधी के रूप में किया जाता है। 10 मि.ली. रक्त के लिए 10 मि.ग्रा. या 2 मि.ली. रक्त के लिए 2 मि.ग्रा. सोडियम फ्लोराइड चूर्ण का उपयोग करें। इसका उपयोग निम्नलिखित परीक्षणों के लिए करें:

- रक्त ग्लूकोज़ मापन
- रक्त यूरिया मापन

चेतावनी: सोडियम फ्लोराइड ज़हर है।

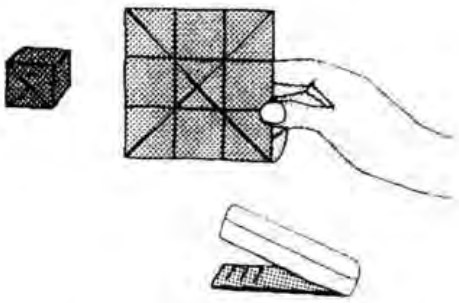
थक्का रोधी उपयोग में सावधानियां

रक्त का नमूना एकत्रित करते ही थक्कारोधी मिला दें। मिलाने के लिए शीशी को कई बार धीरे-धीरे उल्टा सीधा करें। हिलाएं नहीं।

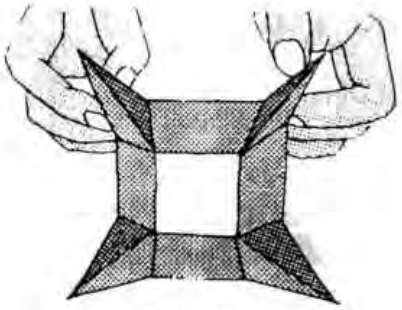
साफ शीशियो का उपयोग करें। थक्का रोधी डालने से पहले शीशी को सुखा लें।

चेतावनी: थोड़ा सा भी डिटर्जेन्ट हुआ तो वह एरिथ्रोसाइट को घोल लेगा। सुखाने से पहले शीशियो को अच्छी तरह धो लें।

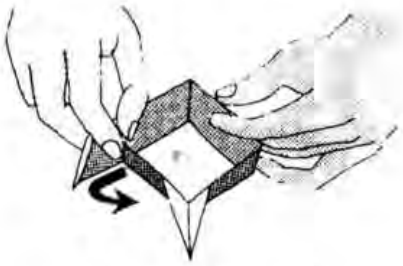
थक्का रोधी वाली शीशियों को सूखी जगह पर रखें। ई.डी.टी.ए. घोल और सोडियम फलोराइड तो सामान्य तापमान पर टिकाऊ होते हैं मगर ट्राईसोडियम साइट्रेट और हिपेरिन को रेफ्रिजरेटर में रखना चाहिए।



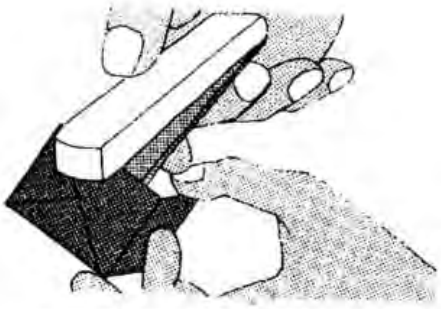
2.8 खखार के नमूने के लिए कार्ड बोर्ड को मोड़ना



2.9 कोनों को अंदर मोड़ें



2.10 दो कोनों को मोड़कर एक साइड से चिपका दें



2.11 मुड़े हुए कोनों को स्टेपल कर दें

सही अनुपात का ध्यान रखें। या तो ऐसी शीशियों व परख नलियों का उपयोग करें जिन पर माप अंकित हो या एक ऐसा लेबल चिपका दें जिसका ऊपरी किनारा अभिकारक की सही मात्रा (2 मि.ली., 5 मि.ली.वगैरह) दर्शाता हो।

अन्य नमूने लेने के लिए शीशियां व परख नलियां

3. **पेशाब** - साफ, सूखे, चौड़े मुंह वाले 250 मि.ली.के एर्लेनमेयर फ्लास्क अथवा चौडे मुंह वाली साफ शीशी का उपयोग करें।

4. **मस्तिष्क** - मेरुरज्जु द्रव (सेरिब्रो-स्पाइनल फ्लूइड - सी.एस.एफ.): 150 मि.मी.X16 मि.मी.की परख नलियों का उपयोग करें (देखे खंड 8.2)।

5. खखार का नमूना लेने के लिए डिब्बे और जार

खखार का नमूना लेने के लिए चूड़ीदार ढक्कन वाले कांच के जार या फेंकने योग्य प्लास्टिक के डिब्बों का उपयोग किया जा सकता है । या प्रयोगशाला में कार्ड बोर्ड और स्टेप्लर की मदद से छोटे डिब्बे बनाए जा सकते हैं। इन कार्ड बोर्ड का उपयोग सिर्फ प्रयोगशाला में खखार का नमूना लेने के लिए ही किया जा सकता है।

1. पतले कार्ड बोर्ड के 18 वर्ग से.मी. के टुकड़े काटकर उन्हे चित्र 2.8 में दिखाए अनुसार मोड़ लीजिए।
   - पहले कोने से कोने तक मोड़िए
   - फिर 9 बराबर वर्गो में मोड़िए।

2. चारों कोनों की तिरछी रेखाओं को अन्दर की ओर मोड़िए (चित्र 2.9)।

3. दो कोनों को साइड में मोड़िए ताकि वे डिब्बे की साइड से चिपक जाएं। इसी प्रकार दूसरे दो कोनों को मोड़कर दूसरी साइड से सटा दें (चित्र 2.10)।

4. मुड़े हुए कोनों को डिब्बे की एक-एक साइड पर स्टेपल कर दें (चित्र 2.11)। नमूना लेने के लिए डिब्बा तैयार है।

5. उपयोग के बाद इन डिब्बों या प्लास्टिक के डिब्बों को खंड 3.6.2 में बताए अनुसार जला दें।

v/;k; & 3
vfHkdkjk o mUg cukuk

अभिकारको की सूची वर्णमाला क्रम में है। उदाहरण के लिए :

एसिटिक अम्ल	a के तहत है
बेनेडिक्ट गुणात्मक घोल	b के तहत है
कार्बोल फुकसिन	c के तहत है
हायड्रोक्लोरिक अम्ल	h के तहत है
सोडियम क्लोराइड	s के तहत है

प्रत्येक अभिकारक का एक क्रमांक है। विधियों के विवरण में इन क्रमांकों का हवाला दिया गया है।

q.s. = एक निश्चित आयतन अभिकारक तैयार करने के लिए ज़रूरी मात्रा।

जैसे, सोडियम क्लोराइड	8.5 ग्राम
आसुत (डिस्टिल) पानी	q.s. 1000 मि.ली.

इसका अर्थ है कि :

आयतन मापी फ्लास्क या नपनाघट में 8.5 ग्राम सोडियम क्लोराइड डालिए। फिर उसमें इतना आसुत (डिस्टिल) पानी डालिए कि कुल आयतन 1000 मि.ली. हो जाए।

अधिकांश मामलो में प्रयुक्त यौगिक के अंग्रेज़ी नाम के बाद उसका रासायनिक सूत्र दिया गया जैसे :

-सोडियम क्लोराइड (NaCl)

-सल्फ्यूरिक अम्ल (H_2SO_4)

शीशियों पर लेबल की जांच करते समय यह जानकारी उपयोगी होगी।

जलीय घोल का मतलब है पानी में किसी पदार्थ का घोल।

अभिकारक (Reagents)

1. एसिटिक अम्ल, 50 ग्रा. प्रति ली. (5 प्रतिशत) घोल (क्र. 1)

ग्लेशियमल एसिटिक अम्ल (CH_3COOH)	10 मि.ली.
आसुत पानी	q.s. 200 मि.ली.

बोतल पर 'एसिटिक अम्ल 5 प्रतिशत घोल' लेबल लगाएं और बनाने की तारीख डाल दें।

चेतावनी: ग्लेशियम एसिटिक अम्ल अत्यंत जारक है।

2. एसिटिक अम्ल , 100 ग्रा./ली. (10 प्रतिशत)

ग्लेशियल (शुद्ध) एसिटिक अम्ल	20 मि.ली
आसुत पानी	q.s. 200 मि .ली.

चेतावनी: ग्लेशियल एसिटिक अम्ल अत्यंत जारक है।

3. एसिटिक अम्ल, 500 ग्रा. प्रति ली. (50 प्रतिशत) घोल (क्र. 3)

ग्लेशियम एसिटिक अम्ल (CH_3COOH)	100 मि.ली.
आसुत पानी	q.s. 200 मि.ली.

बोतल पर 'एसिटिक अम्ल 50 प्रतिशत घोल' लेबल लगाएं और बनाने की तारीख डाल दें।

चेतावनी: ग्लेशियम एसिटिक अम्ल अत्यंत जारक है।

4. एसिड-इथेनॉल

परिवर्तित ज़िएल-नीलसन अभिरंजन हेतु	
हाड्रोक्लोरिक अम्ल	3 मि.ली.
70 प्रतिशत इथेनॉल	q.s. 100 मि.ली.

चेतावनी: हाइड्रोक्लोरिक अम्ल काफी जारक है।

5. बेरियम क्लोराइड, 100 ग्रा. प्रति ली. (10 प्रतिशत) जलीय घोल

बेरियम क्लोराइड ($BaCl_2$)	10 ग्रा.
आसुत पानी	q.s. 100 मि.ली.

6. बेनेडिक्ट गुणात्मक घोल

कॉपर सल्फेट ($CuSO_4.5H_2O$)	17.3 ग्राम
ट्राईसोडियम साइट्रेट ($Na_3C_6H_5O_7.2H_20$)	173.0 ग्राम
सोडियम कार्बोनेट (Na_2CO_3) निर्जल	100.0 ग्राम
आसुत (डिस्टिल) पानी	1000 मि.ली .

कॉपर सल्फेट को 100 मि.ली डिस्टिल पानी में गर्म करके घोल लें। ट्राईसोडियम साइट्रेट और सोडियम कार्बोनेट को करीब 800 मि.ली. डिस्टिलपानी में घोलें। कॉपर सल्फेट का घोल धीरे-धीरे ट्राईसोडियम साइट्रेट-सोडियम कार्बोनेट के घोल में मिला दें। मिलाते हुए घोल को हिलाते रहें। मिश्रण में डिस्टिल पानी मिलाकर 1000 मि.ली. बना लें।

7. बफर युक्त पानी (जिएस्मा व लीशमैन अभिरंजन हेतु)

डाईसोडियम हाड्रोजन फॉस्फेट ($Na_2HPO_4.4H_2O$)	3.76 ग्राम
पोटेशियम डाईहाइड्रोजन फॉस्फेट (KH_2PO_4) निर्जल	2.1 ग्राम
आसुत (डिस्टिल) पानी	q.s. 1000 मि.ली.

कम परास वाले पीएच कागज़ से घोल की पीएच पता कीजिए। पीएच 7.0-7.2 के बीच होनी चाहिए।

8. बफर युक्त पानी (जे.एस.बी. अभिरंजन हेतु)

डाईसोडियम हाइड्रोजन फॉस्फेट	0.417 ग्रा.
पोटेशियम एसिड फॉस्फेट	0.752 ग्रा.
आसुत (डिस्टिल) पानी (पीएच 6.2-6.8)	2000 मि.ली.

9. कार्बॉल फुकसिन

(i) . ज़िएल-नीलसन अभिरंजन हेतु

घोल (क)

क्षारीय फुकसिन का संतृप्त घोल

क्षारीय फुकसिन	3 ग्रा.
इथेनॉल 95 प्रतिशत	100 मि.ली.

घोल (ख)

फिनॉल घोल, 50 ग्रा. प्रति ली. (5 प्रतिशत), जलीय

फिनॉल	10 ग्रा.
आसुत (डिस्टिल) पानी	q.s. 200 मि .ली.

उसके बाद

घोल (क)	10 मि.ली
घोल (ख)	90 मि .ली.

चेतावनी: यह घोल अत्यंत जारक और जहरीला होता है।

(ii) संशोधित ज़िएल-नीलसन परीक्षण हेतु

क्षारीय फुकसिन	1ग्रा.
95 प्रतिशत इथेनॉल	10 मि.ली.
5 प्रतिशत फिनॉल घोल	90 मि.ली.

10. कैरी-ब्लेयर वाहक (धारक) माध्यम

सोडियम थायोग्लायकोलेट	1.5 ग्रा
डाईसोडियम हाईड्रोजन फॉस्फेट (Na_2HPO_4) निर्जल	1.1 ग्रा
सोडियम क्लोराइड	5.0 ग्रा.
एगर	5.0 ग्रा.
आसुत पानी	991.0 मि.ली.

i. यदि संभव हो, तो रासायनिक रूप से साफ कांच के उपकरणों में बनाइए।

ii. मिलाते हुए तब तक गर्म कीजिए जब तक घोल पारदर्शी न हो जाए।

iii. 50° सेल्सियस तक ठण्डा करके ताज़ा बनाया हुआ 1 मि.ली. कैल्शियम क्लोराइड घोल (10 ग्रा. प्रति ली. यानी 1 प्रतिशत) डालिए और पीएच को लगभग 8.4 पर ले आइए।

iv. 1 मि.ली. के चूड़ीदार वायल को अच्छी तरह साफ करके उसमें 7 मि.ली. घोल डालिए।

v. माध्यम युक्त वायल्स को 15 मिनट के लिए बफारा दीजिए (स्टीम कीजिए) और ठण्डा करके ढक्कन कस दीजिए।

11. क्रिस्टल वॉयलेट, संशोधित हकर

घोल (क)

क्रिस्टल वॉयलेट (प्रमाणित)	2 ग्राम
इथेनॉल 95 प्रतिशत	20 मि.ली.

घोल (ख)

अमोनियम ऑक्ज़लेट ($(NH_4)_2C_2O_4.H_2O$)	0.8 ग्राम
आसुत पानी	80.0 मि.ली

घोल (क) और (ख) को मिला दीजिए। उपयोग से पहले 24 घण्टे रखा रहने दें। एक छन्ना कागज़ की मदद से अभिरंजन शीशी मे छान लीजिए।

12. डाईक्रोमेट घोल - सफाई के लिए

पोटेशियम डाईक्रोमेट ($K_2Cr_2O_7$)	100 ग्रा.
पानी	1000 मि.ली.
शुद्ध सल्फ्यूरिक अम्ल (H_2SO_4)	100 मि.ली.

डाईक्रोमेट को पानी में घोल लें। सावधानी से थोड़ा-थोड़ा करके अम्ल मिलाइए। सदैव अम्ल को पानी में डालना चाहिए, अम्ल में पानी को नहीं। यदि टीपॉल जैसा कोई डिटर्जेन्ट घोल उपलब्ध हो, तो डाईक्रोमेट घोल की ज़रूरत नहीं है।

चेतावनी: पोटेशियम डाईक्रोमेट और सल्फ्यूरिक अम्ल दोनों ही जारक हैं और उनका मिश्रण तो और भी अधिक जारक है। जहां तक संभव हो, इस घोल के उपयोग से बचें।

13. ई.डी.टी.ए. डाईपोटेशियम लवण का घोल, 100 ग्रा. प्रति ली. (10 प्रतिशत) (पोटेशियम इडीटेट)

डाईपोटेशियम इथायलीनलीन डायअमीन टेट्राएसिटिक एसिड	20 ग्रा.
आसुत पानी	q.s. 200 मि.ली.

उपयोग करने के लिए इस घोल में से एक पिपेट की मदद से 0.04 मि.ली. निकालकर 2.5 मि.ली. रक्त रखने के लिए अंकित छोटे पात्र में डाल दें। इस थक्कारोधी को सुखाने के लिए पात्र को एक गर्म मेज़ पर या 37° सेल्सियस वाले इन्क्यूबेटर में रात भर के लिए छोड़ दें।

14. ईओसिन, 20 ग्रा./ली. (2 प्रतिशत घोल नमकीन पानी में)

ईओसिन	2 ग्राम
सोडियम क्लोराइड जलीय घोल, 8.5 ग्रा./ली. (0.85 प्रतिशत)	q.s. 100 मि.ली.

15. फिनॉल रेड, 10 ग्रा. प्रति ली. (1 प्रतिशत) घोल (क्र. 42)

फिनॉल रेड रवे	0.1 ग्रा.
आसुत पानी	10 मि.ली.

फिनॉल रेड के रवे तौलकर 20 मि.ली. के बीकर में डालें। पानी डालकर रवे घुलने तक हिलाएं। इस घोल को एक प्लास्टिक ड्रॉपर बोतल में रखें। इस पर 'फिनाल रेड 1प्रतिशत घोल' लेबल लगाएं और तारीख डाल दें। कमरे के तापमान (20-30° सेल्सियस) पर रखें।

16. फुशे अभिकारक

1. पहले फेरिक क्लोराइड का 10 प्रतिशत घोल बनाएं

फेरिक क्लोराइड ($FeCl_3$)	10 ग्राम
आसुत पानी	q.s. 100 मि.ली.

2. अभिकारक बनाएं

फेरिक क्लोराइड घोल	10 मि.ली.
ट्राई क्लोरोएसिटिक एसिड	23 ग्राम
आसुत पानी	100 मि.ली

100 मि.ली. के आयतन मापी फ्लास्क में करीब 70 मि.ली. आसुत पानी में एसिड को घोल लें। इसमें 10 मि.ली. 10 प्रतिशत फेरिक क्लोराइड घोल डाल दें। आसुत पानी मिलाकर आयतन 100 मि.ली. कर लें।

चेतावनी: ट्राई क्लोरोएसिटिक एसिड अत्यंत जारक है।

17. ग्राम अभिरंजन के लिए एसिटोन-इथेनॉल विरंजक (क्र. 4)

एसिटोन	200 मि.ली.
विशुद्ध इथेनॉल	175 मि.ली.
आसुत पानी	25 मि.ली.

एसिटोन, इथेनॉल और पानी को मिलाकर एक ढक्कन वाली कांच की साफ बोतल में भर दें। बोतल पर 'एसिटोन-इथेनॉल विरंजक' लेबल लगाएं और तारीख डाल दें।

18. गीम्सा अभिरंजक

गीम्सा अभिरंजक चूर्ण	0.75 ग्रा
मिथेनॉल (CH_3OH)	65 मि.ली.
ग्लिसरॉल	35 मि.ली.

सारे पदार्थों को एक ऐसी शीशी में डालिए जिसमें कांच के मोती पड़े हों और हिलाएं। शीशी को लगातार 4 दिन तक प्रतिदिन तीन बार हिलाएं। छान लें।

घोल बनाने से पहले निर्माता द्वारा दिए गए निर्देश देख लें, शायद मात्राएं अलग हों।

19. ग्राम आयोडीन घोल

आयोडीन	1 ग्राम
पोटेशियम आयोडाइड	2 ग्राम
आसुत पानी	300 मि.ली.

एक खल-बत्ते में सूखी आयोडीन और पोटेशियम आयोडाइड को पीस लें। इसमें पानी डालें, एक बार में चन्द मि.ली.। हर बार पानी डालने के बाद अच्छी तरह पीसें जब तक कि आयोडीन और आयोडाइड घुल न जाएं। शेष आसुत पानी की मदद से इस घोल को एक एम्बर कांच की शीशी में धो डालें।

विकल्प

एक नपनाघट में 100 मि.ली. पानी नाप लें। पहले करीब 30 मि.ली. पानी में पोटेशियम आयोडाइड को घोल लें। फिर इसमें आयोडीन डालकर घुलने तक हिलाएं। शेष पानी डालकर अच्छी तरह मिलाकर एक कत्थई शीशी में रखें।

20. हाइड्रोक्लोरिक अम्ल, 0.1 मोल प्रति ली. (0.1 N)

सांद्र हाइड्रोक्लोरिक अम्ल (HCl)	8.6 मि.ली.
आसुत पानी	q.s. 1000 मि.ली.

500 मि.ली. पानी नाप लें। इसमें बूंद-बूंद करके अम्ल डालें। शेष पानी से 1000 मि.ली. बना लें। इस घोल का उपयोग मात्र साहली विधि से हिमोग्लोबीन मापन के लिए किया जा सकता है। हर माह नया घोल बनाएं।

चेतावनी: हाइड्रोक्लोरिक अम्ल अत्यंत जारक है।

21. ज़िएल-नीलसन अभिरंजक के लिए एसिड-इथेनॉल (क्र. 5)

सांद्र हाइड्रोक्लोरिक अम्ल (HCl)	3 मि.ली.
इथेनॉल (CH_3CH_2OH), 95 प्रतिशत	97 मि.ली.

बोतल पर 'एसिड-इथेनॉल-ज़िएल-नीलसन अभिरंजन' लेबल लगाएं और तारीख डाल दें।

चेतावनी: हाइड्रोक्लोरिक अम्ल अत्यंत जारक है।

22. जसवंत सिंह व भट्टाचार्य (जे.एस.बी.) अभिरंजक

जे.एस.बी. घोल 1:

मिथायलीन ब्लू (चिकित्सकीय)	0.5 ग्रा.
सल्फ्यूरिक अम्ल, 1 प्रतिशत	3.0 मि.ली.

पोटेशियम डाईक्रोमेट	0.5 ग्राम
डाईसोडियम हाइड्रोजन फॉस्फेट डाईहाइड्रेट	3.5 ग्राम
आसुत पानी	500 मि.ली.

मिथायलीन ब्लू को आसुत पानी में घोल लें। इसमें 1-1 मि.ली. करके अम्ल धीरे-धीरे मिलाएं और लगातार हिलाते रहें ताकि भलीभांति मिल जाएं।

इसमें पोटेशियम डाईक्रोमेट डालें। एक बैंगनी अवक्षेप बनेगा। अब डाईसोडियम हाइड्रोजन फॉस्फेट डाईहाइड्रेट डालें। थोड़ी देर हिलाने पर अवक्षेप घुल जाता है।

इस घोल को एक रिफ्लक्स कंडेंसर लगाकर एक घण्टे, घोल का नीला रंग गहरा होने तक, उबालिए। उबलने का समय तब गिनना शुरू करें जब घोल उबलना शुरू हो जाए।

जे.एस.बी. घोल 2:

ईओसिन (पीला, ज़िंकमुक्त)	1.0 ग्राम
आसुत पानी	500 मि.ली.

23. लीशमैन अभिरंजक

लीशमैन चूर्ण	1.5 ग्राम
मिथेनॉल	q.s. 1000 मि.ली.

एक साफ बोतल को मिथेनॉल से धो लें। कांच के कुछ साफ मोती उसमें डालें। अभिरंजक चूर्ण और मिथेनॉल डाल दें। अच्छी तरह मिलाकर अभिरंजक को घोल लें। इस अभिरंजक का उपयोग अगले दिन किया जा सकता है।

लीशमैन जैसा इथेनॉल रोमानोव्स्की अभिरंजक बनाते समय यह सावधानी रखनी चाहिए कि बनाते समय या बाद में रखे रखे उसमें कहीं से नमी न पहुंचे।

24. ल्यूगॉल आयोडीन घोल

आयोडीन	1 ग्राम
पोटेशियम आयोडाइड (KI)	2 ग्राम
आसुत पानी	q.s. 100 मि.ली.

आयोडीन को एक पोर्सलीन की तश्तरी या वॉच ग्लास में तोल लें। सूखी आयोडीन और पोटेशियम आयोडाइड को एक खल-बत्ते में पीसें। थोड़ा-थोड़ा (चन्द मि.ली.) पानी डालकर तब तक पीसते जाएं जब तक कि आयोडीन और आयोडाइड घुल न जाएं। इस घोल को शेष पानी के साथ कत्थई कांच की बोतल में भर दें।

विकल्प

एक नपनाघट में 100 मि.ली. पानी नाप लें। पहले करीब 30 मि.ली. पानी में पोटेशियम आयोडाइड को घोल लें। फिर इसमें आयोडीन डालकर घुल जाने तक हिलाएं। शेष पानी डालकर अच्छी तरह मिलाएं। घोल को कत्थई कांच की बोतल में रखें।

25. ल्यूगॉल आयोडीन घोल, 50 ग्रा.प्रति ली. (5 प्रतिशत)

आयोडीन	5 ग्रा.
पोटेशियम आयोडाइड	10 ग्रा.
आसुत पानी	q.s. 100 मि.ली.

ल्यूगॉल आयोडीन घोल (क्र.19) की तरह बनाए। कत्थई काच की बोतल में रखें, मगर एक माह से ज्यादा नही।

26. मिथायलीन ब्लू, जलीय घोल

क. ज़िएल नीलसन अभिरंजक हेतु

मिथायलीन ब्लू	0.3 ग्रा.
आसुत पानी	100 मि.ली.

घोलकर छान लें।

ख. संशोधित ज़िएल नीलसन अभिरंजक हेतु

मिथायलीन ब्लू	0.5 ग्रा.
बोरेक्स	5.0 ग्रा..
आसुत पानी	100 मि.ली.

27. आर्थोटोलिडीन अभिकारक

आर्थोटोलिडीन डाईहाइड्रोक्लोराइड	1.35 ग्रा.
सांद्र हाइड्रोक्लोरिक अम्ल	150 मि.ली.
आसुत पानी	850 मि.ली.

आर्थोटोलिडीन डाईहाइड्रोक्लोराइड को 500 मि.ली. आसुत पानी में घोल लें (घोल I)। 350 मि.ली. आसुत पानी और 150 मि.ली. अम्ल का घोल बना लें (घोल II)।

घोल I को घोल II में हिलाते हुए डालिए। अभिकारक को एम्बर रंग की बोतलों में रखें।

28. आर.बी.सी. तनुकारक घोल (फॉर्मेल्डिहाइड साइट्रेट)

सोडियम साइट्रेट	3.0 ग्राम
व्यापारिक फॉर्मेल्डीहाइड घोल (कम से कम 37% फार्मेलीन)	1.0 मि.ली.
आसुत पानी	100 मि.ली.

चेतावनी: फॉर्मेल्डिहाइड जारक व ज़हरीला है।

29. सेफरीन घोल

स्टॉक घोल:

सेफरीन O (प्रमाणित)	2.5 ग्राम
इथेनॉल, 95 प्रतिशत	q.s. 100 मि.ली.

क्रियात्मक घोल:

स्टॉक घोल	10 मि.ली.
आसुत पानी	90 मि.ली.

30. सोडियम बाईकार्बोनेट, 20 ग्रा./ली. (2प्रतिशत) घोल

सोडियम बाईकार्बोनेट ($NaHCO_3$)	2 ग्रा
आसुत पानी	q.s. 100 मि.ली.

आयतनमापी फ्लास्क पर 'सोडियम बाईकार्बोनेट 2 प्रतिशत घोल' लेबल लगाएं और तारीख डाल दें।

31. सोडियम क्लोराइड घोल, 8.5 ग्रा प्रति ली. (0.85 प्रतिशत) ('आइसोटोनिक घोल')

सोडियम क्लोराइड	8.5 ग्राम
आसुत पानी	q.s. 1000 ली.

32. सोडियम मेटाबाईसल्फाइट, 20 ग्राम प्रति ली. (2 प्रतिशत) घोल

सोडियम मेटाबाईसल्फाइट	0.5 ग्रा.
आसुत पानी	q.s. 25 मि.ली.

उपयोग से पहले ताज़ा बनाएं।

आयतनमापी फ्लास्क पर 'सोडियम मेटाबाईसल्फाइट 2 प्रतिशत घोल' लेबल लगाएं और तारीख डाल दें।

33. सोडियम थायोसल्फेट, 30 ग्राम प्रति ली. (3 प्रतिशत) जलीय घोल

सोडियम थायोसल्फेट ($Na_2S_2O_3$) निर्जल	3 ग्राम
(या $Na_2S_2O_3.5H_2O$ की तुल्य मात्रा)	
आसुत पानी	q.s.100 मि.ली.

कत्थई ड्रॉप बोतल में रखें।

बैक्टीरिया परीक्षण के लिए गए पानी के किसी भी नमूने में क्लोरीन को उदासीन करने मे उपयोग किया जाता है।

34. शुक्राणु तनुकारक घोल (फॉर्मेलीन-बायकार्बोनेट)

सोडियम बायकार्बोनेट	5.0 ग्राम
व्यापारिक फॉर्मेल्डिहाइड घोल (फॉर्मेलीन)	1.0 मि.ली
आसुत पानी	100 मि.ली

35. डब्लू.बी.सी. तनुकारक घोल (टुर्क घोल)

एसिटिक अम्ल (CH_3COOH), ग्लेशियल	4.0 मि.ली.

आसुत पानी	q.s. 200 मि.ली.
जलीय मिथायलीन ब्लू घोल	10 बूंद

मिथायलीन ब्लू का घोल बनाने के लिए 0.3 ग्राम मिथायलीन ब्लू को 100 मि.ली. आसुत पानी में घोलते हैं। अम्ल के घोल में डालने से पहले इसे छान लें।

चेतावनी: एसिटिक अम्ल जारक है।

36. विलिस घोल

यह सोडियम क्लोराइड का संतृप्त घोल होता है।

सोडियम क्लोराइड	125 ग्राम
आसुत पानी	500 मि.ली.

सोडियम क्लोराइड को उबलते पानी में घोल लें। ठण्डा होने के लिए रख दें। कुछ अघुलित लवण बचा रहना चाहिए। यदि पूरा लवण घुल गया हो, तो 50 ग्राम लवण और डाल दें। छानकर एक बोतल में कॉर्क लगाकर रख दें।

37. विन्ड्रोब घोल (क्र. 65)

अमोनियम ऑक्ज़लेट $((NH_4)_2C_2O_4.H_2O)$	1.2 ग्रा
पोटेशियम ऑक्जलेट $(K_2C_2O_4.H_2O)$	0.8 ग्रा
आसुत पानी	q.s. 100मि.ली.

दोनों लवणों को 50 मि.ली. पानी लेकर एक आयतन मापी फ्लास्क में घोलें। आसुत पानी मिलाकर आयतन 100 मि.ली. कर लें। फ्लास्क पर 'विन्ड्रोब घोल' लेबल लगाएं और तारीख लिखें।

रक्त का नमूना संग्रह करने की प्रत्येक 5 मि.ली. की शीशी में इस घोल का 0.5 मि.ली. डालें। इन्हें सूखने के लिए कमरे के तापमान पर खुला छोड़ दें। बेहतर होगा कि इन्हें 37^0 सेल्सियस इन्क्यूबेटर में सुखाएं।

v/;k; & 4

LoPNrk ,o futhodj.k

I. प्रयोगशाला को साफ सुथरा रखें

यदि आप ध्यान रखें कि आपकी प्रयोगशाला साफ सुथरी रहे, अपनी सेहत व सुरक्षा के लिए कुछ सावधानियां बरतें और भलीभांति साफ किए गए उपकरणों का उपयोग करें तो आप कहीं अधिक कुशल व सुरक्षित ढंग से अपना काम कर पाएंगे ।

साफ सफाई का ख्याल

(1) प्रयोगशाला को साफ सुथरा और करीने से रखें।

(2) प्रयोगशाला को ऐसे जमाएं कि आपको पता रहे कि कौन सी चीज़ कहां रखी है। उपयोग के बाद रसायनों और उपकरणो को उनकी जगह पर रखें।

(3) काम करते समय नमूनों, खासकर संक्रमित सामग्री, को संभलकर हैण्डल करें। जांच का काम करने के बाद हाथ साबुन और पानी से अच्छी तरह धोएं और संक्रमणनाशी घोल से साफ करें। इसके लिए 0.5 प्रतिशत सोडियम हायपोक्लोराइड घोल सबसे अच्छा होता है।

(4) काम करते समय एप्रन पहनें ताकि कपड़े सुरक्षित रहें और आप संक्रमण से बचे रहें ।

(5) पिपेट में घोल मुंह से न खींचें । पिपेट पर रबर बल्ब लगाकर उसका उपयोग करें। हिमोसायटोमीटर के पिपेट का उपयोग मुंह से करना होता है। इन्हें साफ जगह पर रखें।

(6) प्रयोगशाला में धूम्रपान या खाना खाने की अनुमति नहीं होनी चाहिए। यदि प्रयोगशाला में रेफ्रिजरेटर है, तो इसका उपयोग खाना रखने के लिए न करें।

(7) काम पूरा होने के बाद प्रयोगशाला की मेज़ को संक्रमणनाशी घोल से पोंछा मार दें। प्रयोगशाला के फर्श पर रोज़ाना संक्रमणनाशी घोल से पोंछा लगवाएं।

(8) समस्त संदूषित द्रव व ठोस सामग्री को ठिकाने लगाने से पहले संदूषणमुक्त करना चाहिए। जिस संदूषित सामग्री को प्रयोगशाला से दूर किसी जगह जलाकर नष्ट करना हो, उसे लीक प्रूफ मजबूत पात्रों में रखना चाहिए। प्रयोगशाला से रवाना करने से पहले इन्हें बंद कर देना चाहिए।

(9) यदि संक्रमित पदार्थ मेज़ पर गिर जाए तो उस पर फिनॉल डालकर उसे अखबार में सोख लें। इस अखबार को जला दें।

II. अपना स्वास्थ्य और स्वच्छता

एक प्रयोगशाला टेक्नीशियन के नाते आपको शरीर से प्राप्त कई द्रवों तथा पदार्थों की जांच व परीक्षण का काम करना होगा। ये काफी संक्रामक हो सकते हैं। आप ऐसे व्यक्तियों के निकट संपर्क में भी आएंगे जिन्हें संक्रामक रोग हुए हैं। लिहाज़ा, आपको बहुत सतर्क रहना चाहिए और काम के दौरान निजी सावधानी रखनी चाहिए। आपको नीचे दी गई बातों का पालन ज़रूर करना चाहिए:

1 शारीरिक तंदुरुस्ती: उचित भोजन व व्यायाम के ज़रिए अपनी सेहत का ख्याल रखें क्योंकि आपको प्रयोगशाला में आने वाले मरीज़ों से संक्रमण होने का खतरा है।

III. सफाई (वाशिंग), विसंक्रमण (डिसइंफेक्शन) और निर्जीवीकरण (स्टरलाईजेशन)

कांच के उपकरणों, पुनः उपयोगी सिरिंज और सुइयों की सफाई

सफाई करने के निर्देश

- कांच के पात्र (एर्लेनमेयर फ्लास्क, बीकर, परखनलियां)

- पिपेट
- सूक्ष्मदर्शी
- कवर स्लिप्स
- पुनः उपयोगी सिरिंज व सुइयां

1. कांच के पात्र

नए उपकरण

कांच के जिन उपकरणों का उपयोग कभी नही किया गया है, वे थोड़े क्षारीय हो सकते हैं। इन्हे उदासीन बनाने के लिए :

1. एक बतर्न में हाईड्रोक्लोरिक अम्ल का 2% घोल बनाईये (इसके लिये 3 लीटर पानी में 60 मि.ली. सांद्र हाईड्रोक्लोरिक अम्ल मिलाईये) ।
2. कांच के उपकरणों को पूर्णतः भिगो कर 24 घंटे छोड़ दें ।
3. सादे पानी से 2 बार धो लें ।
4. उपकरणों को सुखा लें।

कांच के गंदे उपकरण

प्रारंभिक सफाई

ठंडे या गुनगुने पानी से दो बार धोएं (रक्त के धब्बे वाली परखनलियो को गर्म पानी से कदापि न धोएं)। यदि कांच के किसी उपकरण का उपयोग प्रोटीन युक्त द्रवों को रखने के लिए किया गया हो, तो इन्हे तुरंत धो डालें और बाद में साफ करें (इन्हें कभी सूखने न दें)।

डिटर्जेन्ट के घोल में भिगोना

एक बड़े कटोरे में पानी लेकर उसमें धोने का सोडा या तरल डिटर्जेन्ट घोल लें। धुले हुए कांच के उपकरणो को इस कटोरे में डालें और ब्रश की मदद से इन्हे अंदर से साफ करें (चित्र 4.1)। 2-3 घंटे भीगने दें।

धुलाई

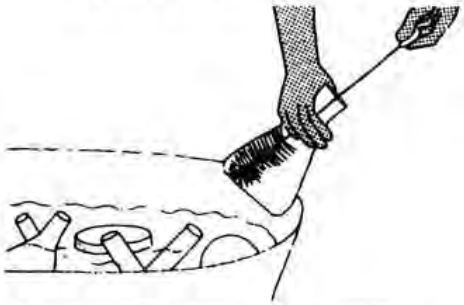
एक-एक करके उपकरणों को निकालें। नल के नीचे इन्हें अच्छी तरह धोएं और सादे पानी में 30 मिनिट के लिए छोड़ दें। हरेक उपकरण को साफ बहते पानी में धोएं। यह न भूलें कि यदि कांच के उपकरणों पर तनिक सा भी डिटर्जेन्ट रह गया तो परीक्षण के परिणामों पर असर पड़ सकता है।

पानी निथारना

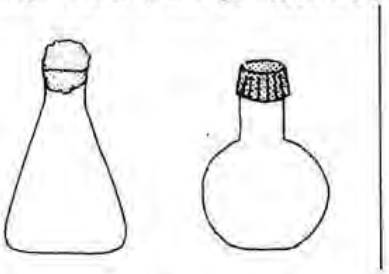
सारे पात्रों को निकासी रैक के गुटकों पर रख दें। परखनलियों को तार की टोकरी में उल्टा रखें।

सुखाना

कांच के उपकरणों को तार की टोकरी में रखकर गर्म हवा के ओवन में 60^0 सेल्सियस पर सुखाएं। या इस टोकरी को प्रयोगशाला में किसी धूप वाली जगह पर रख दें और एक पतले कपड़े से ढंक दें।



चित्र 4.1 कांच के गंदे उपकरणों की सफाई



चित्र 4.2 धूल से बचाने के लिए उपकरणों का मुंह बंद रखें

प्लगिंग

सारे साफ कांच के उपकरणों को धूल से बचाने के लिए अलमारी में रखना चाहिए। सुझाव यह है कि कांच के पात्रों के मुंह गैर-अवशोषी कपास से या अखबार के ढक्कन बनाकर बंद करके रखा जाए (चित्र 4.2)। यदि उपलब्ध हो तो पैराफिन मोम की पतली झिल्ली या चिपकने वाले प्लास्टिक का उपयोग करना बेहतर होगा।

2. पिपेट

तत्काल धुलाई

एक बार उपयोग करने के बाद पिपेट को फौरन ठंडे पानी की धार में धो डालना चाहिए ताकि रक्त, पेशाब, सीरम, अभिकारक वगैरह धुल जाएं।

पानी में भिगोना

इस तरह धोने के बाद पिपेटों को एक नपनाघट (या कटोरे) में पानी भरकर उसमें रख दें। यदि पिपेट का उपयोग संक्रमित पदार्थ के मापन में किया गया हो तो उसे विसंक्रमण घोल (जैसे कोई क्वार्टनरी अमोनियम यौगिक या 10% ब्लीच घोल (देखें पृ. 35) में चार घंटे रखा रहने दें।

डिटर्जेन्ट में भिगोना और धोना

कांच के उपकरणों को भिगोने व धोने के निर्देशों का पालन करें।

रुंधे हुए पिपेट

1. रुंधे हुए पिपेट को डाईक्रोमेट सफाई घोल (अभिकारक क्र.10) से भरे एक नपनाघट में रखें। पिपेट को सावधानीपूर्वक इस घोल में रख दीजिए और 24 घंटे पड़ा रहने दीजिए।
2. अगले दिन डाईक्रोमेट घोल को दूसरे नपनाघट में डाल दीजिए (इसका उपयोग 4 बार हो सकता है)।
3. पिपेट रखे नपनाघट को नल के नीचे रखकर अच्छी तरह धोइए।
4. एक-एक करके पिपेट निकालिए। यह देख लीजिए कि अवरोध साफ हो चुका है। फिर से धोइए।
5. 30 मिनट तक सादे पानी में भीगने दीजिए। फिर पानी बदलकर एक बार और 30 मिनट भीगने दीजिए।

चेतावनी : डाईक्रोमेट घोल बहुत जारक होता है तथा इसका उपयोग सावधानी से करना चाहिए। यदि गलती से यह चमड़ी, कपड़ों या आंखों पर गिर जाए, तो फौरन खूब सारे पानी से धोएं।

सुखाना

उष्मासह कांच के पिपेट्स को गर्म हवा के ओवन में 60^0 सेल्सियस पर सुखाएं। साधारण पिपेट्स को 37^0 सेल्सियस पर इन्क्यूबेटर में सुखाएं या खुली हवा में सूखने दें।

निर्वात पम्प का उपयोग

यह धातु, प्लास्टिक या कांच का बना छोटा सा उपकरण होता है जिसे पानी के नल से जोड़ दिया जाता है।

1. पानी पूरा खोल दें ताकि पम्प में से एक तेज़ धार निकले। इसकी वजह से पम्प की साइड वाली भुजा में से हवा अंदर खींची जाती है।
2. इस साइड भुजा में लगी रबर की नली में पिपेट की नोक घुसा दीजिए।
3. पिपेट का दूसरा सिरा सफाई घोल (पानी या डिटर्जेन्ट) में डुबा दें। यह घोल पिपेट में खिंचेगा और पम्प के जरिए सिंक में बह जाएगा (चित्र 4.3)।

चित्र 4.3 निर्वात पम्प की मदद से पिपेट की धुलाई

3. सूक्ष्मदर्शी की स्लाइड्स

नई स्लाइड

डिटर्जेन्ट घोल में भिगोना

वॉशिंग पावडर या तरल डिटर्जेन्ट को एक कटोरे में पानी में घोल लें। निर्माता द्वारा सुझाई गई मात्रा का उपयोग करें। स्लाइडो को एक-एक करके इस घोल मे डाल दें और रात भर के लिए छोड़ दे।

पानी से धोना

हर स्लाइड को नल के पानी से धोए और फिर 15 मिनट के लिए साफ पानी में डालकर रखे।

पोंछना-सुखाना

एक बगैर रोएदार कपड़े से स्लाइड्स को एक-एक करके पोछें। इन्हें एक-एक करके छन्ना कागज़ पर रखकर सूखने दें। इसके बाद एक-एक करके स्लाइड्स की जांच करें। रंगीन धब्बों या खरोंचों वाली स्लाइड्स या पीली पड़ चुकी स्लाइड्स को या तो खारिज कर दें या फिर से साफ करने की कोशिश करें।

लपेटकर रखना

10 या 20 स्लाइड्स की थप्पियां बनाकर उन्हे एक साफ कागज़ में लपेटकर रखें।

क्रमांक डालना

कुछ प्रयोगशालाओ में स्लाइड्स पर पहले से ही नंबर डाल दिए जाते हैं। इसके लिए डायमड पेंसिल का उपयोग करते हैं। (जैसे यदि पांच पैकेट हैं और प्रत्येक में 20 स्लाइड्स हैं, तो उन्हें 1-20, 21-40, 46-60, 61-80 और 81-100 तक नंबर दिए जाते हैं।)

गंदी स्लाइड्स

चित्र 4.4 स्लाइड से कवर स्लिप निकालना

इमर्शन तेल से पुती स्लाइड्स

स्लाइड्स को एक एक करके अखबार के कागज़ से पोंछकर अधिक से अधिक तेल हटाने की कोशिश करें।

कवर स्लिप लगी स्लाइड्स

एक सुई या चिमटी की नोक से कवर स्लिप को हटाकर सीधे एक बीकर में रखे पानी में डाल दें (देखें चित्र 4.4)।

कवर स्लिप की सफाई अगले पृष्ठ पर देंखें।

डिटर्जेन्ट घोल में भिगोना

एक कटोरे में ठंडे या गुनगुने पानी में डिटर्जेन्ट का घोल बनाएं। निर्माता द्वारा सुझाई गई मात्रा का इस्तेमाल करके अच्छा गाढा डिटर्जेंट घोल बना लें।

स्लाइड्स को इस घोल में 24 घण्टे भीगने दें।

टीप: रक्त की झिल्लियों को साफ करने में एन्ज़ाइम युक्त डिटर्जेन्ट बहुत कारगर रहते हैं।

यदि स्लाइड्स का उपयोग संक्रमित नमूनों (जैसे पेशाब, मल) की जांच के लिए हुआ हो, तो पहले उन्हें विसंक्रामक (डिस-इन्फेक्टेन्ट) घोल में डालकर रखना चाहिए।

सफाई

24 घण्टे भिगोने के बाद, एक अन्य कटोरे में डिटर्जेन्ट का हल्का घोल बनाएं (15 मि.ली. घरेलू डिटर्जेन्ट को 1 लीटर पानी में घोलें)।

स्लाइड्स को एक-एक करके गाढ़े डिटर्जेन्ट घोल में से निकालें।

गाढ़े डिटर्जेन्ट घोल में भीगी रुई से स्लाइड्स को घिसें। फिर इन्हें हल्के डिटर्जेन्ट घोल में डालकर 1-2 घण्टे के लिए भीगने दें।

धोना

सही तरीका

एक चिमटी की सहायता से स्लाइड्स को एक-एक करके घोल में से निकालें। यदि हाथ से निकालना पड़े, तो स्लाइड्स को किनारों से पकड़कर उठाएं। प्रत्येक स्लाइड को नल के पानी से धोएं और फिर 30 मिनट के लिए साफ पानी में डालकर रखें।

त्वरित तरीका

कटोरे में से हल्का डिटर्जेन्ट घोल निथार दें और उसमें साफ पानी भर दें। पानी को तीन बार बदलें और हर बार कटोरे को अच्छी तरह हिलाएं।

पोंछना, सुखना, लपेटना

'नई स्लाइड्स' में बताए तरीके से करें।

4. कवर स्लिप्स

एक बार उपयोग की गई कवर स्लिप्स को साफ करके फिर से उपयोग किया जा सकता है।

1. एक बड़े बीकर में निम्नलिखित घोल बनाएं:
   - 200 मि.ली. पानी
   - 3 मि.ली. डिटर्जेन्ट
   - 15 मि.ली. ब्लीच या 5 मि.ली. क्वार्टेनरी अमोनियम डिस-इंफेक्टेन्ट (देखें पृ. 35)
2. कवर स्लिप्स को इस घोल में एक-एक करके डालें।
3. 2-3 घण्टे तक भीगने दें, बीच-बीच में हिलाते रहें।
4. कवर स्लिप वाले बीकर को 4 बार धोएं, हर बार हल्के-हल्के हिलाएं।
5. अंत में लवणमुक्त पानी से धोएं।
6. पानी की मदद से कवर स्लिप्स को एक जाली पर सावधानी से फैला दें।
7. संभव हो, तो गर्म हवा के ओवन में 60^0 सेल्सियस पर सुखाएं।

साफ, सूखी कवर स्लिप्स को एक छोटी पेट्री डिश में रखें। संभव हो, तो इन्हें उठाने के लिए विशेष कवर स्लिप चिमटी का उपयोग करें।

5. बारम्बार उपयोगी सिरिंज व सुइयां

नमूना इकट्ठा करने के तुरंत बाद सिरिंज में से प्लंजर (पिस्टन) निकालकर बेरल और प्लंजर दोनों को धो डालिए। बैरल में पानी भरकर, प्लंजर की मदद से पानी को सुई में निकाल डालिए। अंत में सुई को निकालकर हब कैविटी (सिरिंज और सुई के जुड़ने की जगह) को धोइए।

6. बारम्बार उपयोगी सिरिंज और रुंधा हुआ पिस्टन

पिस्टन को ढीला करने के लिए निम्नलिखित में से किसी एक विधि का उपयोग करें:

- गर्म पानी (लगभग 70^0 सेल्सियस) में 2 घण्टे भिगोएं।
- सिरिंज को उल्टा खड़ा करें (पिस्टन नीचे)। एक बारीक पाश्चर पिपेट (चित्र 4.5) की मदद से 50 प्रतिशत एसिटिक अम्ल (**अभिकारक क्र. 3**) लेकर उसे सिरिंज की चौंच (नोज़ल) में डालें। इसके बाद 10 मिनट तक रखा रहने दें।

पिस्टन ढीला पड़ जाने के बाद सिरिंज को कई घण्टों तक 1 मि.मोल/ली. हाइड्रोजन परॉक्साइड में भीगने दीजिए।

चित्र 4.5 रुंधी हुई सिरिंज को एसिटिक एसिड से साफ करें

सुई को भिगोना व धोना

सुई का उपयोग करते ही उसे सिरिंज में लगे-लगे ही धो डालिए।

फिर इसे सिरिंज से निकालकर गर्म पानी में भीगने दें।

रुंधी हुई सुइयां

अवरोध हटाने के लिए 50 प्रतिशत एसिटिक अम्ल (अभिकारक क्र. 1) में भीगे नायलोन के धागे का उपयोग कर सकते हैं या स्टायलेट का उपयोग कर सकते हैं।

बारम्बार उपयोगी नमूना पात्रों की सफाई

बारम्बार उपयोगी पात्रों (जैसे जार व शीशियों) में शायद मल, खखार, मवाद, सी.एस.एफ. या पेशाब के नमूने रखे गए होंगे। इन सभी में संक्रामक जीव आसानी से घर बना लेते हैं।

1. मल के नमूनों के पात्र

यदि शौचालय सेप्टिक टैंक से न जुड़ा हो, तो मल के नमूने वाले जार में 5 प्रतिशत क्रिसॉल घोल (देखें पृष्ठ 35) या कोई अन्य संक्रमण नाशी भर दीजिए। 6 घण्टे तक रखने के बाद शौचालय में बहा दीजिए।

यदि शौचालय सेप्टिक टैंक से जुड़ा हो, तो मल के नमूने को फेंकने से पहले उसमें क्रिसॉल या अन्य संक्रमण नाशी नही मिलाना चाहिए। जार को पृष्ठ 30 पर बताए अनुसार डिटर्जेन्ट और पानी से धोएं।

2. खखार पात्र और मवाद या सी. एस. एफ. भरी परख नलियां

चित्र 4.6
डिटर्जेन्ट में उबाल कर खखार पात्र की सफाई

इन्हे साफ करने के कई तरीके हैं।

i. ऑटोक्लेव का उपयोग

यह सबसे अच्छा तरीका है।

1. पात्रों को आक्टोक्लेव में रखकर 120^0 सेल्सियस पर 30 मिनट तक निर्जीवीकरण करें।

2. जब पात्र ठंडे हो जाएं तब उनके पदार्थ को सिंक या शौचालय में फेंक दें।

3. पृष्ठ — पर बताए अनुसार डिटर्जेट और पानी से साफ करें।

ii. डिटर्जेन्ट में उबालना

एक बड़ा पतीला खास तौर से इस काम के लिए रखें।

खखार के पात्रों को वॉशिंग पावडर युक्त पानी (60 ग्रा. प्रति ली.) में 30 मिनट तक उबालें (चित्र 4.6)।

iii. फार्मेल्डीहाइड घोल या क्रिसॉल का उपयोग

प्रत्येक खखार पात्र में निम्नलिखित में सें कोई एक घोल डालें:

- 10 मि.ली. फार्मेल्डीहाइड घोल 10% (अभिकारक क्र. 28)या
- 5 मि.ली. 5 प्रतिशत क्रिसॉल (पृष्ठ — देखें)।

12 घंटे रखा रहने दें।

3. पेशाब की शीशियां

शीशियों को शौचालय में खाली कर दें।

इनमें निम्नलिखित में से कोई एक घोल डालें:

- घरेलू ब्लीच का 10 प्रतिशत घोल (देखें पृष्ठ 35),या
- 5 मि.ली. 5 प्रतिशत क्रिसॉल (देखें पृष्ठ 35)।

4 घंटे रखा रहने दें।

---

1 और जानकारी के लिए देखें खण्ड 3.5.3

III. संक्रमणनाशी

कई संक्रमणनाशी उपलब्ध हैं। संक्रमणकारियों पर इनका रासायनिक असर अलग-अलग होता है। तालिका 3.1 में स्वास्थ्य प्रयोगशाला में इस्तेमाल किए जाने वाले संक्रमणनाशियों की सूची दी गई है।

1. सोडियम व कैल्शियम हायपोक्लोराइट

सोडियम व कैल्शियम हायपोक्लोराइट (घरेलू ब्लीच) अत्यंत असरदार संक्रमणनाशी हैं। इनका उपयोग प्रयोगशालाओं, घरों व उद्योगों में किया जाता है। धूल के कणों और कार्बनिक पदार्थों के संपर्क से हायपोक्लोराइट का संक्रमणनाशी गुण तेज़ी से खत्म हो जाता है। इसलिए स्टॉक घोल में से इनका ताज़ा घोल रोज़ाना बनाकर उपयोग करना चाहिए। हायपोक्लोराइट से चमड़ी, आंखों और फेफड़ों में जलन होती है। सांद्र, बगैर पानी मिले घोल में 10 प्रतिशत उपलब्ध क्लोरीन होनी चाहिए।

इनके सांद्र, बगैर पानी मिले घोल में 10 प्रतिशत उपलब्ध क्लोरीन होनी चाहिए। कामकाजी घोल बनाने के लिए निम्नलिनखित तनुताएं सुझाई जाती हैं:

- उन जारों और पात्रों के लिए जिनमें उपयोग किए गए पिपेट्स, स्लाइड्स व कांच के अन्य उपकरण डाले जाते हैं और बेंच की सतह को पोंछने के लिए: 10 मि.ली. सांद्र हायपोक्लोराइट घोल को 990 मि.ली. पानी में मिलाएं (उपलब्ध क्लोरीन 0.1 प्रतिशत)। उपयोग करने के बाद कांच के उपकरणों को इस हायपोक्लोराइट घोल में 12 घण्टे के लिए छोड़ दें। पात्र में ऊपर तक घोल न भरें। पात्र को रोज़ाना बदलें।
- रक्त के छींटों और अन्य ऐसे नमूनों को साफ करने के लिए जिनमें अधिक मात्रा में प्रोटीन हो: 40 मि. ली. सांद्र हायपोक्लोराइट घोल को 360 मि.ली. पानी में मिलाए (उपलब्ध क्लोरीन 1 प्रतिशत)।

  सांद्र हायपाक्लोराइट घोल जारक होता है और चमड़ी को नुकसान पहुंचा सकता है। ब्लीच घोल को सावधानी से इस्तेमाल करें। हाथों पर दस्ताने और आंखों के बचाव के लिए चश्मे का उपयोग करें।

  कैल्शियम हायपोक्लोराइट पावडर या दानों के रूप में उपलब्ध होता है। इसका विघटन सोडियम हायपोक्लाराइट की अपेक्षा धीमी गति से होता है। 1 प्रतिशत उपलब्ध क्लोरीन वाला घोल बनाने के लिए 14 ग्राम कैल्शियम हायपोक्लोराइट 1 लीटर पानी में घोलें।

2. क्रिसॉल्स

क्रिसॉल्स ठोस अथवा तरल हो सकते हैं। ये फिनॉल की अपेक्षा पानी में कम घुलनशील होते हैं, फिर भी क्रिसॉल्स का 5 प्रतिशत घोल स्टॉक घोल के रूप में रखा जा सकता है। क्रिसाल्स भलीभांति इमल्सीकृत हो जाते हैं।

3. लायसॉल

लायसॉल साबुन के जलीय घोल में क्रिसॉल का 50 प्रतिशत इमल्शन (पायस) होता है। क्रिसॉल के स्थान पर फिनॉल का उपयोग किया जा सकता है मगर फिनॉल कम शक्तिशाली संक्रमणनाशी है इसलिए फिनॉल का उपयोग करने पर सामग्री को इसके साथ ज़्यादा देर तक संपर्क में रखना होता है। फिनॉल और क्रिसॉल के घोल से चमड़ी और आंखों में जलन होती है।

4. क्लोरेमीन

क्लोरेमीन (टोसाइलक्लोरेमाइड सोडियम) एक रवेदार ठोस पदार्थ है। पानी में घोलने पर हायपोक्लोराइट के समान यह भी क्लोरीन मुक्त करता है जो संक्रमणनाशी है। इसमें से क्लोरीन थोड़ी धीमी गति से मुक्त होती है। क्लोरेमीन का उपयोग पानी को संक्रमण मुक्त करने हेतु भी किया जाता है:

क्लोरीन-युक्त पानी में 0.05 प्रतिशत क्लोरेमीन होता है। ध्यान रखें कि क्लोरीन-युक्त पानी प्रयोगशाला परीक्षणों में अड़चन पैदा कर सकता है। लिहाजा आसुत पानी का उपयोग किया जाना चाहिए।

5. कैल्शियम हायड्रॉक्साइड

कैल्शियम हायड्रॉक्साइड घोल बनाने के लिए चूने (कैल्शियम ऑक्साइड) को पानी में घोला जाता है (1 भाग: 3 भाग वज़न/आयतन)। टी.बी. के मरीज़ों के मल का संक्रमण नष्ट करने हेतु उपयुक्त नही है।

क्वारटर्नरी अमोनियम यौगिक वर्धी-अवस्था के बैक्टीरिया और कुछ फफूंद के विरुद्ध कारगर रहते हैं। ये बीजाणु, वायरस और मायकोबैक्टीरिया के खिलाफ असरदार नहीं हैं। ये विषैले नहीं हैं और चमड़ी के लिए हानिरहित हैं।

6. अल्कोहल

अल्कोहल (जैसे इथेनॉल, आइसोप्रोपेनॉल, n-प्रोपेनॉल) अत्यंत तीव्र गति से क्रिया करते हैं मगर ये महंगे होते हैं। इनका उपयोग आम तौर पर चमड़ी के संक्रमण हेतु किया जाता है। ये बैक्टीरिया तथा कुछ वायरसों को खत्म कर देते हैं मगर फफूंद को नहीं।

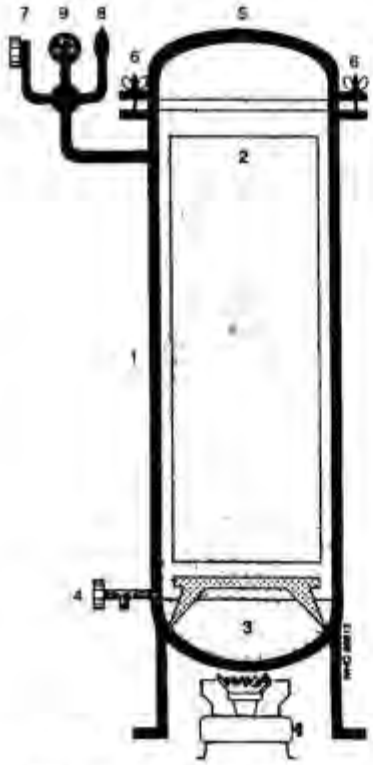
7. आयोडीन

आयोडीन एक उम्दा त्वरित क्रिया वाला संक्रमणनाशी है। इसकी क्रिया का दायरा बहुत विस्तृत है। यह बैक्टीरिया, कुछ बीजाणु, वायरसों और फफूंद को नष्ट कर देता है। कम तापमान पर आयोडीन अन्य संक्रमणनाशियों से अधिक कारगर है। कुछ लोग आयोडीन के प्रति अतिसंवेदी होते हैं, आयोडीन से संपर्क की जगह पर उन्हे फुंसियां हो जाती हैं। यदि आयडोफोर्स (आयोडीन युक्त पोलीमर घोल) का उपयोग करें तो यह अतिसंवेदना कम होती है। जैसे पोलीविडोन आयोडीन।

IV. निर्जीवीकरण (स्टरलाइज़ेशन)

निर्जीवीकरण यानी स्टरलाइज़ेशन का मतलब किसी वस्तु में या उसके आसपास के सारे सूक्ष्मजीवों को नष्ट करना। चिकित्सा प्रयोगशाला में निर्जीवीकरण के लिए या तो नम गर्मी (ऑटोक्लेव, उबालना) या सूखी गर्मी (गर्म हवा का ओवन, लौ) का उपयोग किया जाता है। चिकित्सा प्रयोगशाला में निर्जीवीकरण तीन मुख्य उद्देश्यों से किया जाता है:

- नमूना संग्रह करने की तैयारी में (सुई, सिरिंज, परख नलियां वगैरह निर्जीवीकृत होनी चाहिए);
- दूषित सामग्री को संक्रमणमुक्त करने के लिए;
- बैक्टीरिया संवर्धन यानी कल्चर हेतु उपकरण तैयार करने हेतु (पेट्री डिश, पाश्चर पिपेट वगैरह)।



चित्र 4.7 ऑटोक्लेव के भाग
1. बॉयलर; 2. बास्केट; 3.टोकरी का सहारा (बास्केट सर्पोट); 4. निकासी नल; 5.ढक्कन; 6.ढक्कन के चिमटे; 7.हवा निकासी वॉल्व; 8.सेफटी वॉल्व; 9.तापमान या दबाबमापी

भाप से निर्जीवीकरण

A. ऑटोक्लेव का उपयोग

चिकित्सकीय नमूने या अन्य दूषित अपशिष्ट पदार्थों को एक विशेष ऑटोक्लेव बैग में या धातु अथवा प्लास्टिक की बाल्टी में रख दिया जाता है। ऑटोक्लेव के निर्जीवीकरण सूचकों का उपयोग करके निर्जीवीकरण चक्र को नियंत्रित करें।

सिद्धांत

पानी को एक बंद पात्र में गर्म किया जाता है। इससे उच्च दाब पर संतृप्त भाप बदती है जिसका तापमान 100^0 सेल्सियस से अधिक होता है। यदि उपकरणों को उच्च दाब वाली भान में 120^0 सेल्सियस पर 20 मिनट के लिए रखा जाए तो बैक्टीरिया समेत सारे सूक्ष्मजीव मारे जाते हैं (मगर वायरस नहीं मरते)।

ऑटोक्लेव के भाग (चित्र 4.7)

1. *बॉयलर*

   एक गहरा बेलनाकार पात्र होता है जिसमें सामग्री को निर्जीवीकरण हेतु रखा जाता है।

2. *बास्केट*

   तारों से बनी एक बड़ी टोकरी जिसमें सामग्री रखी जाती है।

3. *टोकरी का सहारा (बास्केट सपोर्ट)*

आटोक्लेव के पेंदे में एक जगह जो टोकरी को पानी के तल से उपर रखती है।

4. *निकासी नल*

बॉयलर के निचले हिस्से में अतिरिक्त पानी को निकालने का नल।

5. *ढक्कन*

ढक्कन बॉयलर को कसकर बंद कर देता है, इसमें एक रबर वॉशर लगा होता है।

6. *ढक्कन के चिमटे*

इन चिमटों और रबर वॉशर की मदद से ढक्कन को कसकर बंद किया जाता है ताकि भाप बाहर न निकले।

7. *हवा निकासी वॉल्व*

बॉयलर के ऊपरी सिरे पर या ढक्कन में एक वॉल्व होता है। जब पानी को गर्म करना शुरू करते है तब हवा इसमें से बाहर निकल जाती है।

8. *सेफ्टी वॉल्व*

बॉयलर के ऊपरी सिरे पर ढक्कन में एक वॉल्व होता है। जब भाप का दबाव बहुत अधिक हो जाए तो यह खुल जाता है। यह दबाव की वजह से हो सकने वाले विस्फोट की रोकथाम करता है।

9.*तापमान या दबाव मापी*

तापमान मापी डिग्री सेल्सियस में तापमान दर्शाता है; कुछ आटोक्लेव में दबाव मापी भी होता है।

गर्म करने की व्यवस्था

ऑटोक्लेव में गर्म करने की व्यवस्था निम्नानुसार की जा सकती है:

बिजली का एलीमेंट

गैस का चूल्हा

पैराफिन तेल का स्टोव

स्थापना

ऑटोक्लेव शोर करते हैं, इसलिए इन्हें काम करने की मुख्य जगह से थोड़ा दूर लगाना चाहिए। यदि ऑटोक्लेव को गर्म करने के लिए गैस के चूल्हे या पैराफिन तेल वाले स्टोव का इस्तेमाल करें तो इसे ज्वलनशील सामग्री से दूर रखें।

चित्र 4.8 सिरिंज व सुइयों को ऑटोक्लेव करना

निर्जीवीकरण हेतु सामग्री तैयार करना

बारम्बार उपयोगी सिरिंज

पुनः उपयोगी सिरिंजों को कांच की एक परखनली में रखकर गैर-अवशोषी कपास के फोहे से बंद कर दें (पिस्टन व बैरल को अलग-अलग नलियों में रखें, चित्र 4.8)। विकल्प के रूप में इन्हें एक कपड़े में लपेटकर एक धातु की तश्तरी में रखा जा सकता है ।

बारम्बार उपयोगी सुइयां

इन सुइयो को अलग परखनली में रखकर कपास के फोहे से बंद कर दें (देखिए चित्र 4.8)। प्रत्येक परखनली के पेंदे में गैर-अवशोषी रूई का एक फ़ोहा रखें ताकि सुई की नोक सुरक्षित रहे।

चित्र 4.9 सुइयों को ऑटोक्लेव करने का वैकल्पिक तरीका

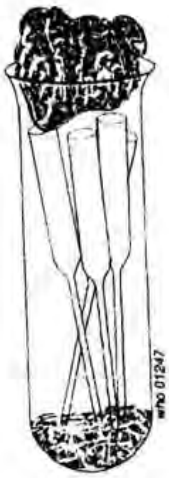
ऐसा भी कर सकते है कि सुइयों की नोकों को एक कपड़े में टांककर उन्हें एक ट्रे में जमा दें (चित्र 4.9)। धातु की तश्तरियों को खुला ही ऑटोक्लेव में रखा जाता है।

कांच का सामान

नमूना लेने की परख नलियों, पेट्री डिश वगैरह को ऑटोक्लेव में रखने योग्य पोलीथीन बैगों में रखकर धागे से अच्छी तरह बांध देना चाहिए।

पाश्चर पिपेट (चित्र 4.10)

पाश्चर पिपेटों को एक बड़ी परख नली में रखकर गैर-अवशोषी रूई के फोहे से बंद कर देना चाहिए। विकल्प के तौर पर इन्हें ऑटोक्लेव के उपयुक्त पोलीथीन बैग में रखा जा सकता है।



चित्र 4.10
पाश्चर पिपेट को ऑटोक्लेव करना

निर्जीवीकरण की प्रक्रिया

1. ऑटोक्लेव के पेंदे में पानी भरें (टोकरी के नीचे तक)। यह ध्यान रखें कि पानी टोकरी को न छुए। ज़रूरी हो, तो अतिरिक्त पानी को निकासी नल से निकाल दें।
2. निर्जीवीकरण की सामग्री से भरी टोकरी को ऑटोक्लेव में रखें और साथ में निर्जीवीकरण सूचक कागज़ भी रख दें। सही तापमान हो जाने पर सूचक कागज़ काला पड़ जाता है।
3. ढक्कन को अच्छी तरह लगा दें। ध्यान रखें कि रबर वॉशर खांचे में बैठ जाए। ढक्कन के चिमटों को समान रूप से कस दें मगर बहुत कसकर नही।
4. हवा निकासी वाल्व खोल दें ।
5. ऑटोक्लेव को गर्म करना शुरू करें।
6. हवा निकासी वाल्व पर ध्यान दें। इसमें से जब भाप निकलने लगे तो 2-3 मिनट इन्तज़ार करे कि भाप एकसार ढंग से निकलने लगे। इससे पता चलता है कि ऑटोक्लेव की सारी हवा बाहर निकल गई है।
7. हवा निकासी वाल्व को बंद कर दें। ढक्कन के चिमटों को कस दें और ऊष्मा थोड़ी कम कर दें।
8. तापमापी पर ध्यान दें। जब मनचाहा तापमान (जैसे 120^0 सेल्सियस) हासिल हो जाए, तो ऊष्मा को इस तरह नियंत्रित करें कि यह तापमान बना रहे। ऊष्मा को तब तक कम करते जाएं जब तक कि तापमापी की सुई उपयुक्त तापमान पर टिकी रहे। अब समय गिनना शुरू करें।

निर्जीवीकरण की अवधि

- नमूना लेने के उपकरण (पुनःउपयोगी सिरिंज व सुइयां, परखनलियां): 120^0 सेल्सियस पर 20 मिनट।
- संक्रमित पदार्थो के पात्र (खखार पात्र, मवाद की परख नली वगैरह):120^0 सेल्सियस 30 मिनट।
- बैक्टीरिया संवर्धन माध्यमः बैक्टीरिया वैज्ञानिक या मुख्य प्रयोगशाला टेक्नीशियन के निर्देशों का पालन करें।

ऊष्मा बंद करना

1. ज़रूरी अवधि पूरी होते ही ऊष्मा बंद कर दें।
2. तापमान 100^0 सेल्सियस से कम हो जाने पर अंदर-बाहर का दबाब बराबर करने के लिए हवा निकासी वाल्व खोल दें।
3. जब सीटी की आवाज बंद हो जाए, ढक्कन के चिमटों को खोल दें। ढक्कन अलग कर लें। आटोक्लेव को ठंडा होने दें। इसके बाद निर्जीवीकरण उपकरणों की टोकरी सावधानी से निकाल लें। यदि उपकरणों पर पानी की बूंदें जमा हो गई हों तो उन्हे इन्क्यूबेटर में 37^0 सेल्सियस पर सुखा लें।

सफाई

ऑटोक्लेव को अंदर से रोज़ाना या जब कभी कोई चीज छलके तब साफ करें।

सावधानियां

1. जब ऑटोक्लेव दबाव के तहत गर्म हो तब निकासी नल, सेफ्टी वाल्व या हवा निकासी वाल्व को

कदापि न छुएं।

2. हवा निकासी वाल्व बंद करने के बाद दबाव बढ़ाने के लिए ऑटोक्लेव को तेज़ी से गर्म कदापि न करें।
3. जब दबाव बढ रहा हो, तब ऑटोक्लेव से ध्यान न हटाएं।
4. जब तक दबाव सामान्य न हो जाए, ढक्कन को न खोलें, क्योकि ऐसा करने पर आप भाप से जल सकते हैं।
5. निर्जीवीकरण करते समय ध्यान दें कि ढक्कन ठीक से लगा हो और उसमें से भाप न निकले। यदि ढक्कन में से भाप निकलती रही तो दबाव व तापमान सही स्तर तक नही पहुंचेंगे।
6. ऑटोक्लेव को लंबे समय तक ठंडा होने को न छोड़ें क्योकि हवा निकासी वाल्व को खोले बगैर ठंडा होने दिया जाए तो अंदर निर्वात पैदा हो जाता है।

B. प्रेशर कुकर का उपयोग

प्रेशर कुकर में उच्च दबाव पर भाप की मदद से खाना जल्दी पकाया जाता है। इनका उपयोग कुछ छोटी प्रयोगशालाओं में उपकरणों के निर्जीवीकरण हेतु किया जाता है।

i. घूमते वाल्व वाला प्रेशर कुकर

1. प्रेशर कुकर के पेंदे में पानी भरिए। निर्जीवीकरण करने के लिए सामग्री या वस्तु को एक टोकरी में रखिए (इस टोकरी को पानी के तल से ऊपर रखने के लिए एक आधार होता है)। लपेटी हुई वस्तुओं को खड़ा रखना चाहिए (कभी लिटाकर न रखें, देंखे चित्र 4.11)।
2. ढक्कन लगा दें। उसे नॉब की मदद से कस दें। घूमते वाल्व को ढक्कन पर उसके स्थान पर लगा दें (चित्र 4.12)।
3. स्टोव पर रखकर प्रेशर कुकर को गर्म करना शुरू करें। जल्दी ही वाल्व घूमने लगेगा और उसमें से भाप निकलेगी।
4. जब भाप की यह धारा निरंतर निकलने लगे, तब आंच थोड़ी धीमी कर दें ताकि वाल्व धीमे-धीमे घूमता रहे। मध्यम आंच पर प्रेशर कुकर को 20 मिनट तक रखें।
5. स्टोव बंद कर दें। प्रेशर कुकर को ठंडा होने दें या पानी से ठंडा कर लें।
6. घूमते वाल्व को खींचकर निकाल दें ताकि हवा अंदर जा सके। ढक्कन खोलें। निर्जीवीकरण सामग्री निकालकर प्रेशर कुकर को सूखने दें।

चेतावनी: सेफ्टी वाल्व (चित्र 4.12 में V-2) को कदापि न छुएं। यह ढक्कन पर कसा होता है।

चित्र 4.11
प्रेशर कुकर में नर्जीवीकरण

चित्र 4.12
प्रेशर कुकर के भाग

ii. फिक्स वाल्व वाला प्रेशर कुकर

1. ऊपर बताए अनुसार प्रेशर कुकर में पानी और निर्जीवीकरण की सामग्री रख दें।
2. ढक्कन में लगा वाल्व खोल दें। प्रेशर कुकर को गर्म करना शुरू करें।
3. जैसे ही वाल्व में से लगातार भाप निकलने लगे वाल्व को बंद कर दें।
4. वाल्व के सीटी देने तक रुकें। जब यह सीटी देने लगे, आंच थोड़ी कम कर दें। मध्यम आंच पर प्रेशर कुकर को 20 मिनट तक रखें।
5. आंच बंद कर दें। प्रेशर कुकर को ठंडा होने दें या पानी से ठंडा कर लें।
6. वाल्व खोलकर हवा अंदर घुसने दें। ढक्कन खोलें और निर्जीवीकरण की सामग्री को निकाल लें और प्रेशर कुकर को सूखने दें।

चेतावनी: सेफ्टी वाल्व को कदापि न छुंए।

C. उबालकर निर्जीवीकरण

इस तरीके का उपयोग तभी करना चाहिए जब और कोई चारा न हो। इसके लिए खास बॉइलिंग पैन का उपयोग करें या यदि वह न हो तो किसी भी पतीली का उपयोग करें। पतीली में पानी भरें (बेहतर होगा कि लवणमुक्त पानी लें)। इसे स्टोव पर गर्म करें। कांच के उपकरण (सिरिंज) इसमें तभी डाल दें जब पानी ठंडा हो। धातु की चीजें (पुनः उपयोगी सुइयां, चिमटियां) उबलते पानी में डालना चाहिए। इन चीजों को 30 मिनट तक उबलने दें।

D. सूखी गर्मी से निर्जीवीकरण

गर्म हवा के ओवन का उपयोग

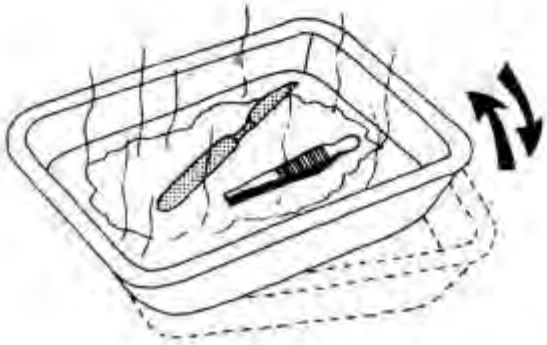
ऑटोक्लेव न होने पर इस विधि का उपयोग मात्र कांच या धातु की चीज़ों (पुनःउपयोगी सिरिंज और सुइयां, पिपेट वगैरह) के लिए करना चाहिए। इसका उपयोग सूक्ष्मजीव संवर्धन के लिए नही किया जाना चाहिए। इनके लिए तो ऑटोक्लेव का ही उपयोग होना चाहिए (देखें पृष्ठ 39)।

1. निर्जीवीकरण करने के लिए सामग्री को उसी तरह तैयार करें जैसे ऑटोक्लेव विधि के लिए की थी। कपास के फोहे बहुत मोटे नहीं होने चाहिए अन्यथा गर्म हवा इनमें से पार नहीं हो पाएगी। धातु के डिब्बों के ढक्कन थोड़े-थोड़े उठाकर इस तरह जमा दीजिए कि उनके मुंह ओवन के पिछले हिस्से की ओर हों।
2. थर्मोस्टेट को 175° सेल्सियस पर करके ओवन चालू कर दें। यदि ओवन में पंखा हो तो देख लें कि वह चल रहा है।
3. तापमापी पर गौर कीजिए। जब तापमान 175° सेल्सियस पर पहुंच जाए तब इसी तापमान पर 60 मिनट तक गर्म कीजिए। यदि निर्जीवीकृत की जाने वाली सामग्री भारी या बड़ी-बड़ी हो या इसमें पावडर, तेल या पेट्रोलियम जेली शामिल हो, तो 175° सेल्सियस पर 2 घंटे तक गर्म करें।
4. ऊष्मा बंद कर दें। तापमान 40° सेल्सियस होने तक इंतज़ार करें। ओवन का दरवाज़ा खोलकर धातु के डिब्बों के ढक्कन बंद कर दें। निर्जीवीकृत सामग्री निकाल लें।

E. लौ से निर्जीवीकरण

इस विधि का उपयोग सिर्फ धातु के उपकरणों (जैसे चिमटियों, चाकू) के लिए किया जाना चाहिए। यह आम इस्तेमाल के लिए उपयुक्त नही है।

1. चीज़ों को धातु की तश्तरी में रख दें।
2. करीब 10 बूंद इथेनॉल डालकर आग लगा दें।
3. जलते समय तश्तरी को पहले एक तरफ और फिर दूसरी तरफ झुकाइए (चित्र 4.13)।



चित्र 4.13 लौ में निर्जीवीकरण

बैक्टीरिया विज्ञान के लूप्स को निर्जीवीकृत करने के लिए उन्हें गैस चूल्हे की लौ में रखकर लाल होने तक गर्म कीजिए।

v/;k; & 5
i;k'kkyk d dpj dk fiuVku

नमूनों और संदूषित सामग्री का निपटान

प्रयोगशाला में लाई गई किसी भी चिकित्सकीय सामग्री और इस सामग्री के साथ काम करने के लिए प्रयुक्त सारे उपकरणों को संक्रमित माना जाना चाहिए। प्रयोगशाला में दुर्घटना से बचने के लिए नमूनों और संदूषित सामग्री के सही हैण्डलिंग और निपटान को महत्व दिया जाना चाहिए।

निपटान योग्य सामग्री को जलाना

सिगड़ी बनाएं (चित्र 5.1)

धातु का कोई पुराना ड्रम इसके लिए ठीक रहेगा।

1. ड्रम में लगभग एक-तिहाई ऊंचाई पर एक जाली (G) लगा दें।
2. जाली के नीचे ड्रम में एक खिड़की बना दें (V)।
3. इस ड्रम के लिए एक ढक्कन का जुगाड़ कर लें (L)।

सिगड़ी का उपयोग

- रोज़ाना सुबह और दोपहर के काम के बाद मल व खखार के सारे पात्रों को सिगड़ी की जाली पर रख दें (चित्र 5.2)।
- सिगड़ी के ढक्कन और खिड़की को, जलाने के समय के अलावा, बंद रखना चाहिए।
- जलाने का काम सप्ताह में एक बार या ज़रूरी हो, तो ज़्यादा बार करना चाहिए। ड्रम के पेंदे में कागज़, लकड़ियां, लकड़ी का बुरादा वगैरह भर दें।
- ढक्कन हटा दें। आग लगा दें और तब तक जलने दीजिए जब तक कि सारी संक्रमित सामग्री जलकर राख न हो जाए।
- यह राख खतरनाक नहीं होती और इसे घूरे पर फेंका जा सकता है।

चित्र 5.1 सिगड़ी के भाग
G धातु की जाली, L ढक्कन, V खिड़की

चित्र 5.2 सिगड़ी का उपयोग

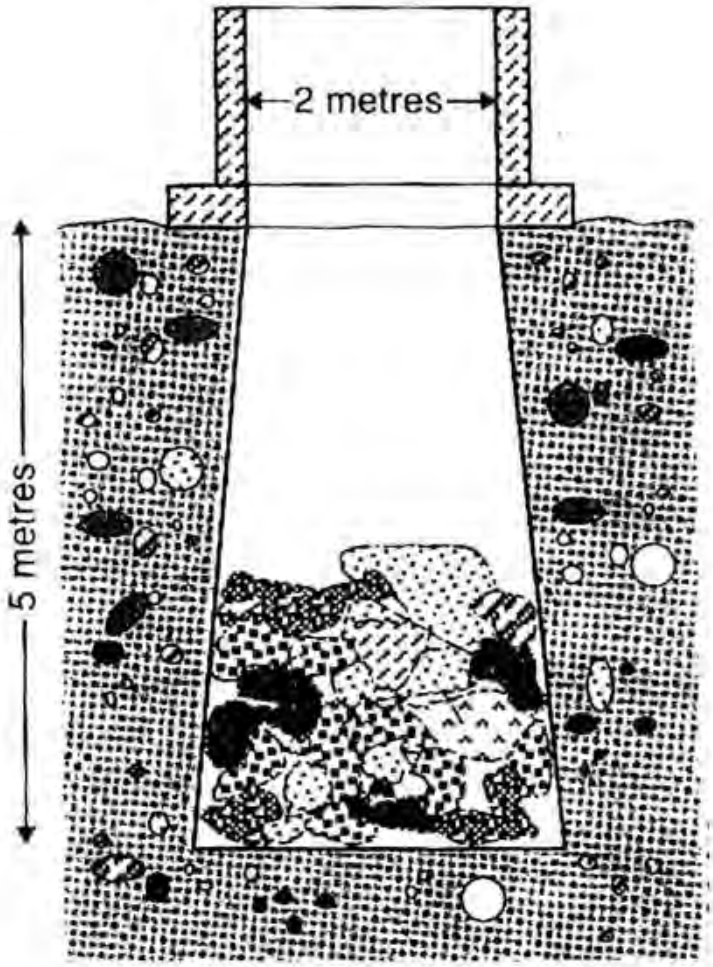
फेंकने योग्य सामग्री का दफन

4-5 मीटर गहरा और 1-2 मीटर चौड़ा एक गड्ढा खोदें। गड्ढा ऐसी जगह खोदें जहां सतह का पानी इसमें न घुस सके और न ही इस गड्ढे का पानी भूजल में रिस सके (चित्र 5.3)।

किसी हालत में गड्ढा पानी के किसी स्रोत के पास न खोदें।

गड्ढे पर फिट होने योग्य एक ढक्कन तैयार करें। बेहतर होगा कि गड्ढे के ऊपरी किनारे को ईंटों या पत्थरों से पक्का कर लें।

- इस गड्ढे को जानवरों, परिंदों और इन्सानों से बचाएं।
- मल और खखार के डिब्बों तथा अन्य संक्रमित सामग्री को रोज़ाना दो बार इस डिब्बे में डालें। सामग्री डालने के तुरंत बाद ढक्कन लगा दें।
- सप्ताह में एक बार इस कचरे पर सूखी पत्तियों की एक परत (लगभग 10 से.मी.) बिछा दें।
- यदि संभव हो, तो सूखी पत्तियों की बजाय चूने (कैल्शियम ऑक्साइड) का उपयोग करें।



चित्र 5.3 दफन करके
सामग्री का निपटान

v/;k; & 6

i;k'kkyk e lj{kk

प्रयोगशाला में सुरक्षा

- हर प्रयोगशाला में सुरक्षित कामकाज का एक लिखित मैनुअल होना चाहिए और हर समय इसका पालन किया जाना चाहिए।
- प्रयोगशाला में एक प्राथमिक चिकित्सा बॉक्स (देखें पृ. 44,45) होना चाहिए और कम से कम एक कर्मचारी प्राथमिक चिकित्सा में प्रशिक्षित होना चाहिए।
- प्रयोगशाला मात्र कार्यस्थल होना चाहिए; यहां मुलाकातियों पर प्रतिबंध होना चाहिए।
- प्रयोगशाला में कुछ भी खाना-पीना नहीं चाहिए।
- सुरक्षा वस्त्र पहनें और प्रयोगशाला छोड़ने से पहले इन्हें उतारकर रख दें।
- प्रयोगशाला के हर नमूने को संक्रमण का संभावित स्रोत मानें और इन्हें सावधानी से हैण्डल करें; सदैव दस्ताने पहनें।
- सारे नमूनों को किसी बेंच या रैक पर रखें ताकि टूट-फूट न हो और नमूने बिखरे नहीं।
- रक्त के नमूने लेते समय और जांच करते समय बहुत सतर्क रहें क्योंकि इनमें संक्रामक जीव (हिपैटाइटिस बी वायरस, परजीवी वगैरह) हो सकते हैं।
- किसी भी नमूने से स्वयं को या कार्यस्थल को संदूषित न होने दें।
- रक्त या अन्य शारीरिक द्रवों या अभिकारकों को पिपेट में मुंह से न खींचें।
- सारी खरोचों को पक्की पट्टी (प्लास्टर) से ढंककर रखें।
- उपयोग की गई सुइयों और छुरियों को 'नुकीली चीज़ों के डिब्बे' में फेंकें। 'नुकीली चीज़ों का डिब्बा' किसी भी प्लास्टिक के डिब्बे के चूड़ीदार ढक्कन में एक छेद करके बनाया जा सकता है। जब यह डिब्बा भर जाए तो इसे ऑटोक्लेव कर सकते हैं या संक्रमणनाशी घोल में रखा जा सकता है। इसके बाद ही इस सामग्री को जलाना या दफन किया जाना चाहिए ((देखें पृ. 41,42))।
- बिखरी हुई सामग्री या टूटी हुई संवर्धन नलियों को संक्रमणनाशी में भीगे कपड़े से ढंक दें (देखें खण्ड 3.5.4) और 30 मिनट तक पड़ा रहने दें। इसके बाद एक कड़े ब्रश या कार्डबोर्ड के टुकड़े की मदद से इन्हें फेंकने योग्य नमूनों के डिब्बे में डाल दें।
- दिन का काम पूरा होने के बाद बेंचों को संक्रमणनाशी में भीगे एक कपड़े से पोंछें (देखें खण्ड 3.5.4)।
- संक्रामक सामग्री हैण्डल करने के बाद और प्रयोगशाला छोड़ने से पहले हाथ अच्छी तरह धोएं।

नमूनों को फेंकने के लिए:

- कार्ड बोर्ड के डिब्बों या प्लास्टिक के डिब्बों का उपयोग कर सकते हैं जिन्हें बाद में नष्ट किया जा सके (मल, खखार);
- कांच के जार या बोतलों का उपयोग कर सकते हैं जिन्हें बाद में साफ करके निर्जीवीकृत करके फिर से उपयोग कर सकते हैं (देखें पृ. 28)।

फेंकने योग्य पात्रों का पुनः उपयोग नहीं करना चाहिए।

दुर्घटना से बचाव की सावधानियां

अम्ल और क्षार संभालना

सांद्र गंधकाम्ल (सल्फ्यूरिक एसिड) को पानी से तनु करना

हमेशा सांद्र सल्फ्यूरिक अम्ल को पानी में बूंद-बूंद करके डालें और हर बूंद डालने के बाद हिलाते जाएं। संभव हो तो यह काम सिंक में करें। पानी को सल्फ्यूरिक अम्ल में कदापि न डालें क्योंकि ऐसा करने पर पानी का तेज़ी से वाष्पन होकर विस्फोटक स्थिति बन सकती है।

अम्ल व क्षार की बोतलें

अम्ल और क्षार की बोतलों को आलमारी के निचले खाने में रखिए। बोतल निकालते वक्त ध्यान रखें कि आपके हाथ सूखे हों। बोतल को मज़बूती से एकदम सीधा पकड़िए। अम्ल और क्षारों को ग्राउण्ड ग्लास के ढक्कन (घिसे हुए कांच के ढक्कन) वाली बोतलों में न रखें, ढक्कन चिपक सकता है।

पिपेट से निकालना

अम्ल और क्षार नापने के लिए छोटे नपनाघटों का उपयोग कीजिए। यदि ज़्यादा सटीक मापन ज़रूरी हो, तो रबर का सेफ्टी बल्ब लगा पिपेट उपयोग करें। पिपेट में धीरे-धीरे खींचें और द्रव के तल पर नज़र रखें।

कांच के उपकरणों और द्रवों को गर्म करना

परख नलियां

परखनली के पेंदे को कदापि गर्म न करें, ऐसा करने पर परख नली में रखा द्रव उफन सकता है। परख नली को बीच से गर्म करें और धीरे-धीरे हिलाते रहें। परख नली का मुंह अपने या किसी भी व्यक्ति की ओर न रहे। परख नली का मुंह किसी खाली जगह या सिन्क की तरफ रखें।

ऊष्मासह कांच

सिर्फ ऊष्मासह कांच के उपकरणों और पोर्सलीन के पात्रों को ही बुंसन ज्वाला पर गर्म किया जा सकता है। साधारण कांच के उपकरण टूट जाते हैं।

ज्वलनशील द्रव

प्रयोगशाला में ईथर, इथेनॉल, एसिटोन, बेंज़ीन और टॉलुइन जैसे ज्वलनशील द्रवों की थोड़ी मात्रा ही रखी जानी चाहिए।

चेतावनी: ईथर लौ से कुछ मीटर की दूरी पर भी आग पकड़ सकता है। ईथर की बोतल को किसी हालत में लौ के आसपास न रखें।

प्रोपेन व ब्यूटेन गैस बर्नर

गैस बर्नर में आग लगाने के लिए, गैस चालू करने से पहले माचिस जलाकर बर्नन के ऊपर रखें। ब्यूटेन गैस की टंकी का मुख्य वाल्व रोज़ शाम को बंद कर दें। साल में एक बार रबर नली को बदल दें।

दुर्घटना होने पर प्राथमिक उपचार

प्रयोगशाला में दुर्घटना कई वजहों से हो सकती है:

- चमड़ी पर या आंखों में अम्ल या क्षार के छींटे, अम्ल या क्षार निगलना।
- विषैले पदार्थ
- ऊष्मा: खुली लौ, गर्म द्रव, ज्वलनशील द्रव, विस्फोट
- संक्रामक सामग्री, बिजली के झटके वगैरह से चोट, घाव।

प्राथमिक उपचार की सामग्री

- प्राथमिक उपचार पेटी (आगे देखें)
- सोडियम कार्बोनेट, 5 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 32)
- सोडियम बाईकार्बोनेट, 2 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 25) (आईड्रॉप वाली शीशी में)
- बोरिक एसिड संतृप्त घोल (अभिकारक क्र.12) (आईड्रॉप वाली बोतल में)
- एसिटिक अम्ल, 5 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 30)
- रूई और पट्टी
- मरक्यूरोक्रोम और टिंक्चर आयोडीन

उपरोक्त चीज़ें प्रयोगशाला में सदैव मौजूद रहना चाहिए। इन्हें ताले में न रखें। सारे घोलों को प्लास्टिक बोतलों में रखें।

प्राथमिक उपचार पेटी

प्राथमिक उपचार पेटी में निम्नलिखित चीज़ें होनी चाहिए:

- एक निर्देश पत्र जिसमें सामान्य दिशा निर्देश हों।
- विभिन्न साइज़ों में अलग-अलग लपेटी गई निर्जीवीकृत एडहेसिव पट्टियां।
- निर्जीवीकृत आई पैड्स और साथ में पट्टियां।
- तिकोनी पट्टियां।
- गंभीर घावों के लिए निर्जीवीकृत पट्टियां
- सेफ्टी पिनें
- आई ड्रॉप्स की शीशियां
- प्राथमिक उपचार मैनुअल

प्राथमिक उपचार पेटी की सामग्री का उपयोग करने के बाद फौरन उसकी भरपाई की जानी चाहिए। इनका नियमित मुआयना करके यह सुनिश्चित किया जाना चाहिए कि सामग्री संतोषजनक स्थिति में है।

1. अम्ल से होने वाली जारक क्षति

सल्फ्यूरिक अम्ल, क्रोमिक अम्ल, हाइड्रोक्लोरिक अम्ल, एसिटिक अम्ल और ट्राईक्लोरोएसिटिक अम्ल जारक घाव पैदा कर सकते हैं। इसलिए अम्ल सम्बंधी दुर्घटना होने पर तत्काल कारवाई की जानी चाहिए।

सभी मामलों में प्रभावित हिस्से को तुरंत ढेर सारे पानी से धो डालें।

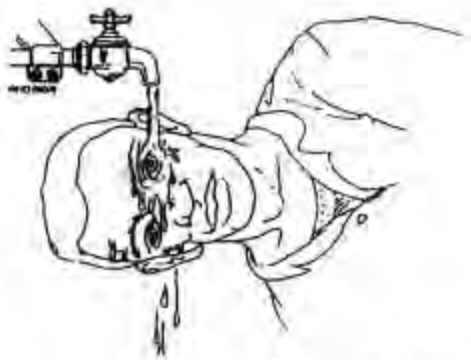
(i) चमड़ी पर अम्ल के छींटे

- प्रभावित हिस्से को बार-बार खूब सारे पानी से धोएं।
- प्रभावित चमड़ी को सोडियम कार्बोनेट के 5 प्रतिशत घोल में भीगी रूई से साफ करें।

(ii) आंख में अम्ल के छींटे

- आंखों को फौरन ढेर सारे पानी से धोएं। इसके लिए पोलीथीन की बोतल या रबर बल्ब से पानी की धार का उपयोग करें। ऐसा लगभग 15 मिनट तक करें (चित्र 6.1)। पानी की धार को आंख में नाक के पास वाले सिरे पर डालें। आंख को नल के बहते पानी से भी धोया जा सकता है (चित्र 6.2)। मरीज़ से अप्रभावित आंख को बंद रखने को कहें।
- पानी से अच्छी तरह धोने के बाद आंख में सोडियम बाईकार्बोनेट का 2 प्रतिशत घोल 1 बूंद डालें।
- चिकित्सक को बुलाएं। चिकित्सक के आने तक बाईकार्बोनेट घोल डालना जारी रखें।

चित्र 6.1 पोलीथीन की बोतल से आंख धोना



चित्र 6.2 नल की धार से आंख धोना

(iii) अम्ल निगलने पर

यदि गलती से अम्ल निगल लिया हो, तो

- चिकित्सक को बुलाएं
- मरीज़ को फौरन थोड़ा दूध पिलाएं (या दो अण्डों की सफेदी को 500 मि.ली. पानी में घोलकर पिलाया जा सकता है)। यदि ये दोनों ही उपलब्ध न हों, तो मरीज़ को सादा पानी पिलाएं।
- मरीज़ को दूध के गरारे करवाएं।
- मरीज़ को 3-4 गिलास सादा पानी पिलाएं।
- यदि अम्ल से जीभ व होंठ जल गए हों, तो
  - पानी से अच्छी तरह धोने के बाद
  - 2 प्रतिशत सोडियम बाईकार्बोनेट घोल से धोएं।

टीप: अम्ल को पिपेट से लेने के लिए हमेशा रबर सेफ्टी बल्ब का उपयोग करें, मुंह से न खींचे।

2. क्षार से जारक घाव

सोडियम हायड्रॉक्साइड, पोटेशियम हायड्रॉक्साइड, और अमोनियम हायड्रॉक्साइड जैसे क्षार भी जारक घाव पैदा कर सकते हैं। क्षार के घाव अम्ल की अपेक्षा ज्यादा गंभीर हो सकते हैं।

सारे मामलों में: प्रभावित हिस्से को तुरंत ढेर सारे पानी से धो डालें।

(i) चमड़ी पर क्षार के छींटे

- प्रभावित हिस्से को ढेर सारे पानी से बार-बार धोएं।
- प्रभावित हिस्से को 5 प्रतिशत एसिटिक एसिड घोल (या साधारण सिरके अथवा नींबू के रस) में भीगे कपास से साफ करें।

(ii) आंखों में क्षार के छींटे

- आंख को फौरन ढेर सारे पानी से धोएं। इसके लिए पोलीथीन बोतल या रबर बल्ब का उपयोग करें। पानी की धार आंख में नाक के नज़दीक वाले सिरे से डालें (चित्र 3.76)। नल के बहते पानी की धार में भी आंख को धो सकते हैं (चित्र 3.77)।
- पानी से धोने के बाद आंख को बोरिक अम्ल के संतृप्त घोल से भिगोएं।
- चिकित्सक को बुलाएं। चिकित्सक के आने तक आंख में बोरिक अम्ल डालते रहें।

(iii) क्षार निगलने पर

यदि गलती से क्षार निगल लिया हो, तो

- चिकित्सक को बुलाएं।
- मरीज़ को फौरन एसिटिक अम्ल का 5 प्रतिशत घोल पिलाएं (इसकी जगह नींबू पानी या 1 भाग सिरके में 3 भाग पानी मिलाकर भी पिला सकते हैं)।
- इसी घोल से मरीज़ को गरारे करवाएं।
- मरीज़ को 3-4 गिलास सादा पानी पिलाएं।

(iv) यदि क्षार से जीभ और होंठ जल गए हों, तो

- पानी से अच्छी तरह धोने के बाद
- 5 प्रतिशत एसिटिक अम्ल के घोल से भिगोएं।

3. विषाक्तता (पॉइज़निंग)

विषाक्तता निम्नलिखित कारणों से हो सकती है:

- विषैली वाष्प या गैस सूंघने से (जैसे क्लोरोफॉर्म)
- गलती से कोई विषैला घोल निगलने से।

सारे मामलों में:

- विषैले पदार्थ की पहचान बताते हुए किसी चिकित्सक अथवा योग्यता प्राप्त नर्स को बुलवाइए।
- चिकित्सक या नर्स के आने तक मरीज़ को खुली हवा में रखें।

4. गर्मी से जलना

यह दो प्रकार का होता है:

- गंभीर जलना (जैसे जलते हुए ईथर या उबलते पानी से)
- साधारण जलना (जैसे कांच के गर्म उपकरण या बुंसन बर्नर की लौ से)

(i) गंभीर जलना

- यदि व्यक्ति जल रहा हो (जैसे जलता हुआ ईथर या अन्य ज्वलनशील पदार्थ गिर जाने से) तो उसे कंबल में लपेटकर लपटों को बुझाइए।
- ड्यूटी पर मौजूद चिकित्सक को सूचित कीजिए कि जले हुए मरीज़ को संभालना है।
- मरीज़ को फर्श पर लिटा दीजिए। कोई वस्त्र मत उतारिए। यदि मरीज़ ठण्डा हो, तो उसे ओढ़ा दीजिए।
- जले हुए हिस्से पर कोई उपचार न करें, यह काम चिकित्सक पर छोड़ दें।

(ii) साधारण जलना

- प्रभावित हिस्से को पानी या बर्फ-पानी के मिश्रण में डुबा दीजिए ताकि सुकून मिले।
- जले हुए हिस्से पर मरक्यूरोक्रोम या टिंक्चर आयोडीन लगाएं।
- सूखी जालीदार पट्टी ढीली-ढीली बांध दें।
- यदि जले हुए हिस्से में संक्रमण हो जाए या वह ठीक न हो रहा हो, तो मरीज़ को किसी चिकित्सक को दिखाएं।

टीप: जले हुए हिस्से पर बने फफोलों को कदापि न फोड़ें।

5. टूटे कांच से हुए घाव

(i) साफ कांच

- सामान्य ढंग से चमड़ी को संक्रमण मुक्त करें (जैसे मरक्यूरोक्रोम या टिंक्चर आयोडीन से)
- यदि घाव साधारण हो, तो उस पर तैयारशुदा ड्रेसिंग (चिपकने वाली टेप) लगा दें।
- यदि कटी हुई जगह से बहुत ज़्यादा रक्त बह रहा हो, तो किसी निर्जीवीकृत फोहे से दबाकर रक्त बहना रोकें। मरीज़ को आपात चिकित्सा विभाग में भेज दें।
- यदि घाव में से रक्त रुक-रुककर बह रहा हो तो एक निर्जीवीकृत फोहे से रक्त रोकने का प्रयास करें और किसी चिकित्सक अथवा योग्यता प्राप्त नर्स को बुलवाएं।
- चिकित्सक या नर्स के आने तक ढंके हुए घाव को दबाकर रखें। चिकित्सक या नर्स फैसला करेंगे कि टूर्नीकेट (अवरोधक पटटी) बांधना ज़रूरी है या नहीं।

(ii) संक्रमित साम्रगी वाला कांच

मल, मवाद, बैक्टीरिया कल्चर वगैरह वाले कांच के उपकरण

- देखें कि क्या कटे हुए हिस्से से रक्त निकल रहा है; यदि नहीं, तो ज़ोर से दबाकर कुछ मिनटों के लिए रक्त निकालें।
- पूरे हिस्से (घाव के आसपास और अंदर) को टिंक्चर आयोडीन या सर्जिकल एण्टीसेप्टिक (देखें तालिका 3.1, पृष्ठ 34) से भिगो दें।
- पूरे हिस्से को साबुन के पानी से धो दें।
- फिर से टिंक्चर आयोडीन से धो डालें।
- यदि काटने वाली सामग्री संक्रामक थी (जैसे बैक्टीरिया कल्चर, मवाद) तो मरीज़ को चिकित्सक के पास भेजें।

6. बिजली का झटका

प्रयोगशाला में आम तौर पर ए.सी. बिजली (120 या 220 वोल्ट) का उपयोग होता है। यदि किसी गड़बड़ उपकरण को गीले हाथों से हैण्डल किया जाए तो झटका लग सकता है। इसके लक्षणों में बेहोशी, सांस में तकलीफ (एस्फीक्सिया) और हृदय गति रुकना शामिल हैं।

- कुछ भी करने से पहले मेन स्विच से बिजली बंद कर दें।
- चिकित्सक को बुलवाएं।
- हृदय गति रुकने की स्थिति में ऊपर से हृदय की मालिश करें और कृत्रिम श्वसन देना शुरू कर दें।

v/;k; & 7

l{en'kh

सूक्ष्मदर्शी का उपयोग

बीमारी के निदान में सूक्ष्मदर्शी एक ज़रूरी उपकरण है। यह एक नाज़ुक उपकरण है और इसकी भलीभांति देखभाल ज़रूरी होती है, अन्यथा इसके यांत्रिक व प्रकाशीय हिस्से क्षतिग्रस्त हो सकते हैं। इसके अलावा लेंस पर फफूंद की वृद्धि को भी रोकना होता है।

I. सूक्ष्मदर्शी के भाग

सूक्ष्मदर्शी के भागों को चार तंत्रों में बांटा जा सकता है:

- आधार तंत्र
- आवर्धन व्यवस्था
- प्रकाश व्यवस्था
- समायोजन (एडजस्टमेंट) व्यवस्था

1. आधार तंत्र (चित्र 7.1)

इसमें निम्नलिखित भाग आते हैं:

- टांग (1)
- भुजा (2)
- घूमता नोज़पीस (ऑब्जेक्टिव परिवर्तक) (3)
- मंच (4)
- चलित मंच (5) इससे स्लाइड को धीरे-धीरे नियंत्रित गति से सरकाया जा सकता है।

2. आवर्धन व्यवस्था (चित्र 7.2)

इसमें लेंसों का एक तंत्र होता है। सूक्ष्मदर्शी में लेंसों के दो समूह होते हैं - एक लंबी नली (बॉडी ट्यूब) के दो सिरों पर।

- लेंसों का पहला समूह नली के निचले सिरे पर लगा होता है। यह जांच की जा रही स्लाइड (वस्तु) से थोड़ा ऊपर होता है। इसलिए इसे ऑब्जेक्टिव कहते हैं।
- लेंसों का दूसरा समूह नली के ऊपरी सिरे पर होता है और इसे नेत्र लेंस (आई पीस) कहते हैं।

(i) ऑब्जेक्टिव्स लेंस

आवर्धन

प्रत्येक ऑब्जेक्टिव की आवर्धन क्षमता लेंस की डिबिया पर तराशी हुई रहती है (चित्र 7.3)।

X10 ऑब्जेक्टिव 10 गुना आवर्धन करता है;

X40 ऑब्जेक्टिव 40 गुना आवर्धन करता है;

X100 ऑब्जेक्टिव 100 गुना आवर्धन करता है।

चित्र 7.1 सूक्ष्मदर्शी के आधार तंत्र के भाग
1 टांग, 2 भुजा, 3 घूमता नोज़ पीस,
4 मंच, 5 चलित मंच

चित्र 7.2 आवर्धन व्यवस्था के भाग आईपीस नली ऑब्जेक्टिव

(आम तौर पर X100 ऑब्जेक्टिव की डिबिया पर एक लाल छल्ला अंकित होता है, जो दर्शाता है कि इसका उपयोग इमर्शन तेल के साथ ही किया जाना चाहिए।)

कुछ सूक्ष्मदर्शियों में X10 की बजाय X3 और X5 के ऑब्जेक्टिव लगे होते हैं।

छिद्र अंक (न्यूमेरिकल एपरचर)

लेंस डिबिया पर आवर्धन के बाजू में छिद्र अंक भी लिखा होता है। जैसे,

X10 ऑब्जेक्टिव पर 0.30

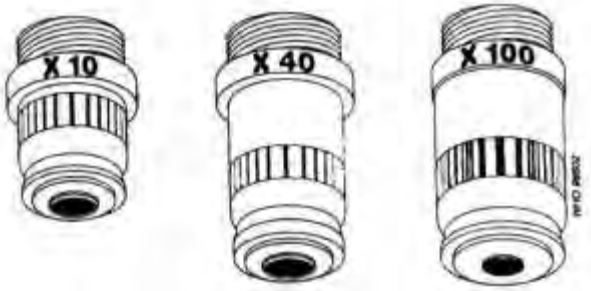
X40 ऑब्जेक्टिव पर 0.65

X100 ऑब्जेक्टिव पर 1.30

छिद्र अंक जितना अधिक होगा, विभेदन क्षमता उतनी अधिक होगी (चित्र 7.4)। इसके अलावा छिद्र अंक जितना अधिक है, ऑब्जेक्टिव व्यवस्था के नीचे लगा लेंस उतना ही छोटा होता है। X100 ऑब्जेक्टिव व्यवस्था का निचला लेंस एक पिन के सिर के बराबर होता है। अतः इसे ध्यान से हैण्डल करें।

लेंस डिबिया पर अन्य अंक

लेंस डिबिया पर अन्य सूचनाएं भी हो सकती है:



चित्र 7.3 ऑब्जेक्टिव लेंस

चित्र 7.4 छिद्र अंक (न्यूमेरिकल एपरचर)

– ऑब्जेक्टिव व आई पीस के बीच की नली की लंबाई (आम तौर पर 160 मि.मी.);

– स्लाइड पर रखी वस्तु को ढंकने के लिए प्रयुक्त कवर स्लिप की मोटाई, जैसे 0.16 मि.मी.।

सारी ऑब्जेक्टिव डिबियों की चूड़ियां मानकीकृत होती हैं ताकि घूमते नोज़पीस में ऑब्जेक्टिव किसी भी छेद में लगाए जा सकें।

कामकाजी दूरी

ऑब्जेक्टिव की कामकाजी दूरी ऑब्जेक्टिव और स्लाइड के बीच की वह दूरी है जब वस्तु फोकस में हो। लेंस की आवर्धन क्षमता जितनी अधिक होगी, कामकाजी दूरी उतनी कम होगी (चित्र 7.5):

X10 ऑब्जेक्टिव - कामकाजी दूरी 5-6 मि.मी.

X40 ऑब्जेक्टिव - कामकाजी दूरी 0.5-1.5 मि.मी.

X100 ऑब्जेक्टिव - कामकाजी दूरी 0.15-0.20 मि.मी.

चित्र 7.5 ऑब्जेक्टिव की कामकाजी दूरी

विभेदन क्षमता

ऑब्जेक्टिव की विभेदन क्षमता से तात्पर्य है कि वह कितनी नजदीक की दो चीज़ों को अलग-अलग व स्पष्ट दिखा सकता है। ऑब्जेक्टिव की विभेदन क्षमता जितनी अधिक होगी, उतना ही स्पष्ट प्रतिबिंब बनेगा।

चिकित्सा प्रयोगशाला में प्रयुक्त अच्छे सूक्ष्मदर्शी की विभेदन क्षमता करीब 0.25 माइक्रोमीटर होती है। (सामान्य मनुष्य की आंख की विभेदन क्षमता 0.25 मि.मी. होती है।)

इमर्शन तेल विभेदन क्षमता को बढ़ा देता है क्योंकि यह उन सारी किरणों को बिखरने से बचा लेता है जो सूखे ऑब्जेक्टिव में अपवर्तित होकर गुम हो जाती हैं।

(ii) नेत्र लेंस (आई पीस)

आवर्धन

नेत्र लेंस की आवर्धन क्षमता उस पर लिखी होती है (चित्र 7.6)।

X5 आई पीस ऑब्जेक्टिव द्वारा बने प्रतिबिम्ब को 5 गुना आवर्धित करता है।

X10 आई पीस ऑब्जेक्टिव द्वारा बने प्रतिबिम्ब को 10 गुना आवर्धित करता है।

यदि ऑब्जेक्टिव किसी वस्तु का 40 गुना बड़ा प्रतिबिम्ब बनाता है तो नेत्र लेंस द्वारा 5 गुना आवर्धन होने पर कुल आवर्धन 5X40=200 होगा। वस्तु के प्रतिबिम्ब का कुल आवर्धन पता करने के लिए ऑब्जेक्टिव की आवर्धन क्षमता में आई पीस की आवर्धन क्षमता का गुणा कर दीजिए। चिकित्सा प्रयोगशाला में प्रयुक्त सूक्ष्मदर्शियों की आवर्धन क्षमता X50 से X1000 तक होती है। कुछ नेत्र लेंसों पर एक मापन यंत्र (ग्रेटिक्यूल) लगा होता है। इसकी मदद से वस्तु की साइज़ पता की जाती है (जैसे किसी प्रोटोज़ोआ की सिस्ट की साइज़)।

चित्र 7.6 आई पीस (नेत्र लेंस)

द्विनेत्री (बायनॉक्यूलर) सूक्ष्मदर्शी

आम तौर पर द्विनेत्री सूक्ष्मदर्शी (एक ऑब्जेक्टिव के साथ दो आई पीस) की सिफारिश की जाती है। जब लंबे समय तक अवलोकन करना हो, तो एक नेत्र सूक्ष्मदर्शी की अपेक्षा द्विनेत्री सूक्ष्मदर्शी से कम थकान होती है। अलबत्ता, X100 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करने के लिए विद्युत प्रकाश व्यवस्था ज़रूरी होती है।

3. प्रकाश व्यवस्था

प्रकाश स्रोत

विद्युत प्रकाश व्यवस्था बेहतर होती है क्योंकि इसे आसानी से समायोजित किया जा सकता है। इसके लिए या तो मंच के नीचे एक बल्ब लगा होता है या सूक्ष्मदर्शी के सामने एक लैम्प रखा जाता है।

दर्पण

दर्पण प्रकाश स्रोत से आने वाली प्रकाश किरणों को वस्तु पर केंद्रित करता है। दर्पण की एक सतह समतल होती है जबकि दूसरी सतह अवतल (चित्र 7.7)। अवतल सतह एक हल्के कंडेंसर का काम करती है मगर यदि सूक्ष्मदर्शी में कडेंसर लगा है तो इसका उपयोग नही करना चाहिए।

चित्र 7.7 सूक्ष्मदर्शी का दर्पण

चित्र 7.8 कंडेंसर

कंडेंसर

कंडेसर (चित्र 7.8) प्रकाश किरणों को वस्तु पर केंद्रित करने का काम करता है। यह दर्पण और मंच के बीच लगा होता है।

कंडेसर को ऊपर (अधिकतम प्रकाश) और नीचे (न्यूनतम प्रकाश) किया जा सकता है। कंडेंसर को बीचों बीच करके ठीक से समायोजित कर लेना चाहिए।

पर्दा (डायफ्राम)

कंडेंसर के अंदर एक पर्दा यानी डायफ्राम लगा होता है (चित्र 7.9)। इसकी मदद से कंडेंसर में पहुंचने वाले प्रकाश की मात्रा को कम-ज़्यादा किया जा सकता है।

जितना चौड़ा पर्दा होगा, उतना ही अधिक छिद्र अंक होगा और इतनी ही कम बारीकियां दिखाई देंगी। मगर कॉन्ट्रास्ट भी उसी अनुपात में कम हो जाएगा।

चित्र 7.9 पर्दा यानी डायफ्राम

फिल्टर्स

कुछ सूक्ष्मदर्शियों में कंडेंसर की नीचे फिल्टर (खास कर नीले रंग के) लगे होते हैं। जिस वस्तु की जांच करना हो, उसके अनुसार फिल्टर को लगाया अथवा निकाला जा सकता है।

4. समायोजन व्यवस्था (चित्र 7.10, 7.11)

इसमें निम्नलिखित भाग होते हैं:

- एक मोटा समायोजन पेंच
- एक बारीक समायोजन पेंच
- एक कंडेंसर समायोजन पेंच
- कंडेंसर को केंद्र में करने का पेंच
- पुतली डायफ्राम पेंच
- यांत्रिक मंच समायोजन

चित्र 7.10 समायोजन व्यवस्था
1 मोटा समायोजन पेंच
2 बारीक समायोजन पेंच
3 कंडेंसर समायोजन पेंच
4 कंडेंसर को केंद्र में करने का पेंच
5 पुतली डायफ्राम पेंच

मोटा समायोजन पेंच

यह सबसे बड़ा पेंच होता है। इसकी मदद से लगभग फोकस हासिल किया जाता है।

बारीक समायोजन पेंच

इसकी मदद से ऑब्जेक्टिव धीरे-धीरे ऊपर नीचे होता है। इससे वस्तु को एकदम सही फोकस में लाते हैं।

कंडेंसर समायोजन पेंच

इसकी मदद से कंडेंसर को ऊपर-नीचे करके प्रकाश की मात्रा कम ज्यादा की जाती है।

कंडेंसर को केंद्र में लाने के पेंच (सेन्टरिंग स्क्रू)

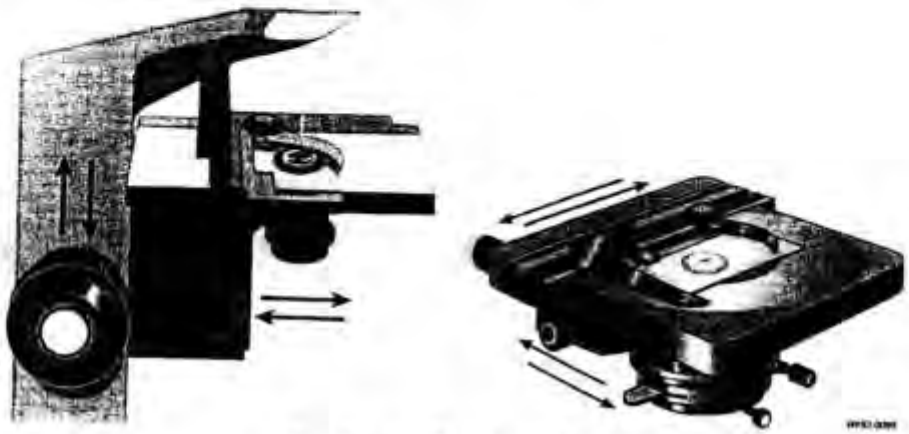
कंडेंसर के आसपास तीन पेंच होते हैं - एक सामने, एक बाएं व एक दाएं। इनकी मदद से कंडेंसर को वस्तु के सापेक्ष ठीक बीच में लाया जा सकता है।

डायफ्राम पुतली का लीवर

यह डायफ्राम से जुड़ा एक छोटा-सा लीवर होता है। इसकी मदद से डायफ्राम को खोला व बंद किया जा सकता है और प्रकाश की मात्रा व कोण दोनों को बदला जा सकता है।

यांत्रिक मंच समायोजन

इसका उपयोग वस्तु की स्लाइड को मंच पर सरकाने के लिए किया जाता है - एक पेंच से स्लाइड आगे-पीछे सरकती है जबकि दूसरा पेंच उसे दाएं-बाएं सरकाता है।



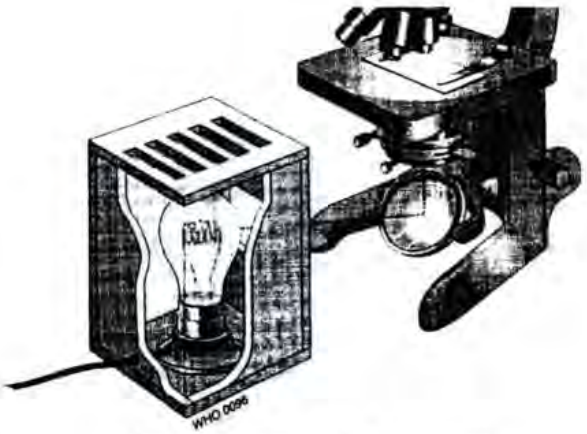
चित्र 7.11 यांत्रिक मंच कंट्रोल

II. सूक्ष्मदर्शी को जमाना

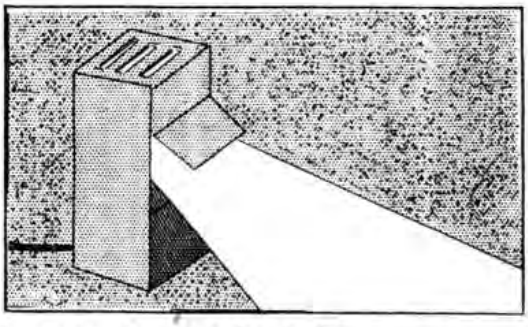
जब प्रयोगशाला में नया सूक्ष्मदर्शी आए, तो यह पता होना चाहिए कि उसे कैसे जमाया जाए।

सूक्ष्मदर्शी को कहां रखें

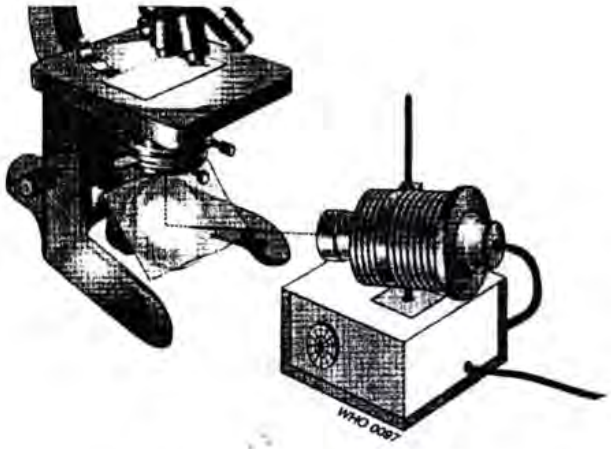
सूक्ष्मदर्शी को एक समतल बेंच पर रखें (स्पिरिट लेवल से जांच कर लें)। बेंच उपयुक्त साइज़ की हो मगर बहुत ऊंची न हो। सूक्ष्मदर्शी को खिड़की से दूर छाया में रखें। इसके नीचे एक मोटा कपड़ा बिछा दें।



चित्र 7.12 सूक्ष्मदर्शी में लैम्प व्यवस्था



चित्र 7.13 सूक्ष्मदर्शी के लिए वैकल्पिक प्रकाश व्यवस्था



चित्र 7.14 प्रकाश स्रोत की स्थिति

सूक्ष्मदर्शी के लिए लैम्प

यदि सूक्ष्मदर्शी में दर्पण लगा हो, तो आप रोशनी के लिए एक लैम्प की व्यवस्था कर सकते हैं। इसके लिए बल्ब का पोर्सलीन होल्डर एक लकड़ी के तख्ते में फिट कर दें और इसें एक लकड़ी या टीन के डिब्बे में रखें। डिब्बे में प्रकाश के लिए खिड़की बना दें (चित्र 7.12)। डिब्बे के ऊपरी हिस्से में कुछ छेद या झिर्रियां बना दें ताकि बल्ब ठण्डा रहे।

यह भी कर सकते हैं कि खिड़की पर एक पट्टी लगाकर शटर-सा बना लें (चित्र 7.13)। रोशनी के लिए 100 वॉट का अपारदर्शी 'दिन की रोशनी' (नीली-सफेद) वाला बल्ब उपयोग करें।

एक्सेसरीज़ लगाना

ऑब्जेक्टिव्स को घूमते नोज़पीस में कस दें। इन्हें घड़ी घूमने की दिशा में निम्नलिखित क्रम में लगाएं:

- X3, X5 या X10 ऑब्जेक्टिव
- X40 ऑब्जेक्टिव
- X100 ऑब्जेक्टिव

इनकी चूड़ियां मानकीकृत होती हैं। ऑब्जेक्टिव कस देने के बाद

- आई पीस को उनकी जगह पर लगा दें।
- कंडेंसर को मंच के नीचे लगा दें।
- दर्पण को उसके आधार पर कस दें।

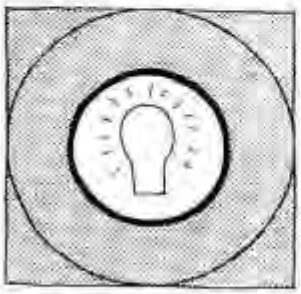
लैम्प की स्थिति

यदि विद्युत प्रकाश का उपयोग करें, तो लैम्प को सूक्ष्मदर्शी से 20 से.मी. दूर दर्पण की ओर मुंह करके रखें। लैम्प को इस तरह जमाएं कि उसकी रोशनी दर्पण के बीचों बीच पड़े (चित्र 7.14)। यदि लैम्प पर लेंस लगा हो, तो बल्ब के फिलामेन्ट का प्रतिबिम्ब दर्पण पर लगे कागज़ पर पड़ना चाहिए। इससे रोशनी के पुंज को ज़्यादा सही ढंग से दर्पण के बीचों बीच करने में मदद मिलती है। कुछ मॉडल्स में बल्ब को घुमाकर ऐसी स्थिति में लगाना होता है कि फिलामेन्ट की साफ छवि बन जाए।

दर्पण का शुरुआती समायोजन

दर्पण की समतल सतह का उपयोग करें। रंगीन फिल्टर्स हटा दें। डायफ्राम को अधिकतम खोल दें। इससे प्रकाश पुंज को ज़्यादा सही ढंग से केंद्रित किया जा सकता है। कंडेंसर के ऊपर लेंस पर एक पतला सफेद कागज़ रख दें (चित्र 7.15)। कागज़ पर प्रकाश के एक गोले से घिरा बल्ब का प्रतिबिम्ब नज़र आना चाहिए। दर्पण को इस तरह समायोजित कीजिए कि बल्ब का प्रतिबिम्ब प्रकाश वृत्त के ठीक बीच में हो (चित्र 7.16)। यदि सूरज की रोशनी का इस्तेमाल कर रहे हैं, तो दर्पण को ऐसे रखिए कि कंडेंसर में से ज़्यादा से ज़्यादा रोशनी कागज़ पर आए।

चित्र 7.15 दर्पण का समायोजन



चित्र 7.16 कंडेंसर से देखने पर प्रकाश स्रोत का प्रतिबिम्ब

कंडेंसर को केंद्र में करना (यदि इसकी व्यवस्था हो)

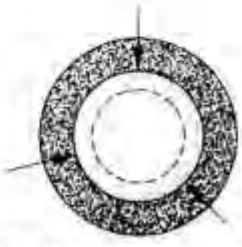
कंडेंसर को ठीक केंद्र में करना बहुत ज़रूरी है। अक्सर इस पर ध्यान नहीं दिया जाता।

1. मंच पर बगैर कवर स्लिप के किसी वस्तु की स्लाइड रखें। कंडेंसर को नीचे करें। सबसे कम शक्ति के ऑब्जेक्टिव (X3, X5 या X10) से देखें। आई पीस में से देखकर वस्तु को फोकस में लाएं।
2. डायफ्राम को बंद कर दें। एक अंधेरे (गहरे) छल्ले से घिरा एक धुंधला प्रकाश वृत्त नज़र आएगा (चित्र 7.17)।
3. कंडेंसर को धीरे-धीरे ऊपर उठाइए ताकि प्रकाश वृत्त की परिधि एकदम फोकस में आ जाए (चित्र 7.18)।
4. यदि ज़रूरी हो, तो दर्पण को समायोजित करें ताकि प्रकाश वृत्त अंधेरे क्षेत्र से घिरे चकमदार क्षेत्र के ठीक बीच में हो या उसे पूरी तरह ढंक रहा हो (चित्र 7.19)।
5. कंडेंसर के सेंटरिंग पेचों को इस तरह समायोजित करें कि प्रकाश वृत्त ठीक बीच में नज़र आने लगे (चित्र 7.20)। इसके बाद दूसरे ऑब्जेक्टिव से देखकर जांच करें।

चित्र 7.17 कंडेंसर को बीच में लाने के लिए पहले डायफ्राम बंद कर दें

चित्र 7.18 कंडेंसर को ऊपर कीजिए ताकि प्रकाश वृत्त की परिधि फोकस में आ जाए

चित्र 7.19 दर्पण को समायोजित करके प्रकाश स्रोत को केंद्र में लाइए



चित्र 7.20 सेंटरिंग स्क्रू की मदद से प्रकाश स्रोत को केंद्र में लाइए

चित्र 7.21 डायफ्राम का समायोजन

चित्र 7.22 आई पीस को फोकस करना

डायफ्राम का समायोजन

डायफ्राम को पूरा खोल दें। आई पीस हटाकर नली में से देखें। ऑब्जेक्टिव व्यवस्था का ऊपरी लेंस एक प्रकाश वृत्त से भरा हुआ दिखेगा। डायफ्राम को धीरे-धीरे बंद करें ताकि प्रकाश वृत्त कुल सतह के मात्र दो-तिहाई हिस्से पर फैला दिखे (चित्र 7.21)। यही क्रिया प्रत्येक ऑब्जेक्टिव के लिए करें।

आई पीस का समायोजन

आई पीस का चयन

चिकित्सा प्रयोगशाला में X5 और X10 आई पीस से अच्छे नतीजे मिलते हैं। उच्च शक्ति के आई पीस से आवर्धन तो बढ़ता है मगर बारीकियों में कोई ज़्यादा वृद्धि नहीं होती। नेत्र लेंस का चयन व्यक्तिगत पसंद का मामला है।

द्विनेत्री समायोजन

द्विनेत्री सूक्ष्मदर्शी का उपयोग करते समय, ऑपरेटर की सुविधानुसार दोनों लेंस के बीच की दूरी को घटाया-बढ़ाया जा सकता है।

आई पीस का फोकस

किसी एक नेत्र लेंस होल्डर (अक्सर बाएं) में एक फोकसिंग कॉलर होती है (चित्र 7.22)। यदि यह कॉलर बाएं नेत्र लेंस होल्डर पर है तो अपनी बाईं आंख बंद करके X40 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करते हुए अपनी दाईं आंख से दाएं नेत्र लेंस में देखकर प्रतिबिम्ब को फोकस कीजिए।

अब दाईं आंख बंद करके बाएं नेत्र लेंस में से देखिए। यदि प्रतिबिम्ब ठीक फोकस है, तो समायोजन की कोई ज़रूरत नहीं है। यदि प्रतिबिम्ब साफ न हो तो फोकसिंग कॉलर को घुमाकर प्रतिबिम्ब को फोकस करें। अब यह सूक्ष्मदर्शी आपकी द्विनेत्री दृष्टि के लिए समायोजित है।

III. ऑब्जेक्टिव का फोकस

कम शक्ति वाला ऑब्जेक्टिव (X10)

पेंच की मदद से कंडेंसर को एकदम नीचे ले आइए। ऑब्जेक्टिव को इतना नीचे कीजिए कि वह स्लाइड पर रखी वस्तु के ठीक ऊपर हो। अब मोटे समायोजन पेंच की मदद से ऑब्जेक्टिव को ऊपर उठाइए। इसे

इतना ऊपर उठाइए कि आई पीस से देखने पर साफ प्रतिबिम्ब नज़र आए। कभी-कभी ऐसा होता है कि ऑब्जेक्टिव को यथासंभव नीचा करने के बाद भी साफ प्रतिबिम्ब प्राप्त नहीं होता। इसका कारण यह है कि बारीक समायोजन पेंच को पूरी तरह घुमाया हुआ है। इसे दूसरी दिशा में जितना घूम सके घुमाइए और फिर ऑब्जेक्टिव को ऊपर उठाकर फोकस कीजिए। यदि रोशनी कम हो, तो कंडेंसर को थोड़ा ऊपर उठा दीजिए।

उच्च शक्ति (x40) ऑब्जेक्टिव

कंडेंसर को आधी दूरी तक नीचा कर दीजिए। ऑब्जेक्टिव को इतना नीचा कीजिए कि वह स्लाइड पर रखी वस्तु से लगभग छूने लगे। (इस लेंस की कामकाजी दूरी बहुत कम - करीब 0.5 मि.मी. - होती है।) मोटे समायोजन पेंच की मदद से ऑब्जेक्टिव को धीरे-धीरे इतना ऊपर उठाइए कि वस्तु का धुंधला प्रतिबिम्ब दिखने लगे। इसे बारीक समायोजन पेंच की मदद से सही फोकस कीजिए। कंडेंसर को ऊंचा करके पर्याप्त रोशनी प्राप्त कीजिए। यदि सूक्ष्मदर्शी में कंडेंसर न हो, तो दर्पण की अवतल सतह का इस्तेमाल करें।

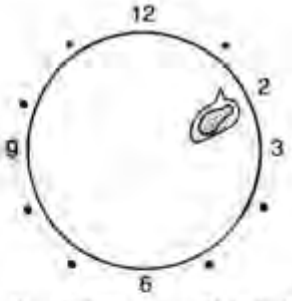
ऑइल इमर्शन ऑब्जेक्टिव (x100)

इसके लिए एकदम सूखी, अभिरंजित स्लाइड का उपयोग किया जाना चाहिए। जिस हिस्से की जांच करना हो, उस पर इमर्शन ऑइल की एक बारीक बूंद डालें (इसके लिए सीडार वुड तेल की बजाय संश्लेषित तेल का उपयोग करें जो सूखते नहीं हैं)। कंडेंसर को अधिकतम ऊंचा उठा दें और डायफ्राम को पूरा खोल दें। x100 ऑब्जेक्टिव को इतना नीचे करें कि वह इमर्शन ऑइल को छूने लगे। इसे स्लाइड के यथासंभव नज़दीक लाएं मगर वस्तु को छूने से बचाएं (आधुनिक सूक्ष्मदर्शियों में एक डैम्पर लगा होता है)। नेत्र लेंस में से देखें और बारीक समायोजन पेंच को ऊपर की ओर घुमाकर प्रतिबिम्ब को फोकस में लाएं। यदि प्रकाश अपर्याप्त हो, तो अवतल दर्पण का उपयोग करें जैसा कि x40 ऑब्जेक्टिव के संदर्भ में बताया गया था।

ज़रूरी बात: अधिकांश आधुनिक सूक्ष्मदर्शियों में मोटे व बारीक समायोजन पेंचों से ऑब्जेक्टिव की बजाय मंच ऊपर-नीचे होता है।

सूक्ष्मदर्शी के दृश्य क्षेत्र की गहराई

कम शक्ति का ऑब्जेक्टिव उपयोग करते समय प्रतिबिम्ब में काफी गहराई होती है। उच्च शक्ति (x40 या x100) ऑब्जेक्टिव का उपयोग करते समय फोकस की गहराई काफी कम होती है, इसलिए वस्तु के ऊपरी भाग से लेकर निचले भाग तक की हर बारीकी को देखने के लिए बारीक समायोजन पेंच का उपयोग करना चाहिए। जैसे, किसी गोलाकर अमीबा सिस्ट में विभिन्न केंद्रकों को देखने के लिए।



चित्र 7.23 सूक्ष्मदर्शी में देखे गए प्रतिबिम्बों की स्थिति बताना

सूक्ष्मदर्शी में देखे गए प्रतिबिम्ब

ध्यान रखें कि नेत्र लेंस में जो प्रकाश वृत्त दिखता है उसे 'सूक्ष्मदर्शी का दृश्य क्षेत्र (फील्ड)' कहते हैं।

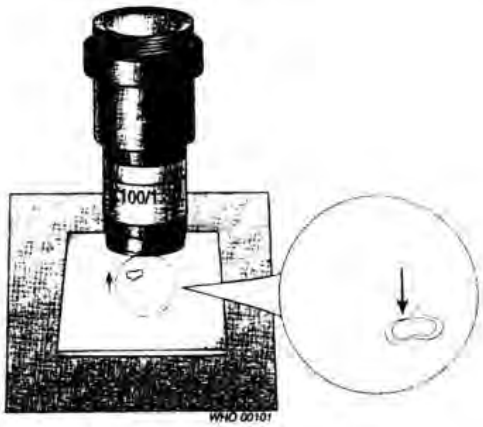
देखे गए प्रतिबिम्ब की स्थिति बताना

सूक्ष्मदर्शी के दृश्य क्षेत्र में देखे गए प्रतिबिम्बों की स्थिति घड़ी के कांटों के हिसाब से बताई जा सकती है। जैसे चित्र 7.23 में एक शिस्टोसोम अण्डा '2 बजे' की स्थिति पर है।

उल्टा प्रतिबिम्ब

देखे गए प्रतिबिम्ब लेंस द्वारा पलटे गए हैं:

- जो चीज़ दृश्य क्षेत्र के निचले भाग में दिख रही है, वह वास्तव में ऊपरी भाग में है।
- जो चीज़ दृश्य क्षेत्र बाएं भाग में दिख रही है, वह वास्तव में दाहिनी ओर है।



चित्र 7.24 वस्तु को सरकाना

वस्तु को सरकाना

यदि आप स्लाइड को किसी दिशा में सरकाएंगे तो देखी जा रही चीज़ उससे विपरीत दिशा में सरकेगी (चित्र 7.24)।

ऑब्जेक्टिव बदलना

आधुनिक सूक्ष्मदर्शी इस तरह बनाए जाते हैं कि जब आप कम शक्ति वाले ऑब्जेक्टिव की जगह अधिक शक्ति वाला ऑब्जेक्टिव उपयोग करें, तो वस्तु कमोबेश फोकस में बनी रहे। यदि आपका सूक्ष्मदर्शी इस तरह का न हो, तो अधिक शक्ति वाला ऑब्जेक्टिव उपयोग करने से पहले नोज़ पीस को ऊपर उठा दें। ऑब्जेक्टिव बदलकर एक बार फिर से फोकस करें। ऑब्जेक्टिव बदलने से पहले यह देख लें कि देखी जा रही चीज़ दृश्य क्षेत्र के मध्य में हो ताकि ऑब्जेक्टिव बदलने के बाद यह गुम न हो जाए।

IV. ऑक्यूलर माइक्रोमीटर का उपयोग

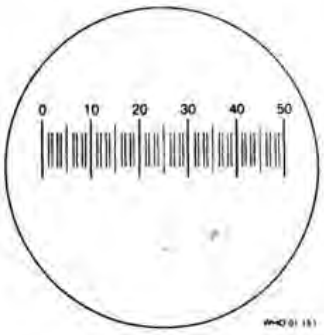
सूक्ष्मजीवों और जंतुओं की उप-रचनाओं की साइज़ को सूक्ष्मदर्शी द्वारा नापा जा सकता है। इसके लिए एक चिन्हित माइक्रोमीटर डिस्क लगा ऑक्यूलर इस्तेमाल किया जाता है।

माइक्रोमीटर डिस्क में एक पैमाना लगा होता है जिसे आम तौर पर 0.1 मि.मी. और 0.01 मि.मी. के उपखण्डों में बांटा जाता है (चित्र 7.25)।

ऑम्यूलर माइक्रोमीटर अंशशोधन (calibration) करने के लिए एक मंच माइक्रोमीटर का उपयोग किया जाता है।

सामग्री

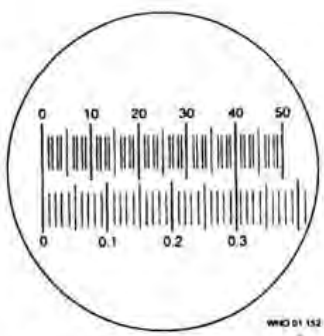
- द्विनेत्री सूक्ष्मदर्शी
- X10 आवर्धन वाला ऑक्यूलर
- ऑक्यूलर माइक्रोमीटर डिस्क
- मंच माइक्रोमीटर
- लेंस कागज़
- इमर्शन ऑइल



चित्र 7.25 ऑक्यूलर माइक्रोमीटर डिस्क

विधि

1. ऑक्यूलर का आई लेंस खोल लें।
2. माइक्रोमीटर को ऑक्यूलर में इस तरह रखें कि उस पर तराशा हुआ पैमाना नीचे की ओर रहे। डिस्क को पकड़ने के लिए लेंस कागज़ का इस्तेमाल करें।
3. लेंस को सावधानीपूर्वक वापिस लगा दे।
4. माइक्रोमीटर लगे ऑक्यूलर को सूक्ष्मदर्शी की ऑक्यूलर नली में लगा दें।
5. चिन्हित मंच माइक्रोमीटर को सूक्ष्मदर्शी के मंच पर लगा दें और पैमाने को फोकस करें। आपको 0.1 मि.मी. और 0.01 मि.मी. वाले भाग स्पष्ट अलग-अलग नज़र आने चाहिए।
6. मंच माइक्रोमीटर को इस तरह सरकाइए कि उसकी 0 मि.मी. की रेखा ऑक्यूलर माइक्रोमीटर की 0 मि.मी. रेखा से मिल जाए।



चित्र 7.26 मंच माइक्रोमीटर की मदद से ऑक्यूलर माइक्रोमीटर का केलिब्रेशन

7. अब ऐसी अन्य रेखाएं खोजिए जहां मंच माइक्रोमीटर और ऑक्यूलर माइक्रोमीटर मेल खाएं। ये रेखाएं 0 मि.मी. रेखा से ज़्यादा से ज़्यादा दूरी पर होनी चाहिए (चित्र 7.26)। दो मिलने वाली रेखाओं के बीच की दूरी अलग-अलग होती है और ऑब्जेक्टिव की आवर्धन क्षमता पर निर्भर करती है।
8. मंच माइक्रोमीटर की 0 रेखा और मिलान वाली अगली रेखा के बीच 0.1 मि.मी. के भागों की संख्या गिन लीजिए।
9. इसी प्रकार से ऑक्यूलर माइक्रोमीटर की 0 रेखा और अगली मिलान रेखा के बीच भागों की संख्या भी गिन लीजिए।
10. एक ऑक्यूलर इकाई द्वारा नापे गए एक मि.मी. के अनुपात को निम्नलिखित सूत्र से ज्ञात करें

मंच माइक्रोमीटर पाठ्यांक x1000 माइक्रोमीटर/आक्यूलर माइक्रोमीटर पाठ्यांक x1 मि.मी. = ऑक्यूलर इकाई (μm)

उच्च शक्ति ऑब्जेक्टिव वाले सूक्ष्मदर्शी के लिए सूत्र निम्नानुसार है:

$$\frac{\text{मंच माइक्रोमीटर पाठ्यांक x1000 माइक्रोमीटर}}{\text{आक्यूलर माइक्रोमीटर पाठ्यांक x1 मि.मी.}} = \text{ऑक्यूलर इकाई } (\mu m)$$

ज़रूरी बात: एक-सी शक्ति वाले ऑब्जेक्टिवों की अदला-बदली नहीं करनी चाहिए, उन्हें अलग-अलग केलिब्रेट करना चाहिए। माइक्रोमीटर शुदा ऑक्यूलर को संभालकर रखें। प्रत्येक सूक्ष्मदर्शी का केलिब्रेशन अलग-अलग करना होगा।

V. अंधकार क्षेत्र सूक्ष्मदर्शी अवलोकन

अंधकार क्षेत्र प्राप्त करने के लिए एक खास कंडेंसर का उपयोग किया जाता है जिसका मध्य भाग काला होता है। यदि यह उपलब्ध न हो, तो x10 व x40 ऑब्जेक्टिव के नीचे अंधकार क्षेत्र प्राप्त करने के लिए कंडेंसर के नीचे लगे फिल्टर होल्डर पर एक प्रकाश अवरोधक लगा सकते हैं।

अवरोधक ऐसे पदार्थ के बनाए जाने चाहिए जिनमें से प्रकाश पार न हो सके और ये ऑब्जेक्टिव के हिसाब से सही साइज़ के होने चाहिए। यदि अवरोधक बहुत छोटा हुआ तो बहुत सारा प्रकाश ऑब्जेक्टिव तक पहुंच जाएगा और अंधकार क्षेत्र नहीं बन पाएगा।

यदि अवरोधक बहुत बड़ा हुआ तो नमूने को प्रकाशित करने हेतु पर्याप्त रोशनी नहीं मिलेगी।

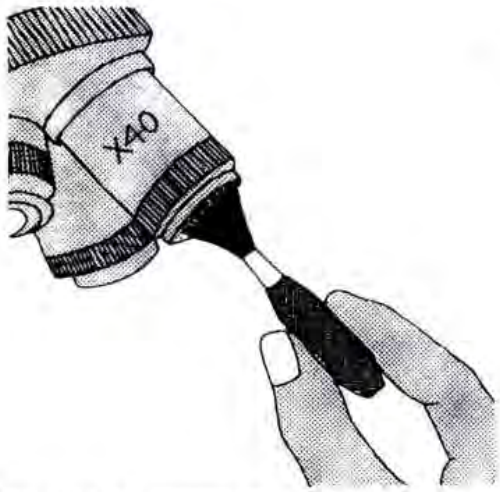
VI. साधारण रख-रखाव

सूक्ष्मदर्शी को स्वच्छ स्थान पर रसायनों से दूर रखा जाना चाहिए।

कार्यस्थल में हवा की आवाजाही अच्छी होनी चाहिए अथवा यह स्थायी तौर पर वातानुकूलित होना चाहिए (रुक-रुककर वातानुकूलन से संघनित पानी पैदा होता है)। सूक्ष्मदर्शी को अच्छी हालत में रखने और जांच के अच्छे नतीजे प्राप्त करने के लिए इसकी दैनिक देखभाल ज़रूरी होती है। प्रकाशीय उपकरणों को लंबे समय तक बंद अलमारियों में नहीं रखना चाहिए क्योंकि इन परिस्थितियों में फफूंद को बढ़ने का मौका मिलता है, जिसकी वजह से प्रकाशीय सतहें बर्बाद हो सकती हैं। गर्म और नम जलवायु में तो खास ध्यान देने की ज़रूरत होती है।

सूक्ष्मदर्शी की सफाई

सूक्ष्मदर्शी का उपयोग जैविक ऊतक व द्रवों की जांच के लिए होता है, इसलिए इन्हें नियमित रूप से दूषण मुक्त करना चाहिए।



चित्र 7.27 एक मुलायम ब्रश से ऑब्जेक्टिव की सफाई

सामग्री

- पुराने कपड़े के टुकड़े और लिनेन का रुमाल
- विशेष लेंस टिशु कागज़ या यह उपलब्ध न हो, तो सफेद अवशोषी कागज़ या चिकित्सा श्रेणी का कपास
- चैमॉइज़ चमड़े का टुकड़ा (न हो, तो एक बगैर रोएं का कपड़ा)
- क्लीनिंग घोल की एक बोतल (आगे देखें)
- एक प्लास्टिक कवर
- एक छोटा रबर बल्ब और संभव हो तो ऊंट के बाल का एक मुलायम ब्रश (या बढ़िया पेन्ट ब्रश या एक ब्लोअर, लेंस साफ करने के लिए)
- 15-20 से.मी. व्यास का एक डेसिकेटर जिसमें कम से कम 250 ग्राम सूखी नीली सिलिका जेल हो (जो गुलाबी होकर नमी की उपस्थिति दर्शाती है)।

विधि

प्रकाशीय सतहों की सफाई

प्रकाशीय सतहों (ऑब्जेक्टिव, कंडेंसर, आई पीस) को एक उम्दा पेन्ट ब्रश या ऊंट के बाल से बने मुलायम ब्रश (चित्र 3.27) या ब्लोअर की मदद से साफ रखना चाहिए। यदि आई पीस डिबिया के अंदर धूल हो तो उसे खोलकर अंदर से साफ करें।

लेंसों पर यदि तेल के अवशेष हों, तो विशेष लेंस टिशू कागज़, अवशोषी कागज़ या चिकित्सा श्रेणी के कपास से साफ करें। प्रकाशीय सतहों को एक विशेष घोल से भी साफ किया जा सकता है। इस घोल में निम्नलिखित चीज़ें मिलाएं:

- 80 प्रतिशत पेट्रोलियम ईथर (क्वथनांक 60-80^0 सेल्सियस)
- 20 प्रतिशत 2-प्रोपेनॉल

टीप: लेंसों को साफ करने के लिए 95 प्रतिशत इथेनॉल, ज़ायलीन या टॉलुइन का उपयोग न करें क्योंकि ये पदार्थ सीमेंट को घोल लेते हैं। इनका उपयोग दर्पण साफ करने हेतु ज़रूर किया जा सकता है।

उपकरण की सफाई

भारी कचरे को तो साबुन के पानी से हटाया जा सकता है। ग्रीज़ व तेल को ऊपर बताए गए विशेष सफाई घोल से साफ किया जा सकता है। इसके बाद उपकरण को आसुत पानी और 95 प्रतिशत इथेनॉल के 50:50 मिश्रण से साफ कर सकते हैं। यह मिश्रण प्रकाशीय सतहों की सफाई के लिए उपयुक्त नहीं है।

यांत्रिक (चलने वाले) हिस्सों (मोटा समायोजन पेंच, बारीक समायोजन पेंच, कंडेंसर फोकसिंग और यांत्रिक मंच) की भी नियमित सफाई करके मशीन ऑइल देना चाहिए।

सूक्ष्मदर्शी का रख-रखाव

मरम्मत व रख-रखाव का काम करते हुए, यह ध्यान रखें कि कंडेंसर सेन्टरिंग पेंचों को कंडेंसर क्लैम्प स्क्रू न समझ बैठें। सूक्ष्मदर्शी के रख रखाव का काम निम्नानुसार करें:

- यांत्रिक मंच की जांच करें
- फोकस व्यवस्था की जांच करें
- फफूंद हटाएं
- डायफ्राम की जांच करें
- सारे यांत्रिक हिस्सों की जांच करें

- निर्माता के निर्देशानुसार सूक्ष्मदर्शी में स्नेहक लगाएं
- स्लाइड चिमटे की स्प्रिंग देखें। यदि स्प्रिंग में बहुत अधिक तनाव होगा, तो स्लाइड टूटेंगी और चिमटा भी खराब हो सकता है।
- प्रकाशीय सुसंगति की जांच करें। कई बार नमूना धुंधला इसलिए नज़र आता है कि प्रकाशीय हिस्से परस्पर संगति में नहीं होते।

सावधानियां

- ऑब्जेक्टिव को ज़ायलीन या इथेनॉल में कदापि न डालें क्योंकि ऐसा करने पर लेंस अलग हो जाएंगे।
- लेंस साफ करने के लिए साधारण कागज़ का इस्तेमाल कदापि न करें।
- उंगलियों से लेंस को कदापि न छुएं।
- सूक्ष्मदर्शी के आधार अथवा मंच को ज़ायलीन या एसिटोन से साफ न करें।
- आई पीस या ऑब्जेक्टिव के अंदरुनी लेंसों को कपड़े या कागज़ से साफ न करें (क्योंकि ऐसा करने पर उनका परावर्तन रोधी अस्तर निकल सकता है)। इस काम के लिए ऊंट के बालों वाले मुलायम ब्रश, पेन्ट ब्रश या ब्लोअर का उपयोग करें।
- सूक्ष्मदर्शी को आई पीस के बगैर कदापि न छोड़ें (या फिर वहां ढक्कन लगाएं)।
- गर्म व नम इलाकों में सूक्ष्मदर्शी को लकड़ी के डिब्बे में बंद करके न रखें।
- ऑब्जेक्टिव को स्लाइड से न टकराने दें अन्यथा स्लाइड और लेंस दोनों टूट सकते हैं। सूक्ष्मदर्शी फोकस करते वक्त खास ध्यान रखें।
- यांत्रिक मंच को साफ रखें।
- प्रकाशीय हिस्सों को न खोलें क्योंकि इससे उनकी सीध बिगड़ जाएगी। प्रकाशीय सतहों को लेंस टिशू कागज़ या मुलायम टिशू कागज़ से साफ करें।
- ऑब्जेक्टिव पर इमर्शन तेल लगे सूक्ष्मदर्शी को रखा न छोड़ें। तेल को प्रतिदिन साफ करें। अधिकांशतः इसके लिए हल्का साबुन का घोल उपयुक्त रहता है।
- कार्बनिक विलायकों का उपयोग निर्माता के निर्देशों के अनुसार ही करें।
- सूक्ष्मदर्शी को एक हाथ से भुजा से पकड़कर न उठाएं। दोनों हाथों का उपयोग करें - एक टांग के नीचे और एक भुजा पर।
- बल्ब बदलते समय, कांच को उंगलियों से न छुएं क्योंकि उंगलियों के निशान रोशनी कम कर देते हैं।
- बल्ब की आयु बढ़ाने के लिए डिमर लगा स्विच इस्तेमाल करें और वोल्टेज न्यूनतम ज़रूरी प्रकाश हेतु रखें।
- यदि वोल्टेज में बहुत उतार-चढ़ाव हो, तो वोल्टेज स्टेबिलाइज़र का उपयोग करें।

गर्म जलवायु में अतिरिक्त सावधानियां

सूखी जलवायु

सूखी, गर्म जलवायु में मुख्य समस्या धूल की होती है। धूल के बारीक कण पेंचों की चूड़ियों के बीच में और लेंस के नीचे घुस जाते हैं। इनसे बचने के लिए कुछ उपाय किए जा सकते हैं:

- जब उपयोग न करें, तब सूक्ष्मदर्शी को हमेशा हवा बंद प्लास्टिक कवर में रखें।
- काम समाप्त करने के बाद रोज़ाना एक रबर बल्ब की मदद से हवा फेंककर सूक्ष्मदर्शी को साफ कर दें।

- इसके बाद ऊंट के बालों से बने मुलायम ब्रश, मुलायम पेन्ट ब्रश या ब्लोअर से लेंसों की सफाई करें। यदि ऑब्जेक्टिव पर धूल के कण रह जाएं तो इन्हें विशेष लेंस टिशू कागज़ से साफ करें।

नम जलवायु

गर्म, नम जलवायु में और सूखे क्षेत्रों में नम, गर्म मौसम में सूक्ष्मदर्शी पर, खासकर लेंसों, पेंचों की चूड़ियों, और पेन्ट के नीचे फफूंद उगने लगती है। ऐसा होने पर उपकरण जल्दी ही बेकार हो जाएगा। नीचे लिखे तरीके से इसे टाला जा सकता है।

जब उपयोग न कर रहे हों, तब सूक्ष्मदर्शी को हमेशा हवा बंद प्लास्टिक कवर में रखें और साथ में एक तश्तरी में नीली सिलिका जेल रख दें ताकि हवा सूखी बनी रहे। (जब इस सिलिका की नमी सोखने की क्षमता चुक जाती है तो इसका रंग बदलकर गुलाबी हो जाता है। इसे ओवन या आग पर गर्म करके इसकी क्षमता बहाल की जा सकती है।) सूक्ष्मदर्शी को रोज़ाना साफ करके धूल हटाएं।

उपरोक्त प्रक्रियाएं नियमित रूप से की जानी चाहिए। मरम्मत व रख-रखाव के समान ही ये भी अनिवार्य हैं।

v/;k; & 8
jDr dh tkp

रक्त के नमूने लेना

1 उंगली में टोंचकर केशिका नली का रक्त प्राप्त करना

उंगली (या शिशुओं के पैर की उंगली) से ली गई रक्त की चंद बूंदें कतिपय प्रयोगशाला जांच के लिए काफी होती हैं। जैसे,

- हिमोग्लोबिन मापन
- कुल लाल रक्त कोशिका संख्या
- कुल सफेद रक्त कोशिका संख्या
- सफेद कोशिकाओं की विभेदित संख्या
- परजीवियों (मलेरिया परजीवी) की पहचान

टोंचने के लिए निम्नलिखित चीज़ों का उपयोग किया जा सकता है:

- निर्जीवीकृत छुरी (लैंसेट)
- हायपोडर्मिक सुई

उपयोग करने के बाद लैंसेट या सुई को साफ करके कांच की एक छोटी परखनली में रखकर गैर-अवशोषी कपास से बंद कर दिया जाता है। इन्हें ऑटोक्लेव में निर्जीवीकृत किया जाता है।

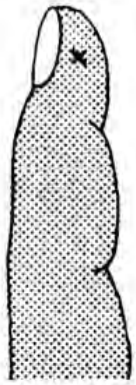
विधि

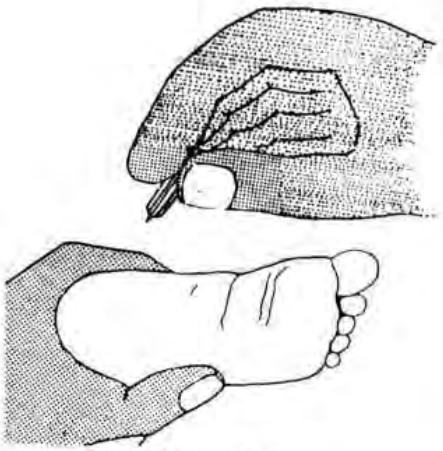
1. रक्त निम्नलिखित स्थान से लें:
   - बाएं हाथ की तीसरी या चौथी उंगली (चित्र 8.1)
   - उंगली के बाजू वाले भाग से, जो सिरे की अपेक्षा कम संवेदी होता है (चित्र 8.2)

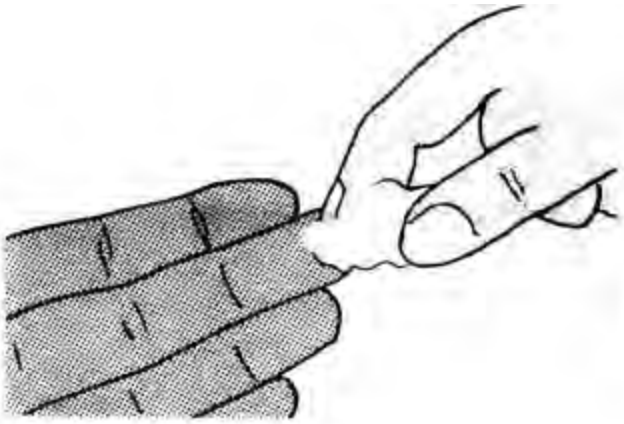
   6 माह से छोटे बच्चों में
   - एड़ी या पैर के अंगूठे में टोंचे। (चित्र 8.3)

   टीप: निम्नलिखित स्थानों से रक्त न लें:
   - तर्जनी उंगली या हाथ का अंगूठा
   - संक्रमित उंगली (पेरोनिकिया वगैरह)
   - कान (बहुत अधिक मोनोसाइट होते हैं)

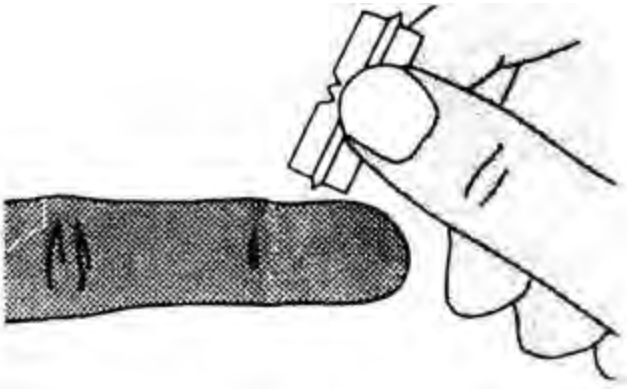
चित्र - 8.1


चित्र - 8.2


चित्र - 8.3



चित्र - 8.4

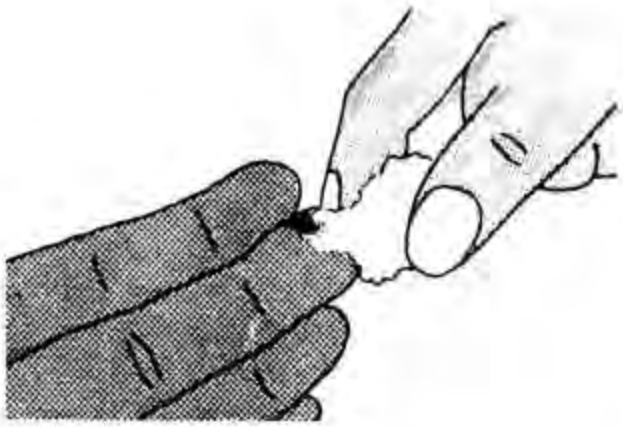


चित्र - 8.5

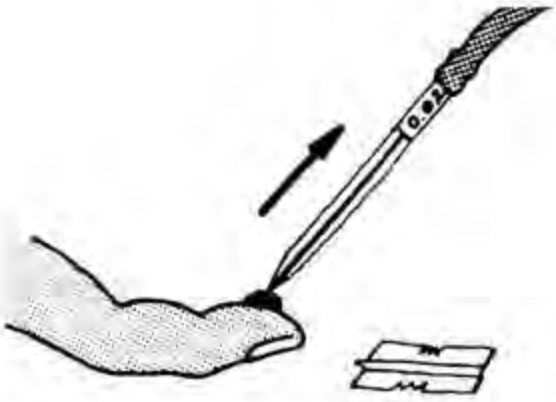
2. स्थान को साफ करें: (चित्र 8.4)
   - पहले इथेनॉल में भीगे कपास से
   - उसके बाद सूखे कपास से ताकि बचा हुआ इथेनॉल साफ हो जाए।
3. दृढ़ता व तीव्रता से उगली में टोंचे। (चित्र 8.5)
4. रक्त की पहली बूंद को सूखी रुई से पोंछ दें। (चित्र 8.6)
5. अपने बाएं हाथ से उंगली को दबाकर लगभग इस साइज की रक्त की बूंद निकालें ।

   प्रस्तावित जांच के अनुसार रक्त को पिपेट में (चित्र 8.7) या कांच की स्लाइड पर ले लें। (चित्र 8.8)

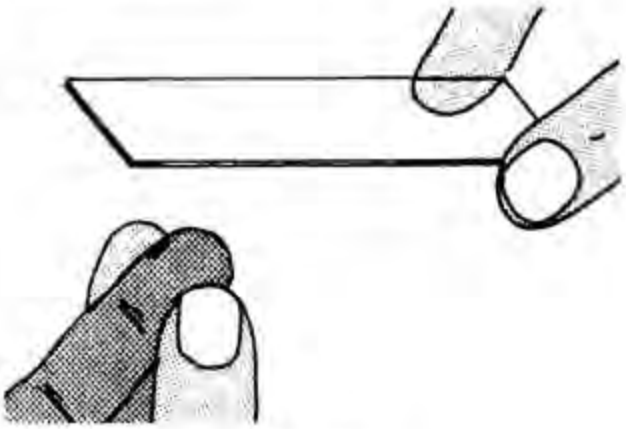
   यदि और रक्त की ज़रूरत है (जैसे एरिथ्रोसाइट तलछटीकरण दर के लिए) तो चिकित्सा अधिकारी वेनेपंक्चर करके ज़रूरी मात्रा में रक्त किसी ऐसी बोतल में लेंगे जिसमें ई.डी.टी.ए. डाईपोटेशियम लवण (अभिकारक क्र. 11) जैसा कोई थक्का रोधी डाला गया हैं।



चित्र - 8.6



चित्र - 8.7



चित्र - 8.8

2. शिरा रक्त लेना

सिद्धांत

शिरा रक्त किसी भुजा की शिरा में से सुई और सिरिंज की मदद से निकाला जाता है, जैसा कि आगे बताया गया है। शिरा रक्त उंगली, कान या एड़ी (शिशुओं में) से भी लिया जा सकता है।

सामग्री व अभिकारक

चमड़ी को संक्रमणमुक्त करने हेतु

- रुई
- 70 प्रतिशत इथेनॉल या टिंक्चर आयोडीन

शिराछेदन (वेनेपंक्चर) के लिए (चित्र 8.9)

- दस्ताने
- 2-3 मि.मी. छेद वाली रबरनली का टर्नीकेट
- सुइयां 30-40 मि.मी., 20 गेज, 19 गेज, 18गेज, मध्यम नुकीली

चित्र 8.9 शिरा छेदन की सामग्री

रक्त संग्रह के लिए

- सिरिंज, 2 मि.ली., 5 मि.ली., 10 मि.ली., 20 मि.ली. (यह देख लें कि प्रत्येक सिरिंज का सिरा सुई में फिट होता हो)।
- बोतल या परखनली (चित्र 8.10), खाली या थक्कारोधी सहित । इन पर रक्त की ज़रूरी मात्रा को दर्शाता निशान लगा होना चाहिए (जैसे 5 मि.ली. पर)।

  यदि रक्त का नमूना 5 वर्ष से छोटे बच्चे का लेना है, तो 23 गेज और 25 गेज की सुई की भी ज़रूरत होगी।

चित्र 8.10 खून का नमूना लेने के लिए बोतलें व परख नलियां

विधि

तैयारी

1. मरीज़ का अनुरोध प्रपत्र ध्यान से पढ़ें:

   क. तय करें कि कितने रक्त की ज़रूरत है।

   ख. प्रत्येक परीक्षण के लिए उपयुक्त बोतल या परखनली तैयार करें।

2. यदि रक्त का उपयोग अलग-अलग जांच के लिए किया जाना है, तो यह तय करें कि रक्त किस क्रम में लिया जाएगा। जैसे थक्का बनने की (कोग्यूलेशन) जांच के लिए रक्त लेना हो, प्रथम 1 मि.ली. रक्त को फेंक देना होता है।
3. रक्त लेने से पहले अपने हाथ किसी संक्रमणनाशी से धो लें।

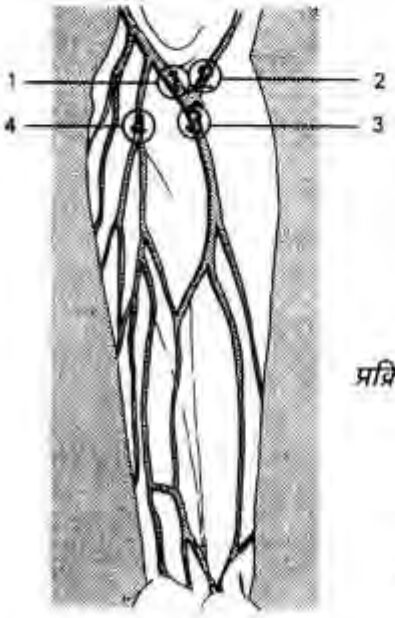
चित्र 8.11 प्रयोगशाला में मरीज़ का खून लेने का तरीका

चित्र 8.12 बिस्तर में लेटे मरीज़ का खून लेने का तरीका

मरीज़ से मेज़ के बाजू में बैठने को कहिए।

मरीज़ की भुजा को मेज़ पर रखें और कोहनी के पास सहारे के लिए एक तकिया लगाएं (चित्र 8.11)।

यदि मरीज़ बिस्तर पर है, तो उसका हाथ सीधा रखें (चित्र 8.12)। शिरा से रक्त लेने की सबसे उपयुक्त जगह कोहनी के मोड़ पर उपस्थिति शिरा है। इसमें भी उस जगह से रक्त लेना उपयुक्त होगा जहां यह शिरा काफी फूली हुई और आसानी से दिखती है (चित्र 8.13)। सबसे बेहतर होगा कि शिराओं के जोड़ से एकदम ऊपर बने Y की एक शाखा (1) से रक्त लें। ज़रूरी होने पर बिन्दु 2, 3 और 4 से भी रक्त लिया जा सकता है।



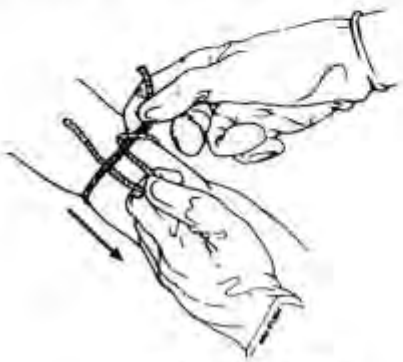
चित्र 8.13 शिरा रक्त लेने के स्थान - 1: सर्वोत्तम स्थान, 2, 3 और 4: वैकल्पिक स्थान

प्रक्रिया

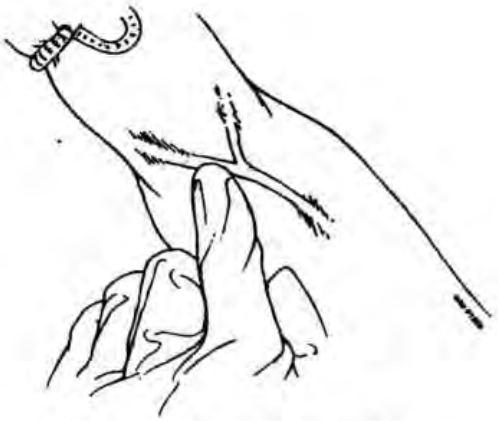
1. सिरिंज पर सुई लगाएं (सुई के सिर्फ ऊपरी भाग को छुएं)। सुई व सिरिंज की जांच करके देख लें कि सुई बंद न हो और सिरिंज एयरटाइट हो।

   उपयोग करने से पहले तक सुई की नोक को निर्जीवीकृत नली में रखिए।
2. टर्नीकेट बांधिए। दाएं हाथ से टर्नीकेट को कसकर भुजा पर बांधकर दोनों सिरे पकड़ लें।
3. बाएं हाथ से एक सिरे को पकड़कर दूसरे के ऊपर खींचे (चित्र 8.14)।
4. इस सिरे को टर्नीकेट के मुख्य हिस्से के अदर से छल्ला बनाकर निकालिए (चित्र 8.15)। टर्नीकेट बस इतना कसा होना चाहिए कि रक्त प्रवाह थोड़ा धीमा पड़ जाए और शिराएं फूल जाएं। मगर यह इतना तंग भी न हो कि धमनियों में रक्त प्रवाह कम हो जाए।
5. मरीज़ से अपना हाथ मोड़ने-खोलने को कहिए ताकि शिराएं फूल जाएं।

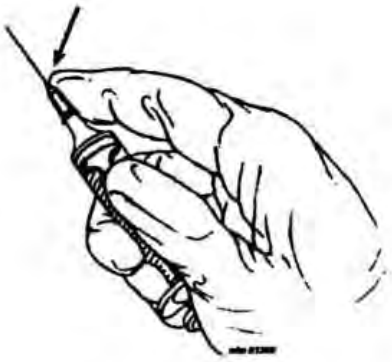
चित्र 8.14 टर्नीकेट लगाना



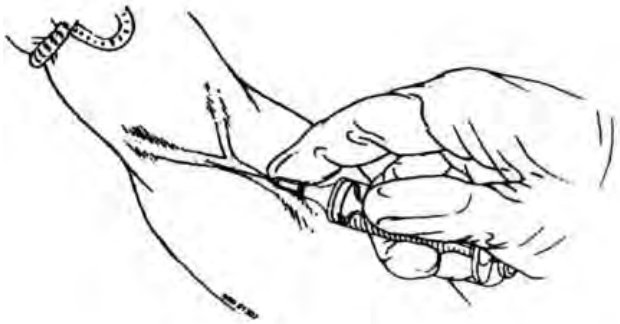
चित्र 8.15 टर्नीकेट बांधना



चित्र 8.16 शिरा को महसूस करें



चित्र 8.17 सिरिंज पकड़ने का सही तरीका

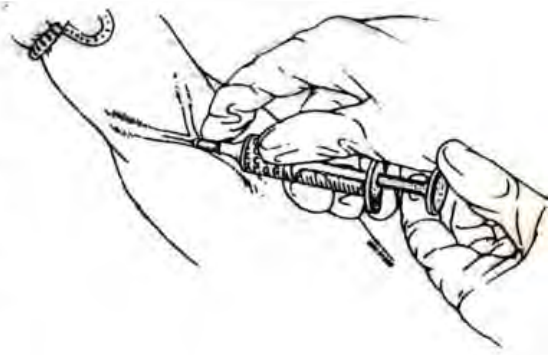


चित्र 8.18 वेनेपंक्चर की सही स्थिति

चित्र 8.19 वेनेपंक्चर की गलत स्थिति

6. अपने बाएं हाथ की तर्जनी उंगली से महसूस कीजिए कि शिरा में कहां सुई घुसाएंगे (चित्र 8.16)।
7. उस स्थान की चमड़ी को टिंक्चर आयोडीन या इथेनॉल में भीगे फोहे से संक्रमणमुक्त कीजिए।
8. सिरिंज को अपने दाएं हाथ में लीजिए, तर्जनी उंगली को सुई के ऊपरी छोर पर रखिए (चित्र 8.17)।
9. सुई को इस तरह जमाइए कि उसका खांचा सबसे ऊपर हो। बेहिचक शिरा के बीचों बीच सुई को घुसा दीजिए (चित्र 8.18)।

   ज़रूरी बात: शिरा में बाजू से कभी सुई प्रविष्ट न कराएं (चित्र 8.19)।

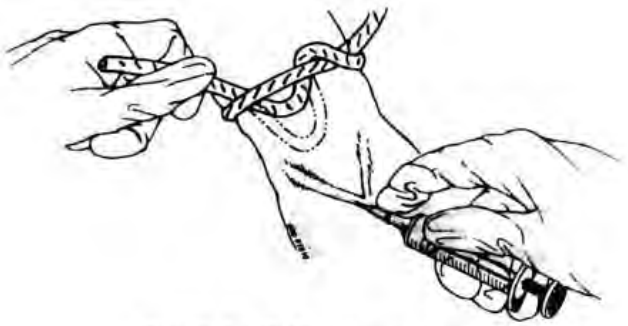


चित्र 8.20 जांच करें कि सुई सही घुसी है

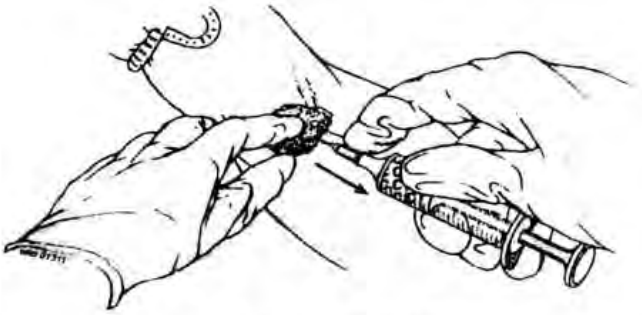
   आप महसूस करेंगे कि सुई प्रवेश कर रही है:

   - चमड़ी की परत में, जो प्रतिरोधी है,
   - उसके बाद शिरा की दीवार में जो कम प्रतिरोधी है (अधिक लचीली है)।

10. सुई को शिरा की सीध में करीब 1.0-1.5 से.मी. तक गहरे घुसा दें।
11. अपने बाएं हाथ से सिरिंज के पिस्टन को धीरे-धीरे पीछे खींचें। सिरिंज में रक्त आ जाना चाहिए (चित्र 8.20)।



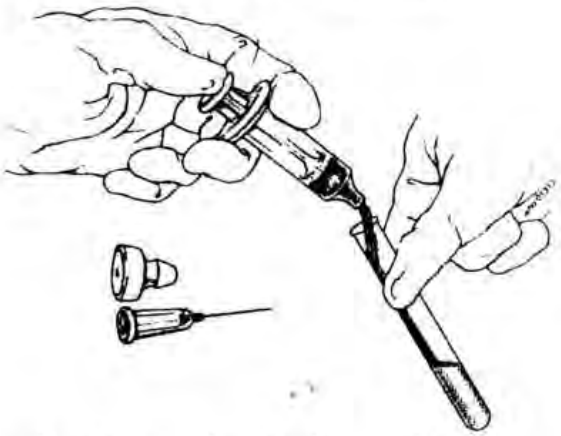
चित्र 8.21 सिरिंज में खून लेना



चित्र 8.22 सुई बाहर निकालना

चित्र 8.23 खून रोकने का सही ढंग

चित्र 8.24 खून रोकने का गलत ढंग



चित्र 8.25 खून के नमूने को परखनली में डालना

12. टर्नीकेट को खोल दीजिए। इसके बाद पिस्टन को पीछे खींचते हुए ज़रूरी मात्रा में रक्त सिरिंज में भर लीजिए (चित्र 8.21)।
13. सुई के छिपे हुए भाग (चमड़ी के अंदर वाले भाग) के ऊपर सूखी रूई रखें। सुई को एक झटके से रूई के नीचे से खींच लीजिए (चित्र 8.22)।
14. मरीज़ से कहिए कि वह अपने हाथ को सीधा रखते हुए कपास के फोहे को तीन मिनट तक वहीं दबाकर रखे (चित्र 8.23)। हाथ को मोड़कर फोहे को दबाना (चित्र 8.24) उचित नहीं क्योंकि उसमें हिमोटोमा बनने का खतरा रहता है।
15. सुई को सिरिंज से निकाल दीजिए।

    नमूना रखने की बोतल या परखनली में निशान तक रक्त डाल दीजिए (चित्र 8.25)।

    इसके फौरन बाद थक्कारोधी युक्त बोतल या परखनली को उल्टा कर दीजिए। कई बार उल्टा-सीधा कीजिए।
16. बोतल या परखनली पर साफ लेबल चिपकाइए जिस पर निम्नलिखित बातें लिखी हों:
    - मरीज़ का नाम
    - तारीख
    - मरीज़ का बाह्य रोगी क्रमांक या अस्पताल क्रमांक

सिरिंज व सुई को तत्काल पहले ठण्डे पानी से और फिर संक्रमणनाशी से धो डालें।

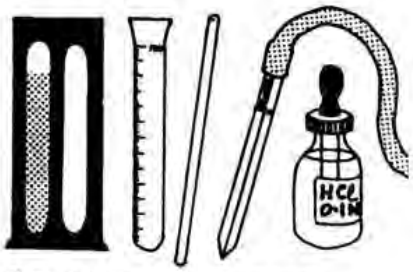
धुली हुई सिरिंजों व सुइयों को एक छोटी परखनली में रखकर रूई का फोहा लगा दें। इन्हें एक सूखी गर्मी वाले ऑटोक्लेव में निर्जीवीकृत करें । एक व्यक्ति के लिए उपयोग की गई सिरिंज और सुई का उपयोग दूसरे व्यक्ति के लिए बगैर निर्जीवीकृत किए कदापि न करें। फेंकने वाली सुइयों का उपयोग एक बार ही करना चाहिए क्योंकि इनको दोबारा निर्जीवीकृत नहीं किया जा सकता।

I. साहली विधि से हिमोग्लोबीन मापन

सिद्धांत

रक्त को अम्लीय घोल में तनु किया जाता है ताकि हिमोग्लोबीन अम्लीय हिमेटीन में बदल जाए। इस घोल की तुलना रंगीन कांच के मानक से की जाती है।

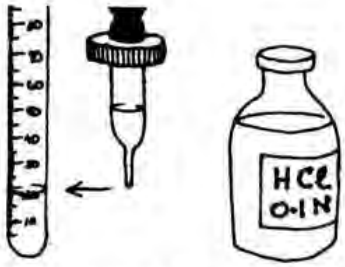
टीप: साहली विधि हिमोग्लोबीन मापन के लिए सटीक विधि नहीं है। रक्त में मौजूद हिमोग्लोबीन की सारी किस्में अम्लीय हिमेटीन में तब्दील नहीं होती हैं; आंखों से देखने पर रंग में परिवर्तन बहुत स्पष्ट नहीं होता; और मानक का कत्थई रंग अम्लीय हिमेटीन से एकदम मिलता-जुलता नहीं होता है। मगर यह विधि आसान है और इसके लिए ज़रूरी सामग्री पी.एच.सी. में उपलब्ध रहती है।



चित्र 8.26 आवश्यक उपकरण

सामग्री (चित्र 8.26)

- साहली हिमोग्लोबीनमापी
- साहली पिपेट 0.02 मि.ली. (20 मि.मी.^{3} या 20 माइक्रोलीटर) तक अंकित
- छोटी कांच की छड़
- ड्रापर वाला पिपेट
- अवशोषी कागज़ (छन्ना कागज़)
- 0.1N हायड्रोक्लोरिक अम्ल (HCl) (अभिकारक क्र.16)



चित्र 8.27 परखनली में **N HCl भरिए।**

विधि

1. अंकित परखनली में 20 के निशान तक 0.1 N HCl भरिए। (चित्र 8.27)
2. साहली पिपेट में केशिका या शिरा का रक्त 0.02 मि.ली. के निशान तक खींचिए। इसमें हवा के बुलबुले नहीं आने चाहिए। (चित्र 8.28)

   टीप: उंगली से निकलने वाले रक्त की पहली बूंद न लें।

   शिरा रक्त के मामले में यह सुनिश्चित करें कि रक्त और थक्कारोधी घोल अच्छी तरह मिल जाएं। इसके लिए पिपेट से खींचने से तत्काल पहले रक्त और थक्कारोधी से भरी शीशी को एक मिनट तक कई बार उलट-पलट कर मिला लें।
3. पिपेट को बाहर से अवशोषी कागज़ (छन्ना कागज़) से पोंछ लें। यह देख लें कि रक्त अभी भी निशान तक है।
4. पिपेट से फूंक मारकर रक्त को अम्लीय घोल वाली अंकित परखनली में डाल दें। (चित्र 8.29)

   पिपेट में तीन बार अम्लीय घोल खींचें ओर फूंक मारकर निकालें। रक्त और अम्ल का मिश्रण कत्थई हो जाता है।

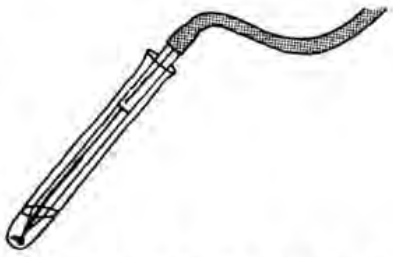
   इसे 5 मिनट के लिए रखा रहने दें।
5. अंकित परख नली को हिमोग्लोबीनमापी में रखें। (चित्र 8.28)

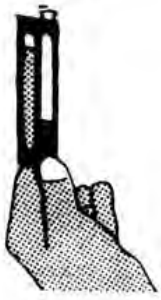
   खिड़की की ओर मुंह करके खड़े हो जाएं।

   तनु किए गए रक्त के रंग की तुलना मानक नली से कीजिए।

   यदि रक्त का रंग मानक नली जैसा या उससे हल्का हो, तो हिमोग्लोबीन मान 40 ग्रा./ली. या उससे कम है।

चित्र 8.28 **साहली पिपेट में खून खींचिए।**


चित्र 8.29 **खून को अम्लीय घोल वाली परखनली में डाल दें।**


चित्र 8.30 **परख नली को हिमोग्लोबीनमापी में रखकर तुलना कीजीये।**

चित्र 8.31 **यदि खून का रंग गाढ़ा हो, तो N HCl डालकर खून के घोल को तनु करना।**

6. यदि रक्त का रंग मानक नली से गाढा हो, तो 0.1 N HCl बूंद-बूंद डालकर रक्त के घोल को तनु करते जाएं। (**चित्र 8.31**)

   हर बूंद डालने के बाद कांच की छड़ से हिलाएं।

   छड़ निकालकर दोनों नलियों के रंग की तुलना करें।

   जब रंग एक-से हो जाएं तो अम्ल डालना बंद कर दें। इस चरण में रक्त के घोल को तनु बनाने के लिए 0.1 N HCl की जगह आसुत पानी का उपयोग भी कर सकते हैं।

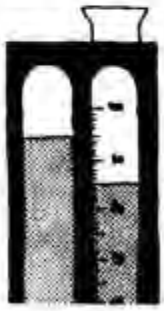
7. यह देखें कि घोल किस निशान तक पहुंचा। (**चित्र 8.31**) हिमोग्लोबीनमापी के अनुसार यह निशान या तो ग्रा./100 मि.ली. में हिमोग्लोबीन की मात्रा दर्शाता है अथवा 'सामान्य' के प्रतिशत के रूप में दर्शाता है। (दूसरा वाला मापी, जो चित्र में दर्शाया गया है, कम सटीक होता है।) ग्रा./100 मि.ली. को ग्रा./ली में बदलने के लिए उसमें 10 का गुणा कर दें।

   प्रतिशत को ग्रा./ली. में बदलने के लिए 1.46 का गुणा करें।

   उदाहरण

   क. 14.8 ग्रा./100 मि.ली. x 10 = 148 ग्रा./ली.

   ख. 85% x 1.46 = 12.4 ग्रा./ली.



← 85%

चित्र 8.32 यह देखें कि घोल किस निशान तक पहुंचा

II. ल्यूकोसाइट संख्या का मापन (T.L.C.)

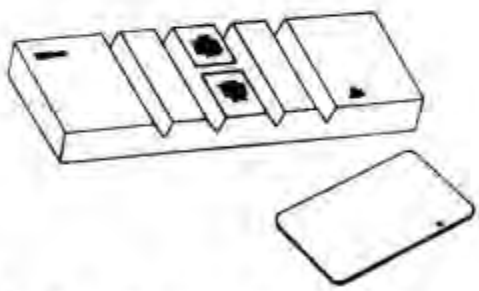
1 लीटर रक्त में मौजूद ल्यूकोसाइट (सफेद रक्त कोशिकाओं) की संख्या को ल्यूकोसाइट सांद्रता या ल्यूकोसाइट संख्या कहते हैं। कतिपय रोगों में रक्त में ल्यूकोसाइट की संख्या बदलती है। जैसे संक्रामक मोनोन्यूक्लिओसिस और बैक्टीरिया संक्रमण के समय इनकी संख्या काफी बढ़ जाती है जबकि मोतीझरा (टायफाइड) में इनकी संख्या में उल्लेखनीय कमी आती है।

सिद्धांत

रक्त को ल्यूकोसाइट तनुकारक घोल में तनु किया जाता है। इसमें लाल रक्त कोशिकाएं (एरिथ्रोसाइट) का तो हिमोलायसिस हो जाता है जबकि ल्यूकोसाइट साबुत बचे रहते हैं।

अब सूक्ष्मदर्शी से देखकर एक गणना प्रकोष्ठ (काउंटिंग चेम्बर) में ल्यूकोसाइट की संख्या गिन ली जाती है और इसके आधार पर प्रति लीटर संख्या पता की जाती है।

सामग्री व अभिकारक



चित्र 8.33 उन्नत न्यूबौर काउण्टिंग चेम्बर

- सूक्ष्मदर्शी
- अंकित गणना प्रकोष्ठ (रूल्ड काउंटिंग चेम्बर) या बेहतर होगा कि उन्नत न्यूबौर चेम्बर (चित्र 8.33) का उपयोग करें; बुर्कर चेम्बर का उपयोग कभी-कभार ही किया जाता है।
- रक्त के लिए साहली पिपेट (जिस पर 50 माइक्रोलीटर यानी 0.05 मि.ली. का निशान हो (कोब पिपेट))
- अंकित पिपेट (ग्रेजुएटेड पिपेट), 1 मि.ली.
- 2 पाश्चर पिपेट या केशिका नली
- हैण्ड टैली काउण्टर या बीड काउन्टर
- तनुकारक घोल (1 मि.ली. जेन्शियन वायलेट, 1 प्रतिशत घोल में 2 मि.ली.

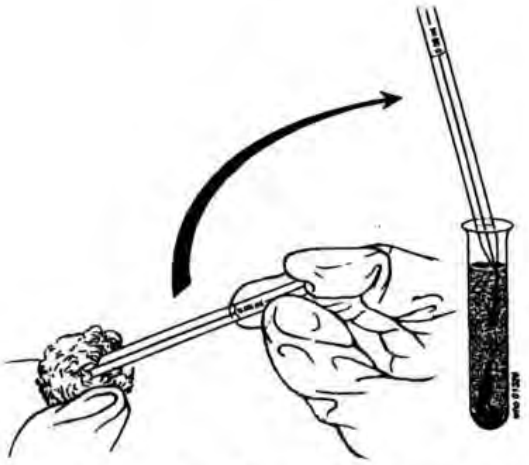
ग्लेशियल एसीटिक एसिड डालकर मिश्रण को आसुत पानी डालकर 100 मि.ली. करके बनाया जाता है)

न्यूबौर रूल्ड काउन्टिंग चेम्बर का माप निम्नानुसार होता है:

- क्षेत्रफल = 9 मि.ली.^{2}
- गहराई = 0.1 मि.ली.

विधि

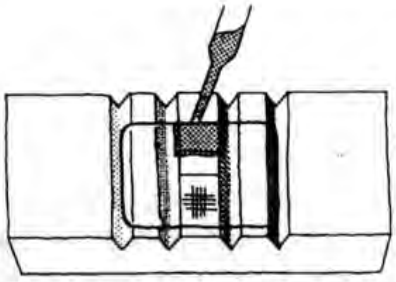
1. 1 मि.ली. के अंकित पिपेट की मदद से एक छोटी शीशी में 0.95 मि.ली. तनुकारक घोल डालें।
2. साहली रक्त पिपेट से 0.05 मि.ली. के निशान तक शिरा या केशिका का रक्त खींचिए। इसमें हवा के बुलबुले न आने दें। शिरा के रक्त के मामले में यह ध्यान रखें कि इसे शीशी को उलट-पुलट कर अच्छी तरह मिला लिया गया हो। पिपेट से खींचने से तुरंत पहले रक्त व थक्कारोधी युक्त शीशी को 1 मिनट तक बार-बार उल्टा-सीधा करें।



चित्र 8.34 यह देख लें कि खून सही निशान तक है

3. पिपेट को बाहर से अवशोषी कागज़ से पोंछ लें और फिर ध्यान दें कि रक्त अब भी 0.05 मि.ली. के निशान तक हो (चित्र 8.34)। इस रक्त को तनुकारक घोल वाली शीशी में निकाल दें। शीशी से घोल को तीन बार खींच-निकालकर पिपेट को साफ कर लें। इस रक्त की तनुता 20 भाग में 1 भाग है। इस शीशी पर मरीज़ के नाम या क्रमांक का लेबल लगा दें।
4. चेम्बर के साथ दी गई कवर स्लिप को दबाकर काउन्टिंग चेम्बर में लगा दें।

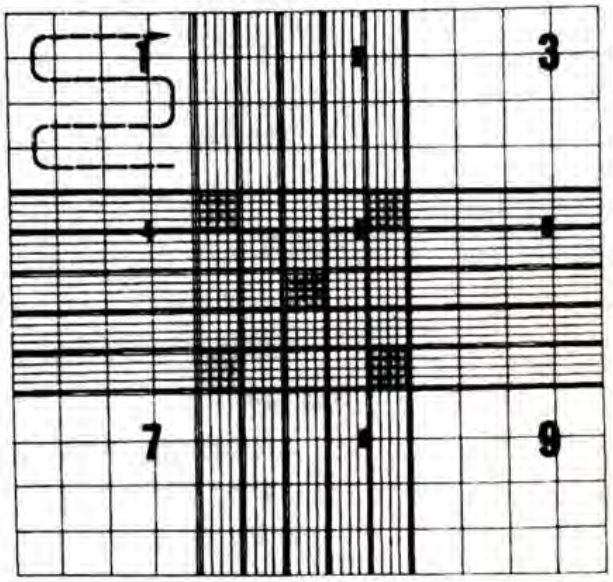
   जब कवर स्लिप ठीक से लग जाती है तो कांच की दो सतहों के बीच न्यूटन्स रिंग्स नामक रंगीन पट्टियां नज़र आती हैं।



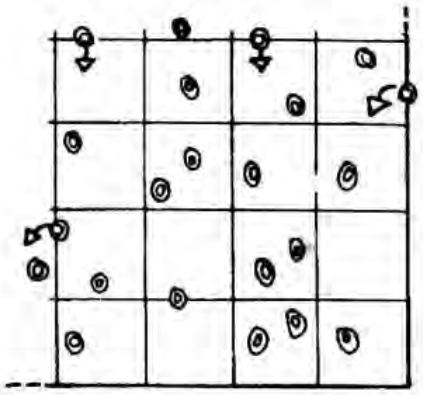
चित्र 8.35 काउण्टिंग चेम्बर में खून भरना

5. तनु रक्त को अच्छी तरह मिला लें। पाश्चर पिपेट या एक केशिका नली की मदद से काउन्टिंग चेम्बर को भर दें (चित्र 8.35)। ध्यान रखें कि अंकित हिस्से से बाहर अतिरिक्त भरने की कोशिश न करें।

   ज़रूरी बात: यदि घोल दो चेम्बर्स के बीच की चैनल में आ जाए तो फिर पूरी प्रक्रिया करें: कवर स्लिप को निकालकर साफ करें, काउन्टिंग चेम्बर को साफ करें और फिर से एक बूंद घोल भरें।
6. काउन्टिंग चेम्बर को 3 मिनट के लिए बेंच पर रखा रहने दें ताकि कोशिकाएं स्थिर हो जाएं।
7. चेम्बर को सूक्ष्मदर्शी के मंच पर रखें। X10 ऑब्जेक्टिव और X10 आई पीस का उपयोग करें। डायफ्राम की मदद से कंडेंसर में आने वाले प्रकाश की मात्रा कम कर दें। सूक्ष्मदर्शी को चेम्बर के चौखाना चिन्हों और ल्यूकोसाइट पर फोकस करें। धूल के कणों को ल्यूकोसाइट मानने की भूल न करें।
8. चेम्बर के 4 मि.मी.^{2} क्षेत्रफल में ल्यूकोसाइट की संख्या गिनें। इसके लिए चित्र 8.36 में दिखाए अनुसार किनारों



चित्र 8.36 उन्नत न्यूबौर चौखानेदार चेम्बर का उपयोग



चित्र 8.37 उन्नत न्यूबौर चौखानेदार चेम्बर में ल्यूकोसाइट की गिनती

के वर्ग क्रमांक 1, 3, 7 और 9 का उपयोग करे। गिनते समय चित्र 8.37 में दिखाए अनुसार वर्ग की दोनों बाजुओं की रेखाओं को छूते ल्यूकोसाइट भी शामिल करें। यह वर्ग गिने जाने वाले चार वर्गों में से एक होगा।

9. चारों वर्गों में गिने गए ल्यूकोसाइट की संख्या में 0.05 का गुणा करके 1 लीटर रक्त में ल्यूकोसाइट संख्या ज्ञात कीजिए। परिणाम को 'संख्या x 10^9/ली.' के रूप में रिपोर्ट करें।

उदाहरण:

गिने गए ल्यूकोसाइट की संख्या = 188

1 लीटर रक्त में ल्यूकोसाइट की संख्या = (188x0.05) x 10^9

परिणाम की रिपोर्ट 9.4 x 10^9/ली.

गणना की व्याख्या

प्रत्येक वर्ग, जिसमें ल्यूकोसाइट गिने गए, का क्षेत्रफल 1 मि.मी.^{2} है। यानी कुल 4 मि.मी.^{2} क्षेत्रफल में ल्यूकोसाइट गिने गए। चेम्बर की मोटाई 0.1 मि.मी. है। इसलिए जिस आयतन में ल्यूकोसाइट गिने गए वह 4 x 0.1 = 0.4 मि.मी.^{3} है। इसलिए 4 से भाग देने और 10 का गुणा करने पर 1 मि.मी.^{3} में ल्यूकोसाइट की संख्या ज्ञात हो जाएगी। यह संख्या तनुकृत रक्त में है। चूंकि तनुता 20 भाग में 1 भाग है इसलिए 20 का गुणा करने पर 1 मि.मी.^{3} शुद्ध रक्त में ल्यूकोसाइट की संख्या पता चलेगी। और अंत में, चूंकि 1 लीटर में 10 लाख (10^6) घन मिलीमीटर होते हैं, इसलिए 10^6 का गुणा करने पर प्रति लीटर शुद्ध रक्त में ल्यूकोसाइट की संख्या निकलेगी। इसे सार रूप में इस तरह लिख सकते हैं:

$$\text{ल्यूकोसाइट प्रति लीटर} = \frac{\text{गिने गए ल्यूकोसाइट x 10 x 20}}{4} \text{x} 10^6$$

$$= \text{गिने गए ल्यूकोसाइट x 50 x } 10^6$$

$$= \text{गिने गए ल्यूकोसाइट x 0.05 x } 10^9$$

उदाहरण:

चार वर्गों में कुल 188 ल्यूकोसाइट गिने गए। अतः अमिश्रित रक्त में प्रति घन मि.मी. ल्यूकोसाइट की संख्या होगी,

188 x 10 x 20/4 = 188 x 50 = 9400

और संख्या प्रति लीटर होगी

9400 x 10^6 = 9.4 x 10^9

परिणाम

सामान्य रेंज

प्रत्येक उम्र समूह के लिए सामान्य रेंज तालिका 8.1 में दी गई है।

उच्च मान

कुल ल्यूकोसाइट्स की संख्या में वृद्धि को ल्यूकोसाइटोसिस कहते हैं। यह स्थिति कतिपय बैक्टीरिया संक्रमणों के साथ पैदा होती है। ल्यूकेमिया में ल्यूकोसाइट संख्या 50 x 10^9/ली. से 400 x 10^9/ली. के बीच होती है। कभी-कभी तो इससे भी ज़्यादा सांद्रता देखी जाती है। ऐसे मामलों में ल्यूकोसाइट संख्या ज्ञात करने के लिए रक्त को और अधिक तनु करना पड़ता है - जैसे 1.95 मि.ली. तनुकारक घोल में 0.05 मि.ली. रक्त। इससे तनुता 40 भाग में 1 भाग हो जाती है। यदि इस तनुता का उपयोग करें तो गिने गए ल्यूकोसाइट की संख्या में 0.05 की जगह 0.1 का गुणा करने पर संख्या x 10^9 प्रति लीटर ज्ञात होती

है। (यदि पारंपरिक इकाइयों का उपयोग किया जा रहा हो, तो प्रति घन मि.मी. संख्या ज्ञात करने के लिए 50 की बजाय 100 गुणा करें।)

निम्न मान

कुल ल्यूकोसाइट की संख्या में कमी को ल्यूकोपेनिया कहते हैं। यह स्थिति मोतीझरा (टायफाइड) ज्वर और मलेरिया व अन्य संक्रमणों के दौरान हो सकती है। कतिपय दवाइयों से इलाज के बाद भी ल्यूकोपेनिया की स्थिति बन जाती है। जब ल्यूकोसाइट संख्या बहुत कम हो, तो रक्त को कम तनु करना पड़ता है। जैसे 0.05 मि.ली. रक्त और 0.45 तनुकारक घोल, जिससे 10 भाग में 1 भाग की तनुता हासिल होती है। यदि इतनी तनुता का उपयोग करें तो ल्यूकोसाइट संख्या x 10^9/लीटर ज्ञात करने के लिए गिने गए ल्यूकोसाइट की संख्या में 0.05 की बजाय 0.25 का गुणा करें।

तालिका 8.1 : विभिन्न उम्र समूहों में सामान्य ल्यूकोसाइट संख्या

उम्र समूह	ल्यूकोसाइट संख्या/ली
नवजात शिशु	10-20 x 10^9
शिशु (3-4 माह)	4-15 x 10^9
बच्चे (3 वर्ष)	4-11 x 10^9
शिशु (12 माह)	4-10 x 10^9
वयस्क	4-10 x 10^9

टीपः कुछ व्यक्तियों/ आबादियों में सामान्य रेंज थोड़ी अलग भी हो सकती है।

न्यूक्लिएटेड एरिथ्रोसाइट के लिए त्रुटि सुधार

न्यूक्लिएटेड एरिथ्रोसाइट या नॉर्मोब्लास्ट (देखें चित्र 9.90) एरिथ्रोसाइट की शुरुआती अवस्था है। ये आम तौर पर रक्त में मौजूद नहीं होते मगर सिकल सेल (हंसियाकार कोशिका) एनीमिया तथा हिमोलिटिक एनीमिया जैसे चंद अन्य रोगों में ये रक्त में पाए जा सकते हैं। तनुकारक घोल में नॉर्मोब्लास्ट का हिमोलायसिस नहीं होता और इन्हें ल्यूकोसाइट्स के साथ गिन लिया जाता है। जब नॉर्मोब्लास्ट बड़ी संख्या में मौजूद हों और ल्यूकोसाइट को पूर्णतः या आंशिक स्वचालित कोशिका काउन्टर से गिना जाए तो ल्यूकोसाइट संख्या में निम्नानुसार सुधार करना चाहिए।

रोमानोव्स्की अभिरंजित रक्त की एक पतली परत (देखें खण्ड 9.10) का अवलोकन करके यह गिनिए कि प्रति 100 ल्यूकोसाइट पर कितने नॉर्मोब्लास्ट दिख रहे हैं।

नॉर्मोब्लास्ट की संख्या प्रति लीटर होगी

$$\frac{\text{गिने गए नॉर्मोब्लास्ट}}{100+\text{ गिने गए नॉर्मोब्लास्ट}} \times \text{ ल्यूकोसाइट संख्या}$$

उदाहरणः

यदि 50 नॉर्मोब्लास्ट गिने गए और ल्यूकोसाइट संख्या 16X109 प्रति लीटर है तो नॉर्मोब्लास्ट संख्या प्रति लीटर होगी।

$$\frac{50}{100+50} \times 16X10^9$$

तो सही ल्यूकोसाइट संख्या होगी

$(16-5.3) \times 10^9 = 10.7 \times 10^9$ प्रति लीटर

III. रक्त की महीन परत बनाना व अभिरंजन करना

सिद्धांत

रक्त की पतली परत बनाने के लिए रक्त की एक बारीक बूंद को स्लाइड पर एकसार फैला देते हैं ताकि एक कोशिका की परत बन जाए।

रक्त की महीन परत को रोमानोव्स्की अभिरंजक से अभिरंजित करते हैं।

इसमें मूलतः एज्योर बी और ईओसीन अभिरंजक होते हैं।

रोमानोव्स्की अभिरंजक का उपयोग काफी कामों में होता है। जैसे,

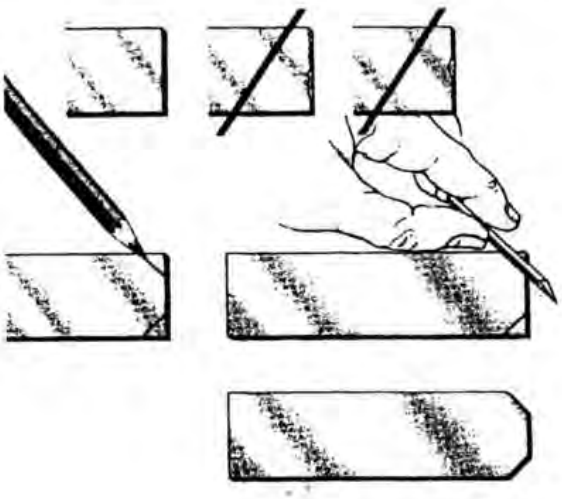
लीशमैन अभिरंजन।

मिथेनॉल में बने रोमानोव्स्की अभिरंजक का उपयोग (तनु करने से पहले) स्लाइड पर महीन परत को फिक्स करने के लिए किया जा सकता है। बेहतर परिणाम तब मिलते हैं जब पहले मिथेनॉल से फिक्स कर लें और फिर पहले से तैयार किए गए अभिरंजक को तनु बनाकर अभिरंजन करें, जैसा कि नीचे बताया गया है।

अभिरंजन के बाद महीन परतों का उपयोग निम्नलिखित जांच में किया जाता है:

- ल्यूकोसाइट की किस्मों की संख्या ज्ञात करने के लिए
- असामान्य एरिथ्रोसाइट पहचानने के लिए
- कुछ परजीवियों का पता लगाने के लिए
- थ्रम्बोसाइट की संख्या पता करने के लिए

चित्र 8.38 खून की जांच के लिए स्लाइड साफ करें



चित्र 8.39 कांच का स्प्रेडर बनाना

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- सूक्ष्मदर्शी की स्लाइड्स (अच्छी तरह धुली हुई और ज़रूरी हो, तो इथेनॉल या ईथर में भीगे मुलायम कपड़े से साफ की हुई) (चित्र 8.38)
- स्पिरिट लैम्प या बुंसन बर्नर
- ग्लास स्प्रेडर (आगे देखें)
- ब्लड लैंसेट
- दो कांच की छड़ें, या तो सिंक के ऊपर या अभिरंजन टैंक पर
- नपनाघट, 50 मि.ली. या 100 मि.ली.
- नल का साफ पानी भरे बीकर या बोतल
- बफर पानी की वॉश बोतल
- समयावधि मापी
- स्लाइड सुखाने का रैक
- फील्ड अभिरंजक
- गीम्सा अभिरंजक
- लीशमैन अभिरंजक
- जे एस बी अभिरंजक
- ई.डी.टी.ए. डाईपोटेशियम लवण, 10 प्रतिशत घोल
- मिथेनॉल
- 70 प्रतिशत इथेनॉल या ईथर

स्प्रेडर बनाने के लिए एक बिल्कुल सपाट किनारे वाली स्लाइड चुन लीजिए। एक फाइल (रेती) से स्लाइड के एक सिरे के दो कोनों पर तिरछे निशान लगाइए। दोनों निशान लगे कोनों को चटकाकर अलग कर दीजिए (चित्र 8.39)।

विधि

नमूना प्राप्त करना

चित्र 8.2 में दिखाए अनुसार तीसरी या चौथी उंगली की बाजु से रक्त लीजिए।

रक्त को मुक्त रूप से बहने दीजिए। सबसे पहले एरिथ्रोसाइट या ल्यूकोसाइट संख्या ज्ञात करने के लिए रक्त लें

ज़रूरी बात:

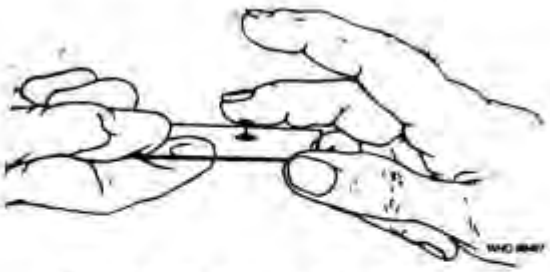
निम्नलिखित स्थानों से रक्त न लें:

- तर्जनी उंगली या अंगूठा
- संक्रमित उंगली (जैसे पेरोनीकिया)
- कान (बहुत सारे मोनोसाइट होते हैं)

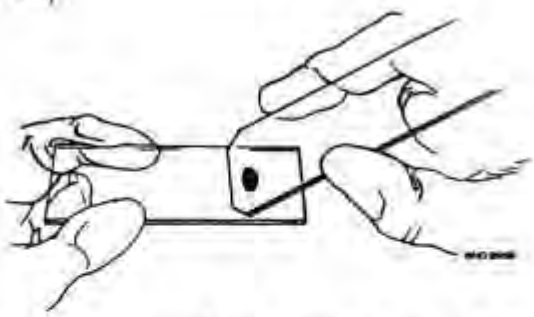
यदि रक्त का नमूना लेने के 1-2 घण्टे के अंदर महीन परत बनाना संभव न हो तो ई.डी.टी.ए. डाईपोटेशियम लवण का घोल डालकर रखना चाहिए। हिपेरिन जैसे कुछ अन्य थक्कारोधी थ्रम्बोसाइट और ल्यूकोसाइट का रंग-रूप बदल देते हैं; अतः इनका उपयोग नहीं करना चाहिए।

महीन परत (थिन फिल्म) बनाना

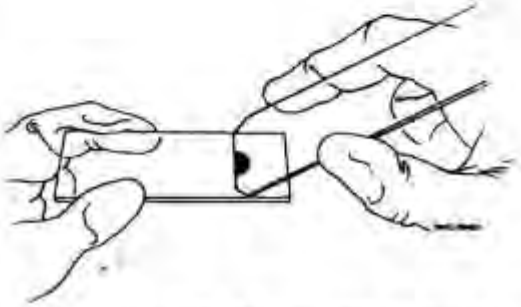
1. स्लाइड के एक सिरे से छुआकर रक्त की लगभग 1 मि.मी. व्यास की एक बूंद प्राप्त करें (चित्र 8.40)।
2. स्लाइड को एक हाथ में पकड़ें और दूसरे हाथ से स्प्रेडर को रक्त की बूंद के सामने रखें (चित्र 8.41)।
3. स्प्रेडर को बूंद की ओर लाएं, जब तक कि वह बूंद को छूने न लगे (चित्र 8.42)।
4. रक्त को स्प्रेडर की किनोर पर फैलने दीजिए (चित्र 8.43)।



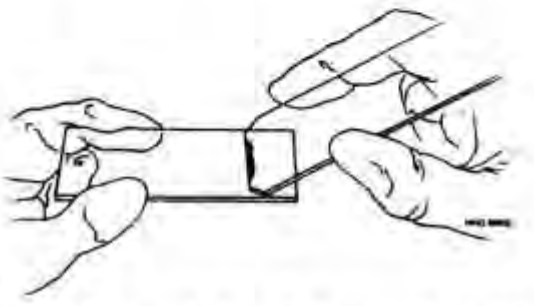
चित्र 8.40 स्लाइड पर खून की बूंद लेना



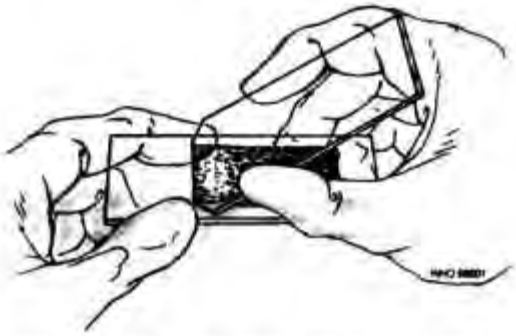
चित्र 8.41 खून की बूंद के सामने स्प्रेडर की स्थिति



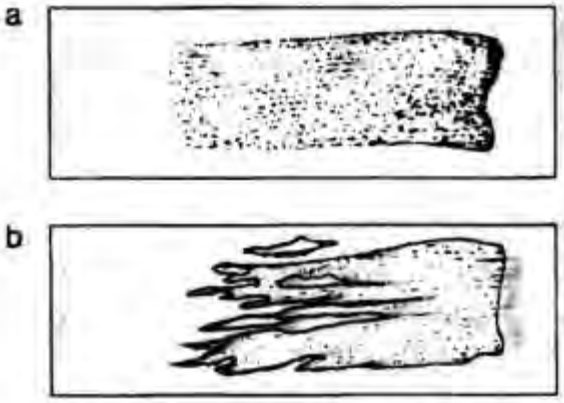
चित्र 8.42 स्प्रेडर को बूंद की ओर लाएं ताकि वह बूंद को छूने लगे



चित्र 8.43 खून को स्प्रेडर की किनोर पर फैलने दीजिए



चित्र 8.44 स्प्रेडर को स्लाइड के अंत तक धकेलें



चित्र 8.45 सही (a) और गड़बड़ (b) फिल्म

5. सधे हुए हाथ से स्प्रेडर को स्लाइड के अंत तक धकेलें (चित्र 8.44)। दूसरे किनारे तक पहुंचने तक सारा रक्त फैल जाना चाहिए। एनीमिया के मरीज़ों के रक्त को ज्यादा तेज़ी से फैलाया जाना चाहिए।
6. यह जांच करें कि परत चित्र 8.45 (a) में दर्शाए अनुसार सही बनी है:
   - फिल्म में किसी भी तरफ रेखाएं नहीं दिखनी चाहिए।
   - सिरों पर फिल्म सपाट होनी चाहिए - चित्र 8.45(b) में दर्शाई गई फिल्म जैसी टूटी-फूटी या बहती हुई नहीं होनी चाहिए।
   - फिल्म बहुत लम्बी न हो।
   - फिल्म बहुत मोटी न हो।
   - कभी-कभी तेल-ग्रीज़ लगी स्लाइड उपयोग करने पर फिल्म में छेद बन जाते हैं - ये नहीं बनने चाहिए।

एक अच्छी फिल्म बनाना बहुत ज़रूरी है। फिल्म खराब बनी तो ल्यूकोसाइट की विभिन्न किस्मों की संख्या गलत निकलेगी और एरिथ्रोसाइट की बनावट की रिपोर्ट देना असंभव हो जाएगा।

परत को सुखाना

चित्र 8.46 स्पिरिट लैम्प पर स्लाइड को सुखाना

परत की गुणवत्ता बचाए रखने के लिए, खास तौर से नम जलवायु में, स्लाइड को पर्याप्त सुखाना अनिवार्य है। सूखी जलवायु में तो स्लाइड को खुली हवा में भी सुखाया जा सकता है।

बारिश के दिनों में (गर्म इलाकों में)

फिल्म को सुखाने के लिए स्लाइड को स्पिरिट लैमप या बुन्सन बर्नर की लौ से थोड़ा ऊपर तेज़ी से लहराएं: स्लाइड को बाजू से पकड़कर लौ से थोड़ा ऊपर (मगर लौ के ठीक ऊपर नहीं) रखें (चित्र 8.46)। यदि ज़रूरी हो, तो रक्त की परत को मक्खियों से बचाने की व्यवस्था भी करें।

सूखी हुई फिल्म पर मरीज़ का नाम या क्रमांक डालें। नाम या क्रमांक परत के उस मोटे वाले भाग पर लेड पेंसिल से लिखें जिसका उपयोग जांच के लिए नहीं करेंगे।

फिल्म को फिक्स करना

यदि इस फिल्म का उपयोग ल्यूकोसाइट की किस्मों की संख्याएं पता करने के लिए किया जाना है तो मे-ग्रुमवाल्ड अभिरंजक से अभिरंजन करने से पहले इसे मिथेनॉल से फिक्स करना होगा।

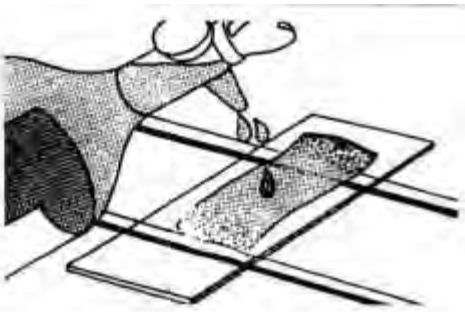
यदि इसका उपयोग परजीवियों का पता लगाने के लिए करने का इरादा है तो इसे जिएस्मा या फील्ड अभिरंजक से अभिरंजित करने से पहले मिथेनॉल से फिक्स करना होगा।

सावधानियां

इस बात का ध्यान रखना चाहिए कि फिल्म पर अभिरंजक के धब्बे न बनें। इस बात की भी सावधानी रखना चाहिए कि फिल्म बहुत नीली, बहुत गुलाबी अथवा बहुत गहरे रंग की अभिरंजित न हो जाए। ये

सावधानियां निम्नानुसार हैं:

- एकदम साफ कांच के उपकरणों का इस्तेमाल करें। उपकरणों को रोज़ाना धोएं। तेज़ाब का उपयोग न करें। अभिरंजक के धब्बों को मिथेनॉल से साफ करें।
- उदासीन पानी का उपयोग करें (संभव हो तो बफरयुक्त पानी का उपयोग करें, सिवाय फील्ड अभिरंजन के मामले में)। अम्लीय पानी होने पर जो फिल्म बनती है वह अत्यधिक लाल होती है जबकि क्षारीय पानी से बहुत अधिक नीली फिल्म बनती है। उदासीन पानी उपयोग से तत्काल पहले बनाना चाहिए क्योंकि हवा के संपर्क से यह अम्लीय हो जाता है।



चित्र - 8.47

फिल्म का अभिरंजन

लीशमैन अभिरंजन की विधि

1. रक्त की महीन फिल्म को मिथेनॉल से 2-3 मिनट के लिए फिक्स कीजिए। (चित्र 8.47)
2. एक भाग लीशमैन अभिरंजक और 2 भाग बफरयुक्त पानी मिलाकर लीशमैन अभिरंजक का 3 भाग में 1 भाग तनु घोल बनाएं। अच्छी तरह मिला लें। (चित्र 8.48)

   उदाहरण: 10 मि.ली. अभिरंजक और 20 मि.ली. बुफरयुक्त पानी का उपयोग करें।

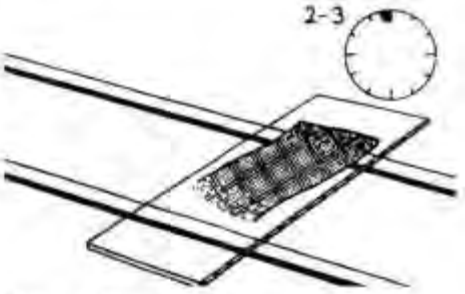
   एक दिन के काम के लिए पर्याप्त अभिरंजक घोल ही बनाएं क्योंकि रखने पर यह खराब हो जाता है।
3. स्लाइड को 7-10 मिनट के लिए अभिरंजक से भिगोकर रखें।

   ज़रूरी बात: अभिरंजन का समय कम-ज़्यादा करना पड़ सकता है। खास तौर से जब अभिरंजक की नई खेप प्राप्त हो या अभिरंजक लम्बे समय रखा रहा हो, तब इस बात का ध्यान रखना चाहिए।
4. बहते बफरयुक्त पानी से अभिरंजक को धो डालिए। स्लाइड को झुकाकर अभिरंजक हटाने की कोशिश न करें अन्यथा धब्बे छूट जाएंगे। (चित्र 8.49)
5. साफ पानी को स्लाइड पर 2-3 मिनट पड़ा रहने दें (चित्र 8.50) ताकि फिल्म विभेदित हो जाए। विभेदित होने का समय अभिरंजक के प्रकार और पानी की pH पर निर्भर करता है।

   लीशमैन अभिरंजक से विभिन्न सफेद रक्त कोशिकाओं को विभेदित करने में पानी की pH का बहुत महतव होता है। पानी की pH 6.5 और 7.2 के बीच होनी चाहिए। बेहतर तो यह होगा कि pH 7.0-7.2 के बीच रहे।
6. स्लाइड को झुकाकर पानी बह जाने दें और स्लाइड को सूखने के लिए ड्रेनिंग रैक पर रख दें। (चित्र 8.51)

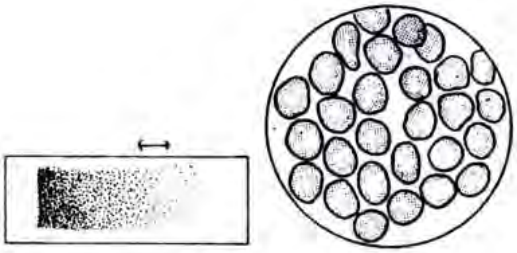
चित्र - 8.48

चित्र - 8.49

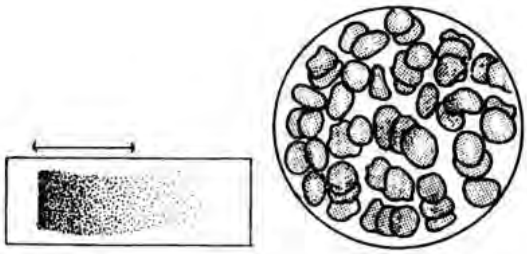


चित्र - 8.50

चित्र - 8.51



चित्र - 8.52

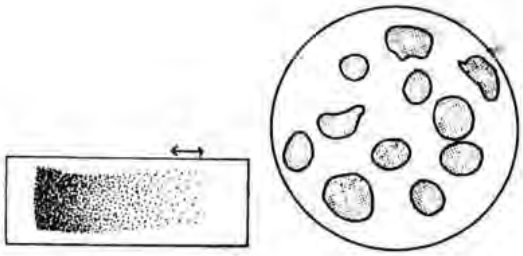


चित्र - 8.53

सूक्ष्मदर्शी से अवलोकन

X40 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करते हुए स्लाइड का अवलोकन करें। कोशिकाएं तालिका 8.2 में दिखाए अनुसार दिखनी चाहिए।

एरिथ्रोसाइट (लाल रक्त कोशिकाएं)



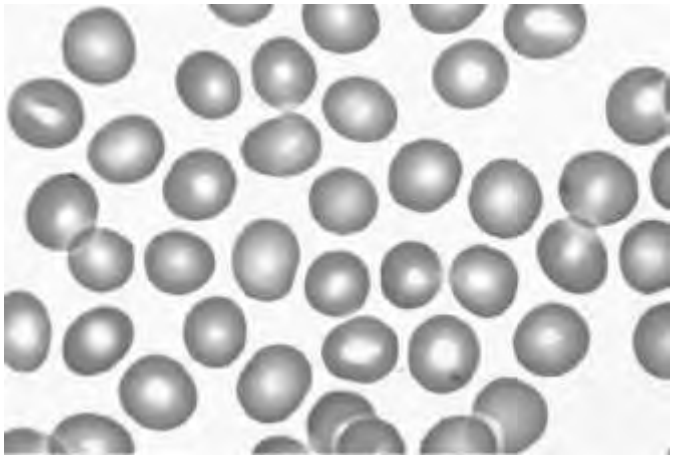
चित्र - 8.54

कुछ बीमारियों, खासकर एनीमिया, में एरिथ्रोसाइट्स की आकृति, आकार (साइज़) और रंग असामान्य हो जाता है। असामान्य एरिथ्रोसाइट देखने के लिए फिल्म के महीन सिरे से एकदम पहले वाले हिस्से को देखें; इस हिस्से में एरिथ्रोसाइट्स फैले हुए होते हैं, एक-दूसरे पर चढ़े नहीं होते (चित्र 8.52) । इन्हें देखने के लिए न फिल्म के मोटे वाले हिस्से को देखें (जहां कोशिकाएं एक-दूसरे पर चढ़ी होती हैं, चित्र 8.53) और ना ही एकदम पतले वाले हिस्से को देखें (जहां पर्याप्त कोशिकाएं नहीं होतीं, चित्र 8.54)।

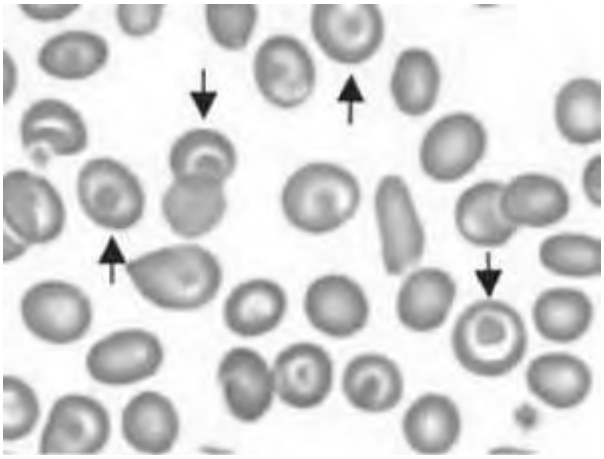
विभिन्न किस्म के असामान्य एरिथ्रोसाइट्स का विवरण नीचे दिया गया है।

तालिका 8.2 लीशमैन अभिरंजक से अभिरंजित फिल्म में रक्त कोशिकाओं का नज़ारा

कोशिका का प्रकार	कैसी दिखती है
न्यूट्रोफिल्स	कोशिका द्रव्य (सायटोप्लाज़्म) हल्का गुलाबी अभिरंजित, छोटे चमकदार बैंगनी (मोवी) रंग के कणों की उपस्थिति।
ईओसिनोफिल्स	कोशिका द्रव्य हल्का गुलाबी अभिरंजित, बड़े लाल कणों की उपस्थिति।
बेसोफिल्स	कोशिका द्रव्य में बड़ी संख्या में बैंगनी लाल कण होते हैं।
मोनोसाइट्स	कोशिका द्रव्य भूरा-नीला (ग्रे-ब्लू) अभिरंजित होता है।
लिम्फोसाइट्स	
बड़े	कोशिका द्रव्य गहरा नीला अभिरंजित होता है।
छोटे	कोशिका द्रव्य गहरा नीला अभिरंजित होता है।
एरिथ्रोसाइट	गुलाबी-लाल
थ्रम्बोसाइट्स	बैंगनी-लाल



चित्र 8.55 सामान्य एरिथ्रोसाइट



चित्र 8.56 टारगेट कोशिकाएं

सामान्य एरिथ्रोसाइट (चित्र 8.55)

साइज़: 6-8 माइक्रोमीटर (μm)

आकृति: गोल, तश्तरीनुमा, कभी-कभी अनियमित।

कोशिका द्रव्य: परिधि पर गहरा गुलाबी, केंद्र में हल्का गुलाबी या रंगहीन।

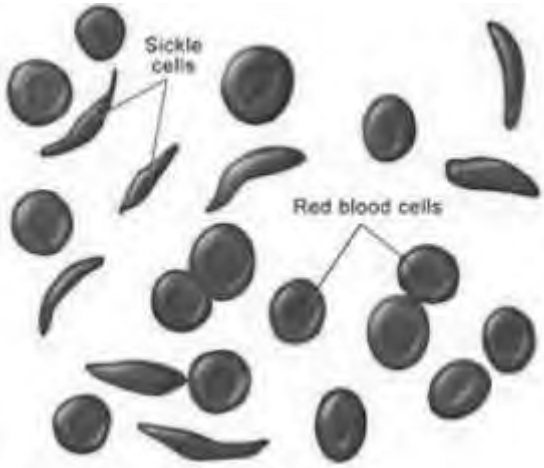
टारगेट कोशिकाएं (चित्र 8.56)

साइज़: 6-8 माइक्रोमीटर

आकृति: गोल या थोड़ी अनियमित

कोशिका द्रव्य: केन्द्रीय हिस्सा और परिधि भलीभांति अभिरंजित होते हैं मगर उनके बीच एक रंगहीन छल्ला होता है।

थेलेसेमिया, विटामिन बी की कमी, हिमोग्लोबिनोपैथी, ज़िगर (लीवर) के रोगों, सिकल सेल एनीमिया और लौह की कमी वाले एनीमिया में दिखाई पड़ती हैं।



चित्र 8.57 सिकल सेल (हंसियाकार कोशिकाएं)

सिकल सेल (हंसियाकार कोशिकाएं) चित्र 8.57

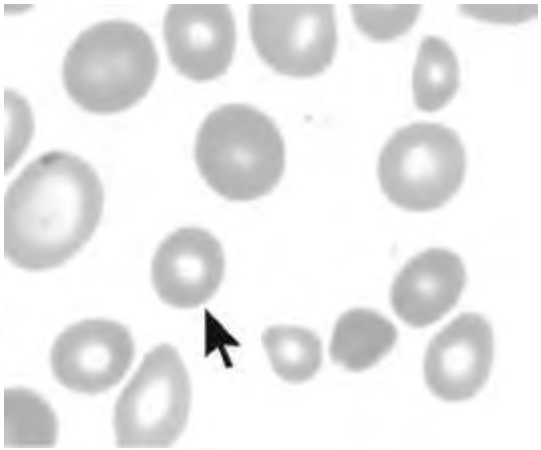
आकृति: लम्बी व संकरी, प्रायः एक या दोनों सिरे नुकीले और मुड़े हुए होते हैं।

ये सिकल सेल एनीमिया और सिकल सेल थेलेसेमिया में न्यूक्लिएटेड एरिथ्रोसाइट्स, टारगेट कोशिकाओं और अक्सर मेक्रोसाइटस के साथ दिखाई पड़ती है।

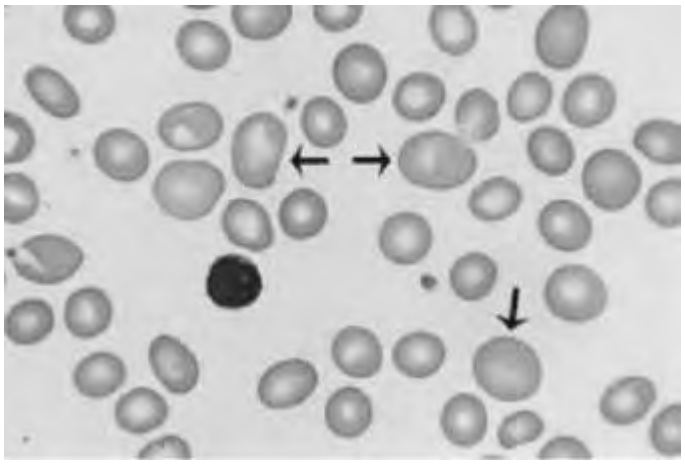
माइक्रोसाइट्स (चित्र 8.58)

साइज़: छोटी (करीब 5 माइक्रोमीटर)

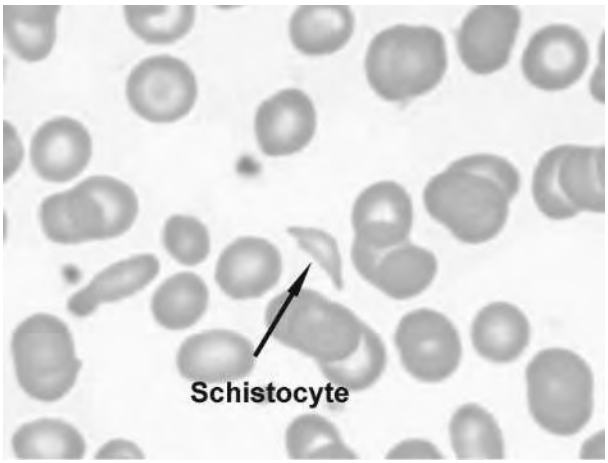
अक्सर लौह की कमी वाले एनीमिया और मेगेलोब्लास्टिक एनीमिया तथा थेलेसेमिया में दिखाई पड़ते है। स्फेरोसाइट्स से अलग करके देखना ज़रूरी होता है।



चित्र 8.58 माइक्रोसाइट्स



चित्र 8.59 मेक्रोसाइट्स

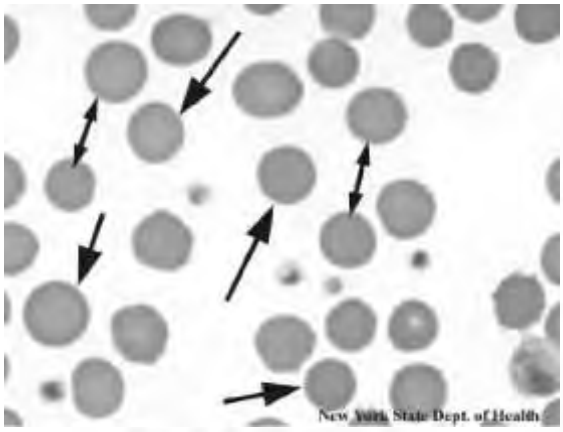


चित्र 8.60 शिस्टोसाइट्स

मेक्रोसाइट्स (चित्र 8.59)

साइज़: बड़ी (9-10 माइक्रोमीटर)

फॉलिक एसिड की कमी से होने वाले मेक्रोसायटिक एनीमिया, विटामिन बी की कमी और लौह की कमी से होने वाले एनीमिया और लीवर की कुछ बीमारियों मे नज़र आते हैं। इन्हें रेटिक्यूलोसाइट्स से अलग करके देखना ज़रूरी है (आगे देखें)।



चित्र 8.61 स्फेरोसाइट्स

शिस्टोसाइट्स (चित्र 8.60)

साइज़: सामान्य या सामान्य एरिथ्रोसाइट्स से थोड़ी कम।

विखण्डित कोशिकाएं।

हिमोलिटिक एनीमिया, सिकल सेल रोग और थेलेसेमिया में नज़र आते हैं।

स्फेरोसाइट्स (चित्र 8.61)

साइज़: छोटी (करीब 6 माइक्रोमीटर)

आकृति: एकदम गोल।

आम एरिथ्रोसाइट्स की अपेक्षा इनका कोशिका द्रव्य ज़्यादा गहरा अभिरंजित होता है।

ये हिमोलिटिक एनीमिया और वंशानुगत स्फेरोसायटोसिस में नज़र आते हैं।

चित्र 8.62 एलिप्टोसाइट्स

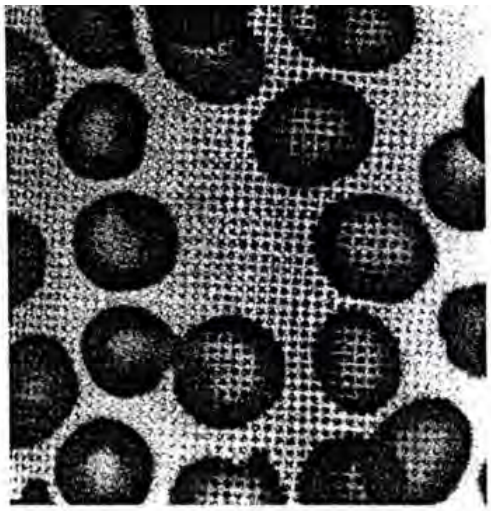
एलिप्टोसाइट्स (चित्र 8.62)

साइज़: सामान्य, 8 माइक्रोमीटर।

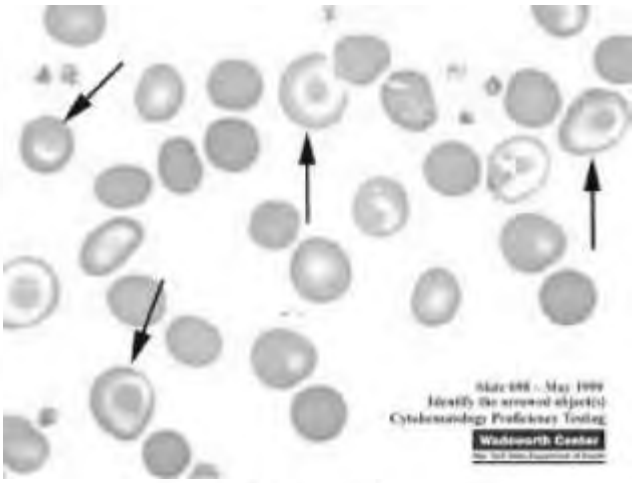
आकृति: अण्डाकार।

कोशिका द्रव्य परिधि पर, खासकर सिरों पर ज़्यादा गहरा अभिरंजित होता है।

कभी-कभार ही नज़र आते हैं। वंशानुगत एलिप्टोसायटोसिस, लौह की कमी वाले एनीमिया, दुष्ट (पर्निशियस) एनीमिया, सिकल सेल रोग, थेलेसेमिया तथा मायलोफाइब्रोसिस में नज़र आते हैं।



चित्र 8.63 - एन-आइसोसायटोसिस



चित्र 8.64 - पाइकिलोसाइट्स

एन-आइसोसायटोसिस (चित्र 8.63)

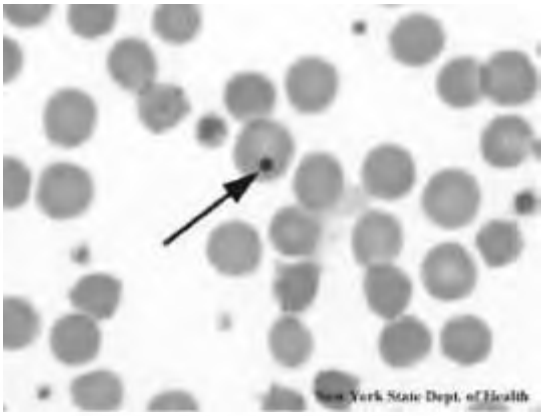
वह स्थिति जिसमें रक्त में विभिन्न साइज़ के एरिथ्रोसाइट्स पाए जाते हैं। जैसे 9 माइक्रोमीटर साइज़ के एरिथ्रोसाइट्स 6 माइक्रोमीटर वाले एरिथ्रोसाइट्स के साथ मिले हुए दिखते हैं।

यह स्थिति कई किस्म के एनीमिया में नज़र आती है।

पाइकिलोसाइट्स (चित्र 8.64)

रक्त में विभिन्न आकृतियों के एरिथ्रोसाइट्स की उपस्थिति। जैसे, गोल, अण्डाकर, तिकोने, नाशपाती के आकार और पिचके हुए एरिथ्रोसाइट्स का मिश्रण।

कई किस्म के गंभीर एनीमिया और मायलोफाइब्रोसिस में यह स्थिति दिखाई पड़ती है।



चित्र 8.65 - हॉवेल-जॉली काया युक्त एरिथ्रोसाइट्स

हॉवेल-जॉली बॉडी युक्त एरिथ्रोसाइट्स (चित्र 8.65)

इन एरिथ्रोसाइट्स में एक या एक से अधिक बड़े जामुनी कण होते हैं (केंद्रक के अवशेष)।

कोशिकाओं पर चिपके एरिथ्रोसाइट्स और ऐसे एरिथ्रोसाइट्स के बीच भ्रमित न हों।

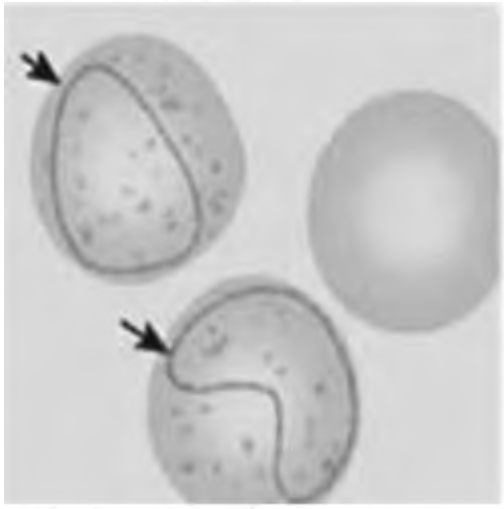
ऐसे एरिथ्रोसाइट हिमोलिटिक एनीमिया और मेगेलोब्लास्टिक एनीमिया (स्प्लीन यानी प्लीहा निकालने के बाद होता है) के मामलों में देखे जाते हैं।

केबट रिंग बॉडी युक्त एरिथ्रोसाइट्स (चित्र 8.66)

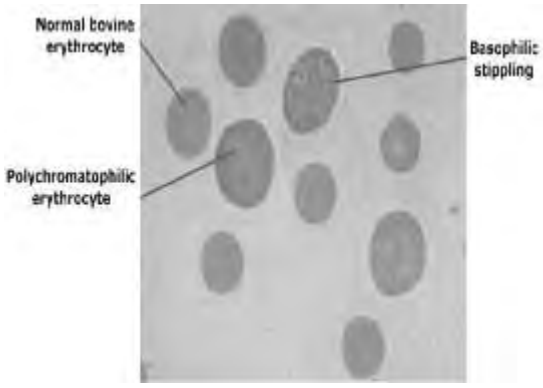
इन एरिथ्रोसाइट्स में छल्ले के आकार की या 8 के आकार की संरचना पाई जाती है जो राइट (Wright) अभिरंजक के साथ लाल अभिरंजित होती है।

गंभीर एनीमिया में नज़र आते हैं।

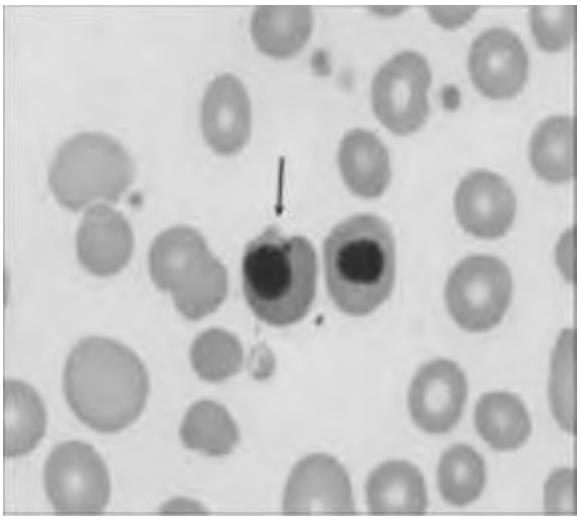
मलेरिया परजीवी और ऐसे एरिथ्रोसाइट में गफलत न करें।



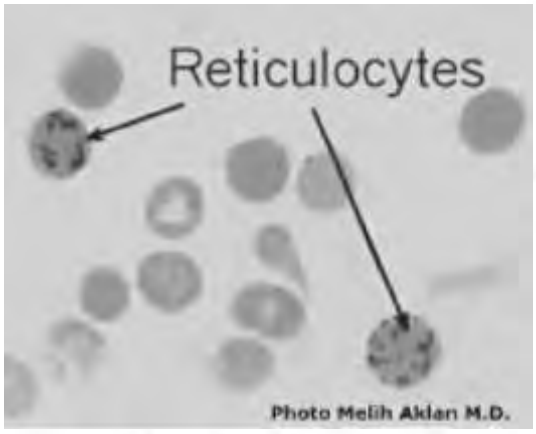
चित्र 8.66 -केबट रिंग काया युक्त एरिथ्रोसाइट्स



चित्र 8.67 - बेसोफिलिक स्टिपलिंग युक्त एरिथ्रोसाइट्स



चित्र 8.68 - न्यूक्लिएटेड एरिथ्रोसाइट (नॉर्मोब्लास्ट)



चित्र 8.69 - रेटिक्यूलोसाइट्स

बेसोफिलिक स्टिपलिंग युक्त एरिथ्रोसाइट्स (चित्र 8.67)

इन एरिथ्रोसाइट्स के कोशिका द्रव्य में एकाधिक नीले-काले बिंदु होते हैं।

अभिरंजक के धब्बों से भ्रमित न हों।

ये विटामिन की कमी, थेलेसेमिया और सीसा विषाक्तता के मामलों में नज़र आते हैं।

न्यूक्लिएटेड एरिथ्रोसाइट (नॉर्मोब्लास्ट) (चित्र 8.68)

साइज़: 8-10 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल या अनियमित।

केंद्रक: गोल, प्राय: केंद्र से हटा हुआ, गहरे जामुनी, घने क्रोमेटिन से युक्त।

कोशिका द्रव्य: गुलाबी या भूरा-नीला।

सिकल सेल एनीमिया जैसे गंभीर एनीमिया में त्वरित एरिथ्रोपोएसिस में, गंभीर बैक्टीरिया संक्रमण तथा ल्यूकेमिया व कैंसर के मामलों में दिखाई देते हैं।

रेटिक्यूलोसाइट्स (चित्र 8.69)

ऐसे एरिथ्रोसाइट्स जिनमें रवे (केंद्रक के अवशेष) होते हैं जो ब्रिलियट क्रेसाइल ब्लू और इवान्स ब्लू जैसे अभिरंजकों से गहरे नीले अभिरंजित होते है। आम तौर पर रक्त में एरिथ्रोसाइट्स के मुक्त होने के 4 घण्टे के अंदर रेटिक्यूलोसाइट्स नदारद हो जाते हैं।

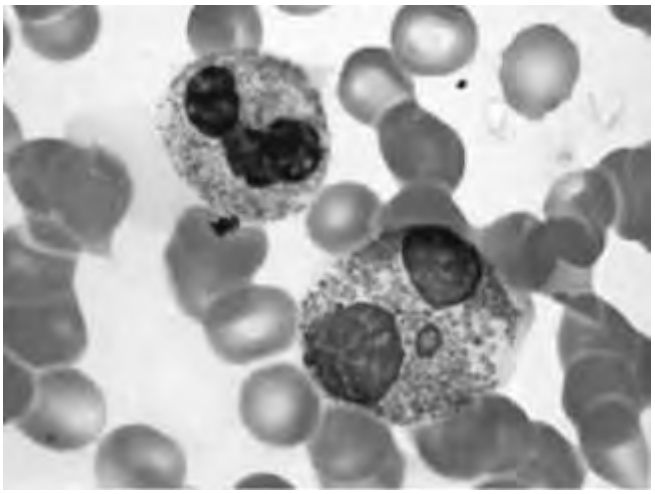
ल्यूकोसाइट्स (सफेद रक्त कोशिकाएं)

एरिथ्रोसाइट्स के विपरीत ल्यूकोसाइट्स में एक केंद्रक होता है जिसकी साइज़ व आकृति अलग-अलग हो सकती है। जैसा कि पहले बताया गया था, ल्यूकोसाइट्स मुख्यत: पांच प्रकार के होते हैं - न्यूट्रोफिल्स, ईओसिनोफिल्स, बेसोफिल्स, लिम्फोसाइट्स और मोनोसाइट्स। विभिन्न प्रकार के ल्यूकोसाइट्स का अनुपात निदान की दृष्टि से महत्वपूर्ण होता है।

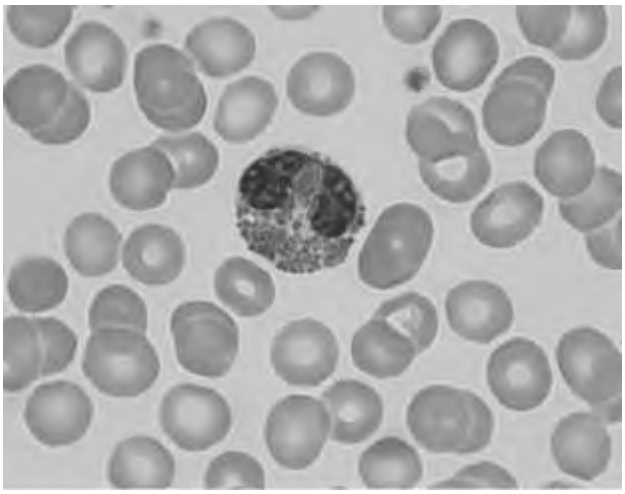
पोलीमार्फोन्यूक्लियर कोशिकाएं (न्यूट्रोफिल्स, ईओसिनोफिल्स, और बेसोफिल्स)

पोलीमार्फोन्यूक्लियर कोशिकाओं में:

- एक केंद्रक होता है जिसमें कई पिण्डक (लोब्स) होते हैं।
- कोशिका द्रव्य में दाने (ग्रेन्यूल्स) होते हैं (इसीलिए इनका एक नाम ग्रेनुलोसाइट्स है)।



चित्र 8.70 - पोलीमार्फोन्यूक्लियर न्यूट्रोफिल्स



चित्र 8.71 - पोलीमार्फोन्यूक्लियर ईओसिनोफिल्स

पोलीमार्फोन्यूक्लियर न्यूट्रोफिल्स (चित्र 8.70)

साइज़: 12-15 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोलाकार, स्पष्ट।

केंद्रक: कई (2-5) पिण्डक जो क्रोमेटिन के तन्तुओं से जुड़े होते हैं। क्रोमेटिन एक एकसार गहरे जामुनी गुच्छे के रूप में नज़र आता है।

कोशिका द्रव्य: प्रचुर मात्रा में, गुलाबी, अत्यंत छोटे-छोटे चमकदार बैंगनी (मौवी) रवे होते हैं। अभिरंजन के बाद ये रवे कत्थई-बैंगनी नज़र आते हैं।

पोलीमार्फोन्यूक्लियर ईओसिनोफिल्स (चित्र 8.71)

साइज़: 12-15 माइक्रोमीटर।

केंद्रक: आम तौर पर दो पिण्डक।

कोशिका द्रव्य: बहुत थोड़ा दिखता है; इसमें बहुत सारे बड़े-बड़े, सघन रूप से पैक किए हुए, गोल नारंगी लाल रवे होते हैं। कभी-कभी कोशिकाएं क्षतिग्रस्त नज़र आती हैं जिनके रवे बिखरे होते हैं।

पोलीमार्फोन्यूक्लियर बेसोफिल्स (चित्र 8.72)

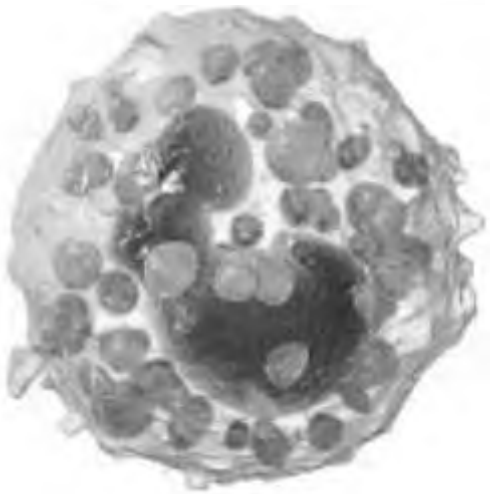
ये सबसे दुर्लभ किस्म के ग्रेनुलोसाइट्स हैं।

साइज़: 11-13 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल।

केंद्रक: रवों से ढंका होने की वजह से इसे देखना मुश्किल होता है।

कोशिका द्रव्य: बहुत थोड़ा दिखता है, इसमें बहुत सारे बड़े-बड़े, गोल गहरे जामुनी रंग के रवे होते हैं। रवों का पैकिंग ईओसिनोफिल्स से कम घना होता है। कभी-कभी छोटी-छोटी रंगहीन रिक्तिकाएं (वेक्यूओल्स) भी होती हैं।



चित्र 8.72 - पोलीमार्फोन्यूक्लियर बेसोफिल्स

लिम्फोसाइट्स और मोनोसाइट्स

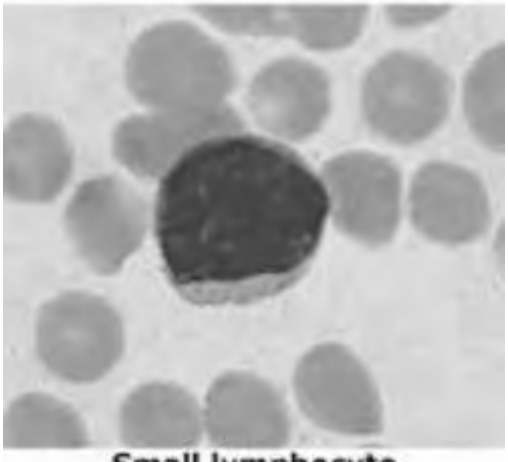
लिम्फोसाइट्स और मोनोसाइट्स में सघन केंद्रक होता है और कोशिका द्रव्य में रवे हो भी सकते हैं या नहीं भी हो सकते।

छोटे लिम्फोसाइट्स (चित्र 8.73)

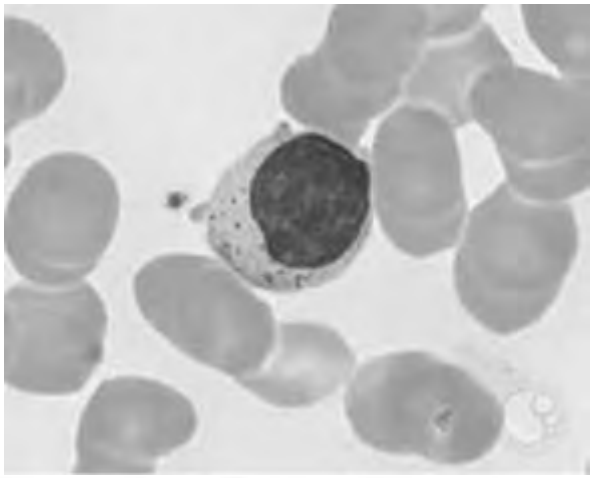
साइज़: 7-10 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल।

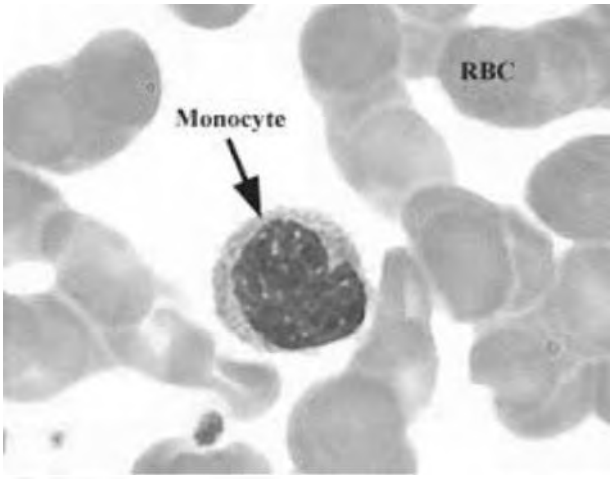
केंद्रक: बड़ा यह अधिकांश जगह घेर लेता है और इसमें गहरे जामुनी रंग का क्रोमेटिन सघन रूप में होता है।



चित्र 8.73 - छोटे लिम्फोसाइट्स



चित्र 8.74 बड़े लिम्फोसाइटस



चित्र 8.75 मोनोसाइट्स

बड़े लिम्फोसाइट्स (चित्र 8.74)

साइज़: 10-15 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल या अनियमित।

केंद्रक: अण्डाकार या गोलाकार, जो कोशिका के एक बाजू में हो सकता है।

कोशिका द्रव्य: काफी मात्रा में, गहरा नीला; इसमें बड़ी संख्या में बड़े-बड़े गहरे लाल रवे होते हैं।

चित्र 8.76 ***मोनोसाइट्स***

मोनोसाइट्स (चित्र 8.75)

साइज़: 15-25 माइक्रोमीटर (सबसे बड़े ल्यूकोसाइट्स)।

आकृति: अनियमित।

केंद्रक: परिवर्तनशील, अक्सर सेम (गुर्दे) के आकार का होता है जिसमें हल्का बैंगनी (मौवी) क्रोमेटिन धागों के रूप में जमा होता है।

कोशिका द्रव्य: हल्का नीला, इसमें महीन, धूल जैसे लाल रवे होते हैं। रिक्तिकाएं (वेक्यूओल्स) प्रायः उपस्थित होती हैं।

मलेरिया से पीड़ित मरीज़ों में कोशिका द्रव्य में कत्थई-काले थक्के पाए जाते हैं। ये थक्के मलेरिया अभिरजक के हैं।

दुर्लभ या असामान्य कोशिकाएं

प्लाज़्मा कोशिकाएं (चित्र 8.76)

प्लाज़्मा कोशिकाएं एण्टीबॉडीज़ का निर्माण करती हैं। खसरा (मीज़ल्स), टी.बी., अन्य वायरल या बैक्टीरिया संक्रमणों या मल्टीपल मायलोमा से पीड़ित मरीज़ों के रक्त की फिल्म में ये कोशिकाएं दिखाई पड़ती हैं।

साइज़: 12-15 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल या अण्डाकार।

केंद्रक: गोल, केंद्र से हटा हुआ, क्रोमेटिन सघनता से पैक किया हुआ (अक्सर पहिएनुमा जमावट)।

कोशिका द्रव्य: गहरा नीला, केंद्रक के आसपास हल्के रंग से अभिरंजित गोल भाग। कई छोटी-छोटी रिक्तिकाएं (वेक्यूओल्स) उपस्थित होती हैं मगर आसानी

से नज़र नहीं आतीं।

अपरिपक्व ग्रेनुलोसाइट्स

बैक्टीरिया के उग्र संक्रमण के दौरान अस्थि मज्जा के अपरिपक्व पोलीमार्फोन्यूक्लियर ग्रेनुलोसाइट्स रक्त प्रवाह में पहुंच जाते हैं। इन्हें निम्नलिखित लक्षणों के आधार पर पहचाना जा सकता है:

साइज़: 12-18 माइक्रोमीटर।

केंद्रक: पिण्डक रहित, क्रोमेटिन का रंग गहने लाल से जामुनी के बीच होता है।

कोशिका द्रव्य: हल्का नीला या गुलाबी जिसमें बड़े-बड़े चमकदार बैंगनी या गहरे लाल रंग के रवे होते हैं। विषाक्त रवे भी नज़र आते हैं - ये रवे बहुत बड़े और गहरे अभिरंजित होते हैं।

यदि अपरिपक्व पोलीमार्फोन्यूक्लियर न्यूट्रोफिल्स ('बैण्डफॉर्म' या 'स्टैब सेल्स', चित्र 8.77) दिखाई पड़ें, तो अन्य ल्यूकोसाइट के समान उनका संख्या अनुपात भी रिपोर्ट करें।

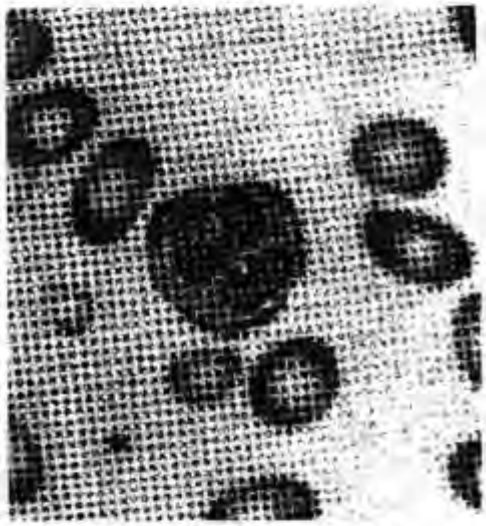
बगैर रवों वाली तथा न्यूक्लियोलाई वाली अपरिपक्व कोशिकाएं (लिम्फोब्लास्ट) भी पाई जाती हैं (चित्र 8.80)।

चित्र 8.77 - अपरिपक्व पोलीमार्फोन्यूक्लियर न्यूट्रोफिल्स

हायपरसेग्मेंटेड पोलीमार्फोन्यूक्लियर न्यूट्रोफिल्स (चित्र 8.78)

हायपरसेग्मेंटेड पोलीमार्फोन्यूक्लियर न्यूट्रोफिल्स सामान्य न्यूट्रोफिल्स जैसे ही दिखते हैं। अंतर सिर्फ इतना ही होता है कि इनके केंद्रक में 5-10 पिण्डक होते हैं और ये आकार में अक्सर बड़े होते हैं।

ऐसे न्यूट्रोफिल्स मेक्रोसाइटिक एनीमिया के मरीज़ों में नज़र आते हैं। यह एनीमिया फॉलिक एसिड और विटामिन बी की कमी से पैदा होता है।



चित्र 8.78 - हायपरसेग्मेंटेड पोलीमार्फोन्यूक्लियर न्यूट्रोफिल्स

असामान्य (एटिपिकल) लिम्फोसाइट्स (चित्र 8.79)

असामान्य लिम्फोसाइट्स वायरस संक्रमण, खास तौर से संक्रामक मोनोन्यूक्लियोसिस (ग्लेण्डुलर ज्वर), कुकर खांसी और खसरा के समय नज़र आते हैं। ये टी.बी., तेज़ मलेरिया और एड्स में भी दिखते हैं।

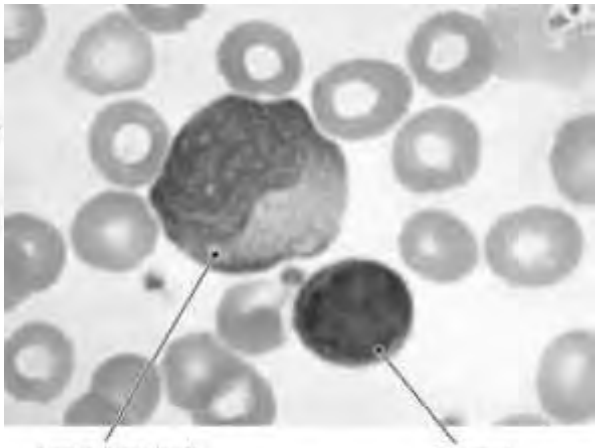
साइज़: काफी विविधता होती है, 12-18 माइक्रोमीटर।

आकृति: अक्सर अनियमित।

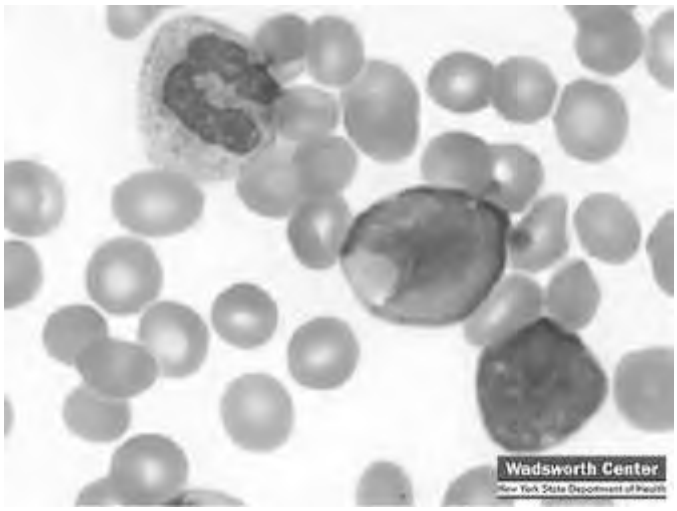
केंद्रक: आम तौर पर अनियमित।

केंद्रक: गोल या अनियमित, अक्सर कोशिका में एक ओर होता है; न्यूक्लियोलाई दिख सकता है।

कोशिका द्रव्य: बड़े लिम्फोसाइट्स की अपेक्षा अधिक गहरा नीला। कोशिका में एक गहरी किनार बनाता है। रवे नही होते।



चित्र 8.79 - असामान्य (एटिपिकल) लिम्फोसाइट्



चित्र 8.80 -लिम्फोब्लास्ट

चित्र 8.81 - मेगाकेरियोसाइट्स

लिम्फोब्लास्ट (चित्र 8.80)

सबसे अपरिपक्व किस्म के ल्यूकोसाइट्स हैं। लिम्फोब्लास्ट ल्यूकेमिया से पीड़ित मरीज़ों की रक्त फिल्म में देखे जा सकते हैं।

साइज़: बड़ी, 15-25 माइक्रोमीटर।

केंद्रक: बड़ा, गोल, हल्का चमकदार बैंगनी (मोवी), 1-5 न्यूक्लियोलाई युक्त।

मेगाकेरियोसाइट्स (चित्र 8.81)

थ्रोम्बोसाइट्स की मातृ कोशिकाएं जो अस्थि मज्जा में पाई जाती हैं।

साइज़: बहुत बड़ी, 60-100 माइक्रोमीटर।

केंद्रक: बहुत अनियमित, कई पिण्डक मगर सघन।

कोशिका द्रव्य: बहुत सारे बारीक रवे पाए जाते हैं और थ्रम्बोसाइट्स पाए जाते हैं। रवे अधिकांशतः गहरे लाल होते हैं। कोशिका भित्ती सुस्पष्ट नहीं होती।

(रक्त में कभी-कभार ही पाए जाते हैं।)

रक्त में प्लाज़्मोडियम प्रजातियों की पहचान

मलेरिया परजीवी को देखने के लिए रक्त फिल्म को फील्ड या गीम्सा, जी.एस.बी. या लीशमैन अभिरंजक से अभिरंजित करके देखना होता है। इन परजीवियों को डिपस्टिक जांच नामक एक प्रतिरक्षा वैज्ञानिक प्रक्रिया द्वारा भी पहचाना जा सकता है।

रोग के निदान व उपचार के लिए ज़रूरी होता है कि प्रयोगशाला में सम्बंधित प्रजाति की शिनाख्त कर ली जाए। यदि आप प्रजाति को नहीं पहचान पाते, तो भी देखे गए मलेरिया परजीवी की रिपोर्ट ज़रूर दें। एरिथ्रोसाइट्स पर चढ़े हुए थ्रोम्बोसाइट्स को मलेरिया परजीवी समझने की गलती न करें।

एक ही स्लाइड पर रक्त की पतली व मोटी फिल्म का निर्माण

सूक्ष्मदर्शी से मलेरिया जांच हेतु एक ही स्लाइड पर पतली व मोटी फिल्म बनाई जाती है। मोटी फिल्म का उपयोग परजीवी का पता लगाने हेतु किया जाता है जबकि पतली फिल्म से परजीवी की प्रजाति की शिनाख्त की जाती है।

सामग्री और अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- कांच की साफ स्लाइड
- निर्जीवीकृत रक्त छुरियां (लेन्सेट)
- रूई
- ग्रीस पेंसिल
- मिथेनॉल
- 70 प्रतिशत इथेनॉल

विधि

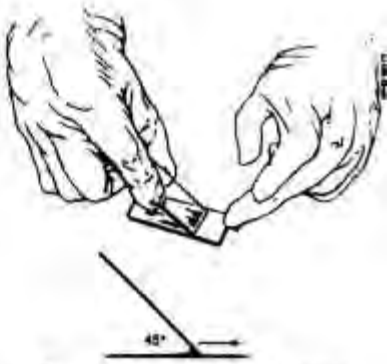
मलेरिया परजीवी की जांच के लिए रक्त आम तौर पर स्वास्थ्य केंद्र पर लिया जाता है। रक्त लेने का सबसे अच्छा समय तब होता है, जब बुखार तेज़ हो क्योंकि इस समय रक्त में मलेरिया परजीवियों की तादाद सबसे अधिक होती है। रक्त का नमूना हमेशा मलेरिया-रोधी दवाई देने से पहले लिया जाना चाहिए।

1. मरीज़ की बाईं हथेली ऊपर की ओर करके तीसरी या चौथी उंगली चुनिए। (छोटे शिशुओं के मामले में पैर के अंगूठे से रक्त ले सकते हैं। वयस्कों या बच्चों के अंगूठे से कभी रक्त न लें।) इथेनॉल में भीगी रूई से उंगली का सिरा साफ कीजिए। इसकी मदद से उंगली की गोलाई पर से धूल व ग्रीस वगैरह साफ कर दें (चित्र 8.82)। साफ रूई या कपड़े से उंगली को सुखाएं।
2. एक निर्जीवीकृत लेन्सेट की मदद से उंगली के सिरे में छेद कर दें (चित्र 8.83)। इसके लिए लेन्सेट को फुर्ती से घुमाते हुए उंगली में टोंचें। उंगली पर हल्का सा दबाव डालकर रक्त की पहली बूंद निकालिए और इसे सूखी रूई से पोंछ दीजिए। यह ध्यान रखें कि उंगली पर रूई के रेशे न चिपके रहें।
3. फुर्ती से काम करते हुए, साफ स्लाइड्स को सिर्फ किनारे से पकड़कर निम्नानुसार रक्त प्राप्त करें:
   - उंगली पर हल्का दबाव डालकर • साइज़ की बूंद स्लाइड के मध्य भाग पर ले लें। यह पतली फिल्म के लिए है।
   - थोड़ा और दबाव डालें ताकि और रक्त निकल आए। दो-तीन बड़ी बूंदें (लगभग ● साइज़ की) स्लाइड पर पहली बूंद से करीब 1 सें.मी. दूर ले लें (देखें चित्र 8.84)।)
   - उंगली पर शेष बचे रक्त को रूई से पोंछ दें।
4. **पतली फिल्म:** एक अन्य साफ स्लाइड को 'स्प्रेडर' की तरह उपयोग कीजिए। रक्त की बूंद वाली स्लाइड को एक मज़बूत, समतल सतह पर रखकर स्प्रेडर से रक्त की छोटी बूंद को स्पर्श कीजिए। रक्त को स्प्रेडर की किनोर पर फैलने दीजिए। अब स्प्रेडर को दृढ़तापूर्व स्लाइड पर, बड़ी बूंद से दूसरी ओर, सरकाइए। सरकाते समय स्प्रेडर को 45^0 के कोण पर रखें (चित्र 8.85)। यह ध्यान रखें कि रक्त की बूंद को फैलाते समय स्प्रेडर की सतह स्लाइड के साथ लगातार एक-से सम्पर्क में रहे।

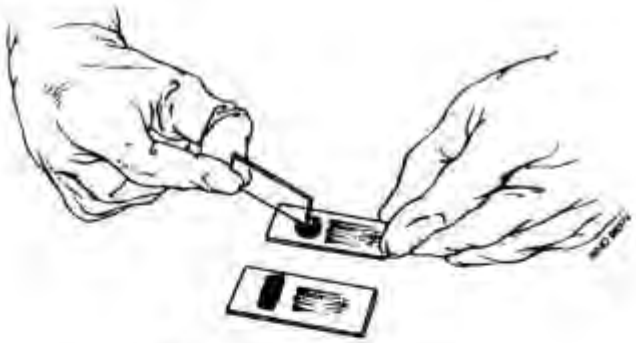
चित्र 8.82 केशिका रक्त लेने से पहले उंगली की सफाई

चित्र 8.83 उंगली के सिरे को छेदने के लिए छुरी का उपयोग

चित्र 8.84 खून का नमूना लेना



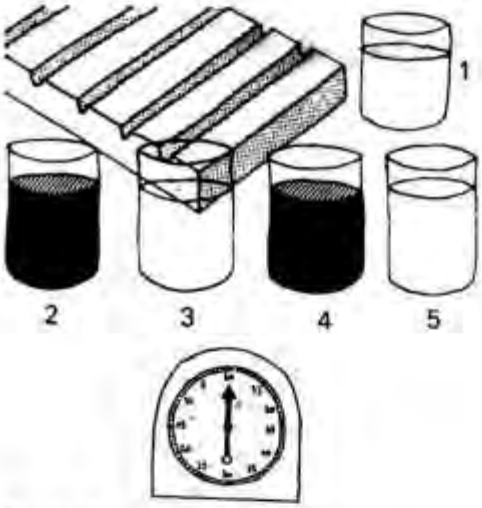
चित्र 8.85 पतली फिल्म बनाना



चित्र 8.86 मोटी फिल्म बनाना

चित्र 8.87 स्लाइड पर लेबल लगाएं

5. **मोटी फिल्म**: स्लाइड को किनारों या कोने से पकड़कर निम्न तरीके से मोटी फिल्म बनाएं: स्प्रेडर के कोने से फुर्ती से रक्त की बडी बूदों को स्पर्श करें और उन्हें फैलाकर मोटी फिल्म बना लें (चित्र 8.86)।
6. मोटी फिल्म को किसी समतल, सपाट जगह पर सूखने दें। मगर इसे मक्खियों, धूल और अत्यधिक गर्मी से बचाएं। सूखी पतली फिल्म के मोटे वाले भाग पर एक ग्रीस पेंसिल की मदद से मरीज़ का नाम या नम्बर और तारीख लिखे (चित्र 8.87)।



चित्र 8.88 अभिरोजन हेतु सामग्री

जे एस वी अभिरंजक से फिल्म का अभिरंजन (चित्र 8.88)

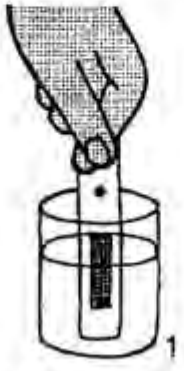
1. टाईमर

   जार 1 - जिसमें एसीटोन रहित मिथेनॉल (मिथाइल एल्कोहल) हो।

   जार 2 - जिसमें जे.एस.बी. स्टेन घोल नं ii हो

   जार 3 एवं 5 - बफरयुक्त पानी

   जार 4 - जे.एस.बी. स्टेन घोल नं ii हो
2. जब मोटी एवं पतली फिल्म सूख जाये तब पतली फिल्म को मीथेनॉल में डालकर निकाल लें। सावधानी रखें मोटी फिल्म को मीथेनॉल में न डालें । (चित्र 8.89)
3. अच्छी तरह सुखा लें।



चित्र 8.89 पतली फिल्म को मीथेनॉल में डालकर निकाल लें।

चित्र 8.90 मोटी एवं पतली फिल्म वाली दोनों स्लाईडों को जार नं 2 में डाल कर निकाल लें।

चित्र 8.91 बफरयुक्त पानी में 2-3 बार डुबाकर धो लें।

चित्र 8.92 मोटी एवं पतली फिल्म को जार नं 4 में 45 मिनट तक डुबा कर निकाल लें।

चित्र 8.93 बफर युक्त पानी में डुबा कर धोलें।

4. मोटी एवं पतली फिल्म वाली दोनों स्लाईडों को जे.एस.बी. स्टेन से भरे जार नं 2 में 1-2 सेकंड के लिये डाल कर निकाल लें। (चित्र 8.90)
5. बफरयुक्त पानी में 2-3 बार डुबाकर धो लें। (चित्र 8.91)
6. मोटी एवं पतली फिल्म को जे.एस.बी. स्टेन से भरे जार नं 4 में 45 मिनट तक डुबा कर निकाल लें। (चित्र 8.92)
7. बफर युक्त पानी में 3-4 बार डुबा कर धोलें। (चित्र 8.93)
8. स्लाइड को रैक पर रख कर सुखा लें । (चित्र 8.94)

चित्र 8.94 स्लाइड को रैक पर सुखा लें ।

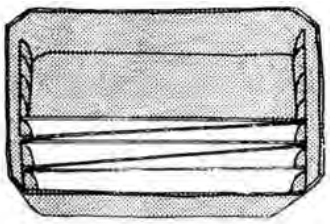
गीम्सा अभिरंजक से फिल्म का अभिरंजन

सिद्धांत

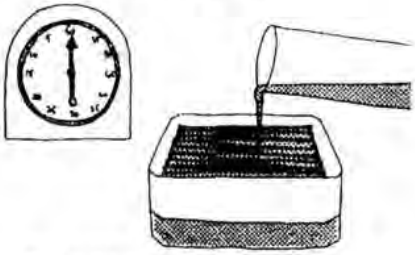
रक्त की फिल्म के अभिरंजन के दौरान एरिथ्रोसाइट का हिमोग्लोबीन घुल जाता है (डीहिमोग्लोबिनाइज़ेशन) और अभिरंजक घोल के पानी के साथ बह जाता है। शेष रहते हैं परजीवी और ल्यूकोसाइट्स जिन्हें सूक्ष्मदर्शी में देखा जा सकता है।

सामग्री और अभिकारक

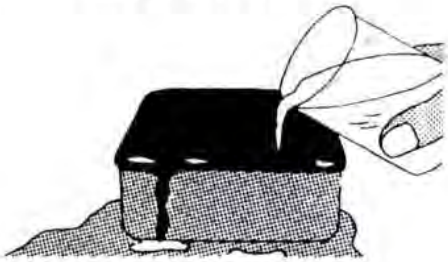
- सूक्ष्मदर्शी
- नपनाघट, 10, 50 व 100 मि.ली.
- बीकर, 50 व 250 मि.ली.
- अभिरंजन नाद
- कांच की छड़ें
- वॉश बोतल
- स्लाइड की चिमटियां
- स्लाइड रैक्स
- टाइमर (समय मापी)
- गीम्सा अभिरंजक
- ड्रॉप बोतल में मिथेनॉल
- बफरयुक्त पानी, pH 7.2 (अभिकारक क्र. 5) या आसुत पानी



चित्र 8.95 अभिरंजन नाद में स्लाइड्स को रखना

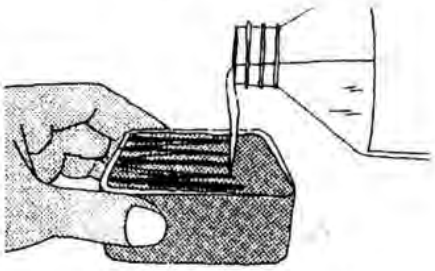


चित्र 8.96 स्लाइड्स डूबने तक अभिरंजक डालें। 30-45 मिनट के लिये



चित्र 8.97 तलछट हटाने के लिए नाद में पानी डालें

चित्र 8.98 अभिरंजक नाद को बफरयुक्त पानी से भरें।



चित्र 8.99 बफरयुक्त पानी से स्लाईड को धोना

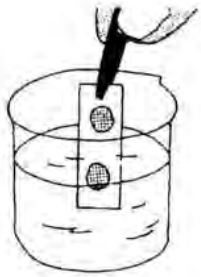
मोटी व पतली रक्त फिल्मों के अभिरंजन का सामान्य तरीका

समुचित अभिरंजन के लिए आदर्श रूप में तो मोटी व पतली फिल्म अलग-अलग स्लाइड्स पर बनाना चाहिए। मगर अक्सर ऐसा करना संभव नहीं होता और दोनों फिल्में एक ही स्लाइड पर बनाई जाती हैं। जब ऐसा किया जाए तो मोटी फिल्म का बढ़िया अभिरंजन ज़्यादा महत्व रखता है। सर्वोत्तम नतीजे तब प्राप्त होते हैं जब रक्त फिल्मों को रात भर सुखा लिया जाए।

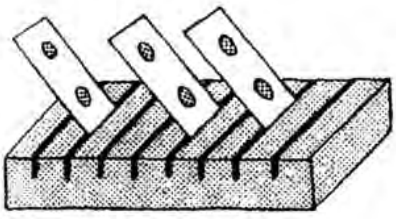
यह विधि 20 या उससे अधिक स्लाइड्स के अभिरंजन हेतु उपयुक्त है।

1. मिथेनॉल की तीन बूंदे डालकर या मिथेनॉल भरे पात्र में चंद सेकंड तक डुबोकर पतली फिल्म को फिक्स कर लें। यदि बहुत देर तक फिक्स किया गया, तो श्यूफनर बिन्दु और मौरर विदर (Cleft) देखना मुश्किल हो जाएगा। डीहिमोग्लोबिनाइज़ेशन का संभव बनाने के लिए ज़रूरी है कि मोटी फिल्म को फिक्स न किया जाए इसलिए मोटी फिल्म को मिथेनॉल या मिथेनॉल वाष्प के संपर्क में न आने दें।
2. एक चिमटी की मदद से स्लाइड्स को पीठ से पीठ सटाकर एक अभिरंजन नाद में रखें (चित्र 8.95)।
3. बफरयुक्त पानी (pH 7.2) या आसुत पानी में 3 प्रतिशत गीम्सा अभिरंजक घोल बनाइए। घोल इतना बनाएं कि अभिरंजन नाद पूरा भर सके। अभिरंजक को अच्छी तरह मिला लें।
4. अभिरंजन को नाद में डालें। इतना अभिरंजक डालें कि सारी स्लाइड्स डूब जाएं। धूप से दूर 30-45 मिनट तक अभिरंजन होने दें। (चित्र 8.96)।
5. नाद में धीरे-धीरे पानी डालिए ताकि अभिरंजक घोल की सतह पर जमी तलछट बह जाए (चित्र 8.97)।
6. सावधानीपूर्वक शेष अभिरंजक भी नाद से बाहर निथार दें (चित्र 8.98)।
7. अभिरंजक नाद को बफरयुक्त पानी से भरें । चंद सेकंड के लिए साफ पानी में धोएं और फिर पानी फेंक दें।

   सीमित सप्लाई होने की वजह से कुछ प्रयोगशालाओं में गीम्सा अभिरंजक के घोल का दोबारा उपयोग किया जाता है। यदि ऐसा करना हो, तो उसी दिन किया जाना चाहिए।
8. चिमटी की मदद से स्लाइड्स को एक-एक करके निकालिए। अब एक बीकर में सादा पानी लेकर उसमें स्लाईड धीरे से डुबाकर निकाल लें।
9. इन्हें स्लाइड रैक पर रख दें ताकि पानी बह जाए और स्लाइड सूख जाएं। यह ध्यान रखें कि फिल्म रैक को न छुए।



चित्र 8.100 स्लाइड्स को साफ पानी से धोना



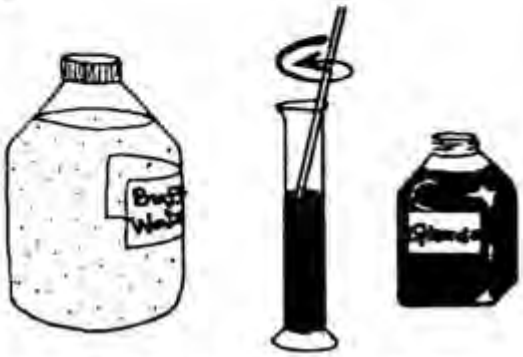
चित्र 8.101 स्लाइड्स को स्लाईड रैक पर रखना

चित्र 8.102 फिल्म को मिथेनॉल में डुबाकर फिक्स कर लें।

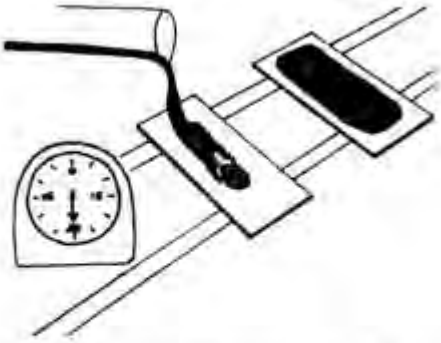
मोटी व पतली फिल्म के अभिरंजन का त्वरित तरीका

जब फौरन परिणाम की ज़रूरत हो, तो यह तरीका मोटी फिल्म के अभिरंजन के लिए उपयुक्त है। सामान्य विधि की अपेक्षा इसमें अभिरंजक ज़्यादा लगता है।

1. मोटी फिल्म को अच्छी तरह सूखने दीजिए। यदि फौरन परिणाम प्राप्त करना ज़रूरी हो, सुखाने के लिए पंखे का उपयोग कर सकते हैं या सूक्ष्मदर्शी के लैम्प जैसे किसी स्रोत की हल्की गर्मी भी दे सकते हैं। इस बात का ध्यान रखें कि बहुत अधिक गर्म न करें अन्यथा मोटी फिल्म गर्मी से फिक्स हो जाएगी।
2. फिल्म पर तीन बूंद मिथेनॉल डालकर या मिथेनॉल में चंद सेकंड के लिए डुबाकर पतली फिल्म को फिक्स कर लें। डीहिमोग्लोबिनाइज़ेशन संभव बनाने के लिए मोटी फिल्म को फिक्स न करें। इसलिए मोटी फिल्म को मिथेनॉल या मिथेनॉल की वाष्प से बचाएं। (चित्र 8.102)
3. बफरयुक्त पानी या आसुत पानी (pH 7.2) में जिएम्सा अभिरंजक का 10 प्रतिशत घोल बनाएं, यदि थोड़ी सी मात्रा की ज़रूरत हो, तो प्रति मिलीलीटर पानी में 3 बूंद अभिरंजक मिलाने से सही सांद्रता प्राप्त हो जाएगी। एक स्लाइड के लिए करीब 3 मि.ली. तैयार घोल की ज़रूरत होती है। कांच की छड़ से अभिरंजक को अच्छी तरह मिला लें। (चित्र 8.103)
4. धीरे-धीरे अभिरंजक को स्लाइड पर डालें या पिपेट का उपयोग करें। 5-10 मिनट तक रखा रहने दें। (चित्र 8.104)
5. साफ पानी बूंद-बूंद डालकर अभिरंजक को बहा दें। स्लाइड को झुकाकर अभिरंजक न बहाएं क्योंकि ऐसा करने पर स्मीयर पर धब्बे जमा हो जाएंगे। (चित्र 8.105)
6. स्लाइड को स्लाइड रैक पर रख दें ताकि पानी बह जाए और स्लाइड सूख जाए। ध्यान रखें कि फिल्म रैक को न छुए। (चित्र 8.106)

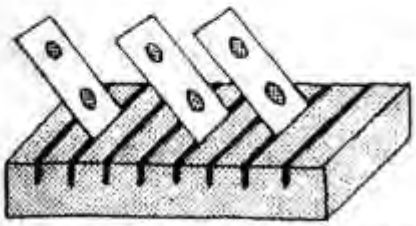


चित्र 8.103 कांच की छड़ से अभिरंजक को मिला लें।



चित्र 8.104 अभिरंजक को स्लाइड पर डालें। 5-10 मिनट रहने दें।

चित्र 8.105 साफ पानी डालकर अभिरंजक को बहा दें।



चित्र 8.106 स्लाइड को सूखने के लिये रैक पर रख दें

फील्ड अभिरंजक से रक्त फिल्म का अभिरंजन

फील्ड अभिरंजक से अभिरंजन करके मलेरिया परजीवी की त्वरित जांच की जा सकती है (मगर इससे शुफनर बिन्दु हमेशा अभिरंजित नहीं होते)।

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- कांच के जार
- स्लाइड रैक
- मिथेनॉल
- फील्ड स्टेन
- बफरयुक्त पानी, pH 7.2

मोटी फिल्म के अभिरंजन का तरीका (चित्र 8.107, 8.108)

1. अनफिक्स्ड फिल्म को फील्ड अभिरंजक घोल 'क' से भरे जार में 3 सेकण्ड के लिए डुबाएं।
2. साफ पानी भरे जार में पांच सेकण्ड के लिए एक बार डुबाकर धो डालें।
3. स्लाइड को फील्ड अभिरंजक 'ख' के घोल से भरे जार में 3 सेकण्ड के लिए डुबाए।
4. चरण 2 के अनुसार धोएं।
5. स्लाइड को रैक में खड़ी रखकर सूखने दें।

पतली फिल्म का अभिरंजन

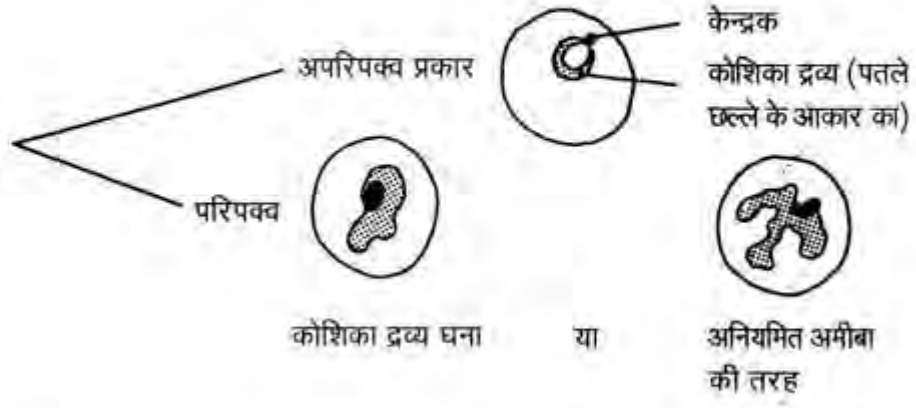
1. फिल्म को 1 मिनट के लिए मिथेनॉल में फिक्स करें।
2. बफरयुक्त पानी से मिथेनॉल को धो डालें।
3. एक पिपेट की मदद से फिल्म पर फील्ड अभिरंजक 'ख' का तनु घोल (1 आयतन अभिरंजक + चार आयतन बफरयुक्त पानी) इतना डालें कि फिल्म पूरी तरह ढंक जाएं।
4. तुरंत उतनी ही मात्रा फील्ड अभिरंजक 'क' भी डाल दें। स्लाइड को झुकाकर अच्छी तरह मिला लें।
5. एक मिनट तक अभिरंजन करें।
6. साफ पानी से अभिरंजक को धो दें।
7. स्लाइड को रैक पर खड़ी रखकर सूखने दें।

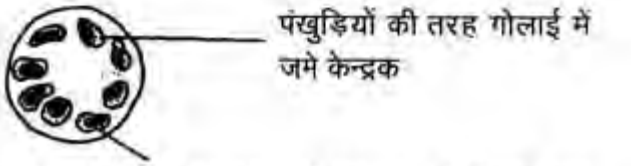
चित्र 8.107 फील्ड स्टेन द्वारा अभिरंजन

चित्र 8.108 स्लाईड को पानी से धोना

सूक्ष्मदर्शी से जांच

स्लाइड को x100 ऑब्जेक्टिव की मदद से सूक्ष्मदर्शी में देखें रक्त में मलेरिया परजीवी विकास की विभिन्न अवस्थाओं में पाए जाते हैं (चित्र 8.109)। कुछ मलेरिया परजीवियों के कोशिका द्रव्य में वर्णकों (पिग्मेंट्स) के कण पाए जाते हैं (चित्र 8.110)।





चित्र 8.109 मलेरिया परजीवी के विकास की अवस्थाएं

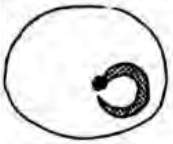
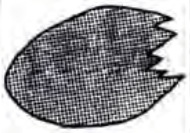
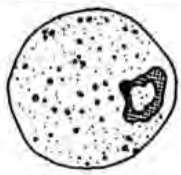
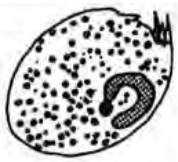
चित्र 8.110 वर्णक युक्त मलेरिया परजीवी

पतली रक्त फिल्म

पतली रक्त फिल्म में हो सकता है कि संक्रमित एरिथ्रोसाइट्स अपरिवर्तित दिखें या उनका रंग व आकृति बदली हुई नज़र आए या उनमें गुलाबी (शुफनर) अथवा लाल (जेम्स) बिन्दु दिखाए पड़ें (तालिका 8.3)। पतली फिल्म की मदद से मलेरिया परजीवियों की प्रजाति पहचानी जा सकती है (तालिका 8.4)।

टीप: लम्बे समय से मलेरिया से ग्रस्त मरीज़ों की पतली रक्त फिल्म में मोनोसाइट्स नज़र आ सकते हैं; कोशिका द्रव्य में अक्सर कत्थई या हरे-काले पिण्ड (सिडरोफिल्स) पाए जाते हैं। जिन मरीज़ों को हाल ही में मलेरिया-रोधी दवा का इंजेक्शन दिया गया हो, उनकी रक्त फिल्म में परजीवी ठीक से अभिरंजित नहीं होते है और बेडौल

तालिका 8.3

	पी. फाल्सिपेरम	*पी. मलेरीए*	*पी. वाइवैक्स*	*पी. ओवेल*
विकास के एक ही चरण पर एरिथ्रोसाइट के व्यास की तुलना में युवा ट्रोफोजाइट की साइज़	पांचवे से तिहाई भाग	एक-चौथाई से दो-तिहाई	एक-चौथाई से दो-तिहाई	 एक-चौथाई से दो-तिहाई
संक्रमित एरिथ्रोसाइट कैसा दिखता है	अपरिवर्तित	अपरिवर्तित या छोटा हो जाता है और कभी -कभी रंग थोड़ा गहरा होता है।	बडा हो जाता है और हल्का रंग	 बड़ा हो जाता है अंडाकार, कटे-फटे किनारे
संक्रमित एरिथ्रोसाइट में बिन्दु	प्रायः नहीं होते*	नहीं होते	 छोटे गुलाबी बिन्दु (शुफनर बिन्दु)	 बड़े लाल (जेम्स बिन्दु) सदा होते हैं
पाई गई अवस्था (चित्र 8.109 देखें)	ट्रोफोज़ॉइट या गेमेटो-साइट ; एक कोशिका में कई ट्रोफोज़ाइट हो सकते हैं	एक ही फिल्म में सभी अवस्थाएं दिखती हैं	एक ही फिल्म में सभी अवस्थाएं दिखती हैं	एक ही फिल्म में सभी अवस्थाएं दिखती हैं

* *पी.फाल्सिपेरम* के वयस्क ट्रोफोज़ॉइट से संक्रमित कुछ एरिथ्रोसाइट्स में चंद बड़े गुलाबी कण (मौरर्स क्लेफ्ट) दिखाए पड़ सकते हैं।

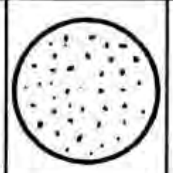
मोटी रक्त फिल्म

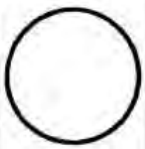
यह ज़रूरी है कि मोटी रक्त फिल्म में, चूंकि संक्रमित एरिथ्रोसाइट्स का लायसिस होता है, इसलिए पृष्ठभूमि साफ और कचरे से मुक्त रहे। मलेरिया परजीवियों का क्रोमेटिन गहरा लाल और कोशिका द्रव्य नीला या हल्का बैंगनी-नीला होना चाहिए। गीम्सा अभिरंजक से अभिरंजित मोटी फिल्म में ल्यूकोसाइट्स के केंद्रक गहरे बैंगनी दिखने चाहिए। मलेरिया परजीवियों के आसपास शुफनर बिन्दु देखे जा सकते हैं।

मोटी रक्त फिल्म का उपयोग, आगे बताए अनुसार, परजीवी घनत्व पता करने हेतु किया जाता है।

तालिका 8.4 रक्त फिल्म में प्लाज़्मोडियम प्रजातियों की पहचान

	पी. फाल्सिपेरम		*पी.मलेरिए*	
अपरिपक्व ट्रोफोज़ाइट	(यह अवस्था अक्सर पाई जाती है) कोशिका द्रव्यः छोटा, महीन, हल्की नीली रिंग क्रोमेटिनः एक या दो छोटे गोल बिन्दु		(यह अवस्था अक्सर पाई जाती है) कोशिका द्रव्यः गाढ़ा, घना, नीली रिंग, इसमें काले वर्णक के कुछ कण होते हैं। क्रोमेटिनः एक बड़ा लाल बिन्दु	
परिपक्व ट्रोफोज़ाइट	(यह अवस्था अक्सर पाई जाती है) कोशिका द्रव्यः अपेक्षाकृत पतला, नीली रिंग या एक विराम चिन्ह (,) अथवा विस्मय बोधक (!) चिन्ह जैसा क्रोमेटिनः एक-दो मध्यम साइज़ के लाल बिन्दु		(यह अवस्था अक्सर पाई जाती है) कोशिका द्रव्यः या तो (क) गोल, घना, गहरा नीला, वर्णक के कई बिन्दु सहित, या (ख) पट्टी के रूप में (सिर्फ पतली फिल्म में) क्रोमेटिनः एक गोल बिन्दु या लाल पट्टी	
शाइज़ॉन्ट	(दुर्लभ) रक्त फिल्मों में कभी-कभार ही नज़र आती है (सिवाय गंभीर मामलों के) मिरोज़ॉइट्सः 18-32 वर्णकः गहरे कत्थई-काले		(काफी बार देखी जाती है) मिरोज़ाइट्सः 8-10 बड़े लाल कण, हल्के रंग के कोशिका द्रव्य से घिरे हुए और अनियमित (अपरिपक्व अवस्था में) या गोलाई में जमे हुए। वर्णकः सदैव दिखते हैं।	
गेमेटोसाइट्स	(काफी बार दिखती है) आकृतिः केले या हंसिए जैसी रंगः हल्का नीला (नर) या गहरा नीला (मादा) केंद्रकः लाल-गुलाबी वर्णकः कोशिका द्रव्य के मध्य में या बिखरे हुए कुछ नीले-काले कण		(काफी बार दिखती है) आकृतिः बड़ी, अण्डाकार या गोल रंगः हल्का नीला (नर) या गहरा नीला (मादा) केंद्रकः एक किनारे से सटा हुआ लाल क्रोमेटिन का एक गोल धब्बा वर्णकः कोशिका द्रव्य में बड़े काले कण	
एरिथ्रोसाइट्स	साइज़ सामान्य इनमें क्रिनेशन कोशिकाएं दिखती हैं जिनमें ट्रोफोज़ाइट होते हैं और अक्सर चंद लाल बिन्दु होते हैं जो साइज़ व आकृति में अनियमित होते हैं।		साइज़ व आकृति सामान्य आम तौर पर लाल बिन्दु नहीं होते।	
परजीवी घनत्व	प्रायः बहुत अधिक घनत्व		कम घनत्व	





तालिका 8.4 (जारी)

	पी. वाइवैक्स		*पी. ओवेल*	
अपरिपक्व ट्रोफोज़ाइट	(अक्सर देखी जाने वाली अवस्था) कोशिका द्रव्यः नीला, अनियमित, काफी मोटा छल्ला। क्रोमेटिनः एक बड़ा लाल बिन्दु		कोशिका द्रव्यः नियमित, घना, नीला छल्ला क्रोमेटिनः एक मध्यम आकार का लाल बिन्दु	
परिपक्व ट्रोफोज़ाइट	(बहुत ज्यादा नहीं दिखते) कोशिका द्रव्यः बड़ा, नीला, अनियमित (कभी-कभी 2-4 में बंटा हुआ), कत्थई- नारंगी वर्णक के कण क्रोमेटिनः एक लाल धब्बा		कोशिका द्रव्यः लाल, घना बहुत नीला, कत्थई वर्णक के कण होते हैं। क्रोमेटिनः एक बड़ा लाल बिन्दु	
शाइज़ॉन्ट	(कई बार पाए जाते हैं) मीरोज़ॉइट्सः 12-18 बड़े, घने लाल कण हल्के नीले कोशिका द्रव्य से घिरे हुए।		मीरोज़ॉइट्सः 8-14 बड़े, लाल कण, कत्थई वर्णक के पिण्ड के आसपास गोलाई में जमे हुए। आकृतिः बड़ी, अण्डाकार या गोल, घने, नीले	
गेमेटोसाइट्स	(अक्सर पाए जाते हैं) मादाः अण्डाकार या गोल, घने, नीले, एक घना लाल तिकोना केंद्रक प्रायः एक सिरे पर पाया जाता है, कोशिका द्रव्य में नारंगी वर्णक के कई कण पाए जाते हैं। नरः गोलाकार, हल्के नीले, एक मध्यवर्ती गोल, हल्का लाल केंद्रक, कोशिका द्रव्य में कुछ नारंगी वर्णक के कण		केंद्रकः एक गोल लाल धब्बा वर्णकः कोशिका द्रव्य में कुछ कत्थई कण - कत्थई वर्णक के कारण यह *पी.वाइवैक्स* से अलग पहचाना जा सकता है - शुफनर बिन्दुओं के कारण *पी.मलेरिए* से अलग पहचाना जा सकता है अण्डाकार, कटे-फटे किनारे वाले दिखते हैं।	
एरिथ्रोसाइट्स	बड़े, प्रायः हल्के अभिरंजित होने वाले शुफनर बिन्दु होते हैं, खासकर परिपक्व ट्रोफोज़ाइट के आसपास	तालिका 4.11 देखिये	लाल जेम्स बिन्दु आसानी से दिखते हैं	
परजीवी घनत्व[1]	मध्यम घनत्व		मध्यम घनत्व	

1 पी. वाइवैक्स की पहचान को पतली फिल्म देखकर पुष्ट करना चाहिए।

2 किसी भी क्षेत्र में परजीवी घनत्व इस बात पर निर्भर होता है कि मलेरिया मौसमी है या स्थानिक (एन्डेमिक)। एन्डेमिक इलाकों में रहने वाले वयस्क अक्सर रोग प्रतिरोधी हो जाते हैं और उनमें परजीवी घनत्व कम होता है।

- ❖ मरीज में बहुत कमजोरी आ जाती है
- ❖ मरीज को बुखार के साथ–साथ उल्टियां भी हो सकती है
- ❖ मलेरिया के मौसम (जुलाई से दिसम्बर माह) में दस्त एवं पीलिया के सभी मरीजों की भी मलेरिया का पता लगाने के लिए आर.डी. टेस्ट से जांच करनी चाहिए

आर.डी. टेस्ट से मलेरिया की जांच :-

- ❖ आर.डी. टेस्ट से हर बुखार के मरीज की जाँच की जानी है। इससे मितानिन वहीं पर जाँच करके मलेरिया का पता लगा सकती है।
- ❖ मितानिन को आर.डी. टेस्ट के साथ–साथ स्लाइड भी बनाना है। यदि आर.डी. टेस्ट से जांच करने पर निगेटिव है, तो स्लाइड को पास के प्राथमिक स्वास्थ्य केन्द्र में जांच के लिए अवश्य भेजना चाहिए।
- ❖ आर.डी. टेस्ट को ज्यादा गर्मी से बचाएं। इसे 40° सेंटीग्रेड से कम तापमान में रखें।

बाइवेलेंट आर.डी. (RD) टेस्ट में यह सामान होता है

1. टेस्ट किट

2. सुई (लेंसेट)

3. स्प्रिट स्वाब (रूई का टुकड़ा)

4. प्लास्टिक की पतली पाइप

5. बफर घोल

जांच का तरीका

❖ सभी सामान को एक जगह पर रख लें

❖ स्प्रिट स्वाब (रूई का टुकड़ा) की सहायता से बाएं हाथ की छोटी उंगली की पहले वाली उंगली को साफ करें

❖ सुई (लेंसेट) को उंगली पर चुभाएं

❖ उंगली से एक बूंद खून बह जाने दें

- फिर उंगली में जो खून बह रहा हो उसमें प्लास्टिक की पतली पाइप को तिरछा करके लगायें जिससे खून पाईप के अंदर आ जायेगा

- पतली पाईप की सहायता से जांच पट्टी पर खून को तीर वाले निशान की ओर डालें

- टेस्ट किट में बने खण्ड में दो बूंद बफर घोल को डालें

❖ 15 से 20 मिनट के बीच में देखें। 30 मिनट के बाद उसे ना देखें, इसके बाद हो सकता है गलत परिणाम दिखे। इसलिए महत्वपूर्ण है कि बफर डालने के 15 से 20 मिनट के बीच में ही इसे देखना है

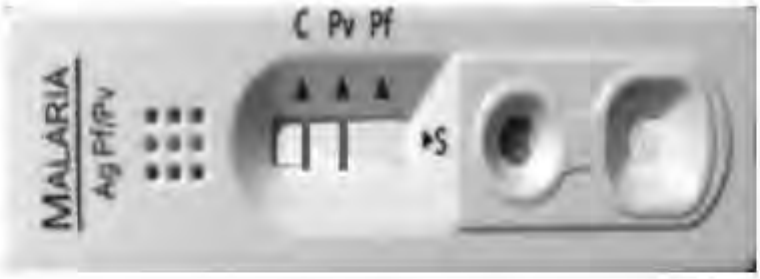
जांच का परिणाम देखना

1. **जांच पट्टी पर कोई लाल लकीर का ना होना** :– मतलब जांच पट्टी ठीक से काम नहीं कर रही है। ऐसी जांच पट्टी को फेंक देवें तथा दूसरी जांच पट्टी का उपयोग करें

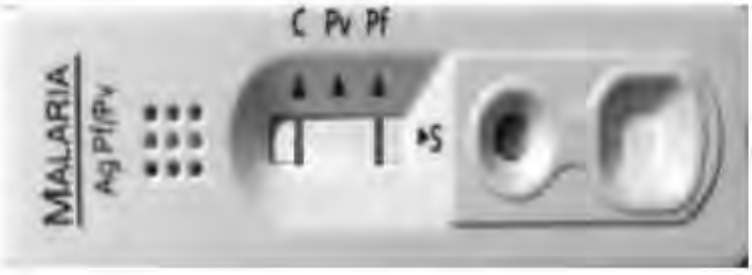
2. **C निशान में लकीर ना होना** :– यदि C में लकीर नहीं आती है और अन्य जगह पर आती है, तब भी आर.डी. टेस्ट दोबारा करना है

3. **सिर्फ एक लाल लकीर का होना :–** यदि एक लाल लकीर (C निशान में) दिखाई देती है, इसका मतलब रोगी को किसी भी प्रकार का मलेरिया नहीं है

4. यदि लाल लकीर C निशान और पी.वी. पर दिखाई देती है तो उसे पी.वी. मलेरिया है



5. यदि लाल लकीर C निशान और पी.एफ. पर दिखाई देती है तो उसे पी.एफ. मलेरिया है



6. यदि लाल लकीर C निशान, पी.वी. और पी.एफ. तीनों पर दिखाई देती है तो उसे पी.एफ. मलेरिया मानना है

इस्तेमाल किये जा चुके आर.डी. टेस्ट का निपटारा :-

परिणाम नोट करने के बाद आर.डी. टेस्ट को गड्ढे में डालकर पाट दें।

परजीवी घनत्व

प्रत्येक सूक्ष्मदर्शी क्षेत्र (माइक्रोस्कोप फील्ड) में परजीवियों की संख्या को परजीवी घनत्व कहते हैं। यह परजीवी की प्रजाति के अनुसार अलग-अलग होता है।

मोटी रक्त फिल्म में मलेरिया परजीवियों की गिनती के लिए दो विधियों का इस्तेमाल किया जा सकता है: प्रति माइक्रोलीटर रक्त में परजीवियों की संख्या पता करना और धन विधि (प्लस सिस्टम)।

1. प्रति माइक्रोलीटर रक्त में परजीवियों की संख्या ज्ञात करने के लिए ल्यूकोसाइट्स/माइक्रोलीटर की एक मानक संख्या (8000) के सापेक्ष परजीवियों की संख्या गिन ली जाती है। सबसे पहले परजीवी की प्रजाति और उनके विकास की अवस्था पता करने के लिए स्लाइड को देखा जाता है। दो हैण्ड टैली काउन्टर्स (एक ल्यूकोसाइट्स के लिए और दूसरा परजीवियों के लिए) का उपयोग करते हुए निम्नलिखित में से किसी एक विधि का उपयोग करें:

   (i) यदि 200 ल्यूकोसाइट्स गिनते हुए 10 या उससे अधिक परजीवी दिखें तो इस परिणाम को रिकॉर्ड प्रपत्र में 'परजीवी की संख्या प्रति 200 ल्यूकोसाइट्स' के रूप में लिखें।

   (ii) यदि 200 ल्यूकोसाइट्स गिनने तक 9 या उससे कम परजीवी गिने जाएं, तो 500 ल्यूकोसाइट्स तक गिनना जारी रखें और फिर परिणाम को 'परजीवी संख्या प्रति 500 ल्यूकोसाइट' के रूप में लिखें।

   प्रक्रिया (i) या (ii) के बाद एक आसान गणितीय सूत्र का उपयोग करें। परजीवियों की संख्या में 8000 का गुणा करके गुणनफल में ल्यूकोसाइट्स की संख्या (200 या 500) से भाग दे दीजिए। परिणाम प्रति माइक्रो लीटर रक्त में परजीवियो की संख्या दर्शाता है। यह एक आम परिपाटी है कि समस्त उपस्थित प्रजातियों की गिनती की जाती है और *पी. फाल्सिपेरम* के गेमेटोसाइटस तथा अन्य अलैंगिक परजीवियों की संख्या अलग-अलग रिपोर्ट की जाती है। यह तब खास तौर से महत्वपूर्ण होता है जब किसी ऐसी मलेरिया-रोधी दवा के प्रभाव को देखा जा रहा हो जो शाईज़ॉन्ट अवस्था के विरुद्ध कारगर है और गेमेटोसाइटस पर असर की अपेक्षा नहीं की जाती।

$$\frac{\text{परजीवियों की संख्या}}{\text{गिने गये ल्यूकोसाइटस की संख्या}} = \frac{\text{परजीवियों की संख्या}}{\text{1 माइक्रोलीटर रक्त}}$$

उदाहरण-

यदि 200 ल्यूकोसाइट्स गिने गए:

50 परजीवी x 8000/ 200 ल्यूकोसाइट्स =2000 परजीवी/माइक्रोलीटर रक्त

यदि 500 ल्यूकोसाइट्स गिने गए:

5 परजीवी x 8000/500 ल्यूकोसाइटस = 80 परजीवी/माइक्रोलीटर रक्त

2. मोटी रक्त फिल्म में परजीवियों को गिनने का एक आसान तरीका धन विधि (प्लस सिस्टम) है। मगर यह तरीका संतोषजनक नहीं है। इसका उपयोग तभी किया जाना चाहिए जब प्रति माइक्रोलीटर रक्त में परजीवी गिनना संभव न हो।

   इस विधि में 1 से 4 धन चिन्हों का एक कोड इस्तेमाल किया जाता है:

   + = 1-10 परजीवी प्रति 100 फील्ड

   ++ = 11-100 परजीवी प्रति 100 फील्ड

   +++ = 1-10 परजीवी प्रति फील्ड

   ++++ = 10 से ज़्यादा परजीवी प्रति फील्ड

याद रखें: परजीवियों की सही पहचान और भरोसेमंद गिनती के लिए साफ स्लाइडस का उपयोग करें और

अच्छे से बनी हुई व अभिरंजित मोटी फिल्म का उपयोग करें।

टीप: बहुत अधिक परजीवी घनत्व (मोटी फिल्म के प्रति फील्ड में 10 से अधिक परजीवी) वाले मरीजों को फौरन उपचार की जरूरत होती है। इसलिए यदि अत्यंत अधिक परजीवी घनत्व का पता चले तो इस बात को अपनी रिपोर्ट में स्पष्ट तौर पर लिखें और इसे तुरंत मरीज़ के चिकित्सक तक पहुंचाएं।

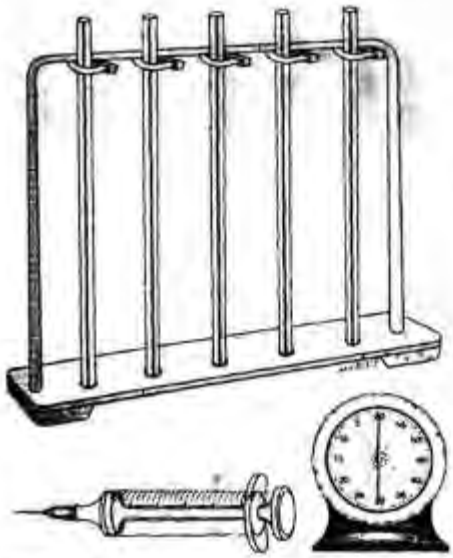
परिणामों की रिर्पोटिंग

यदि अभिरंजित रक्त फिल्म की जांच के परिणाम सकारात्मक हों, तो निम्नलिखित बातें स्पष्ट लिखें

- देखी गई परजीवी प्रजाति
- परजीवी के विकास की अवस्था
- परजीवी घनत्व

पी.ओवेल और *पी.वाइवैक्स* वाली रक्त फिल्मों में परजीवियों की संख्या कम होती है। इसलिए सूक्ष्मदर्शी से इनकी जांच थोड़ा अधिक समय लगाकर कीजिए। इन दो प्रजातियों की पहचान करना ज़रूरी है क्योंकि इनके मामले में फिर से बाहर से संक्रमण के बगैर भी परजीवी पुनः रक्त में नज़र आ सकते हैं। *पी.ओवेल* और *पी.वाइवैक्स* संक्रमित मरीज़ों का अतिरिक्त इलाज करना पड़ता है ताकि परजीवी की यकृत (लीवर) अवस्था को नष्ट किया जा सके।

एक ही मरीज़ में एक समय में मलेरिया परजीवी की एक से अधिक प्रजातियां पाई जा सकती हैं (जैसे *पी.फाल्सिपेरम* और *पी.मलेरिए* या *पी.फाल्सिपेरम* और *पी.वाइवैक्स*)। यदि परिणाम नकारात्मक हो तो लिखिए 'कोई परजीवी नही देखा गया'।



चित्र 8.111 एरिथ्रोसाइट तलछटीकरण दर मापन सामग्री

6. एरिथ्रोसाइट तलछटीकरण दर का मापन

(एरिथ्रोसाइट सेडिमेंटेशन रेट, ESR)

सिद्धांत

संग्रहित रक्त को एक लम्बी माप-अंकित परखनली में थक्कारोधी (Anticouglant) के साथ मिलाकर रखा जाता है। परखनली को सीधा खड़ा करके रखना चाहिए। एरिथ्रोसाइट परखनली के पेंदे में बैठ जाते हैं और ऊपर प्लाज़्मा रह जाता है।

1 घंटे बाद परखनली में प्लाज़्मा की ऊंचाई एरिथ्रोसाइट तलछटीकरण दर (ESR) दर्शाती है।

चित्र 8.112 ट्राईसोडियम साइट्रेट वाली नली में खून का नमूना डालें

सामग्री व अभिकारक (चित्र 8.111)

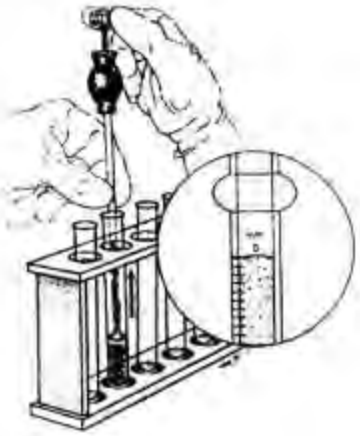
- वेस्टरग्रेन ई.एस.आर. नली, अंदरूनी व्यास 2.5 मि.मी., 0-200 मि.मी. के चिन्ह समेत (अक्सर 1 से 20 के चिन्ह होते हैं, 1 का मतलब 10 मि.मी., 2 का मतलब 20 मि.मी. वगैरह)।
- वेस्टरग्रेन स्टैण्ड
- परखनलिया
- माप अंकित सिरिंज, 5 मि.ली.
- माप अंकित पिपेट, 5 मि.ली.
- टाइमर (समय सूचक)
- थक्कारोधी: ट्राईसोडियम साइट्रेट, 3.2 प्रतिशत घोल (रेफ्रिजरेटर में रखें) या ई.डी.टी.ए. डाईपोटेशियम लवण, 10 प्रतिशत घोल

विधि

1. एक परखनली या बोतल में पिपेट से 0.4 मि.ली. ट्राईसोडियम साइट्रेट डालें।
2. शिरा से रक्त का नमूना लें । टर्नीकेट ढीला बांधिए। शिरा को एक झटके से छेदकर टर्नीकेट हटा दीजिए। एक सिरिंज में 2 मि.ली. रक्त इकट्ठा कर लीजिए।
3. सिरिंज से सुई को अलग करके थक्कारोधी रखी नली में 1.6 मि.ली. रक्त डालिए (नली पर 2.0 मि.ली. का निशान होना चाहिए, चित्र 8.112)। हल्के से हिलाइए। ई.एस.आर. का मापन रक्त लेने के 2 घंटे के अंदर शुरू कर देना चाहिए।
4. एक रबर सेफ्टी बल्ब की मदद से वेस्टरग्रेन नली में 0 मि.मी. के निशान तक साइट्रेट युक्त रक्त खींचिए (चित्र 8.113)।
5. नली को वेस्टरग्रेन स्टैण्ड में रख दें। सावधानी रखें कि नली एकदम सीधी खड़ी हो (चित्र 8.114)।

   यह देख लें कि नली में हवा का बुलबुला तो नहीं है।

   यह भी देख लें कि स्टैण्ड समतल हो।
6. इसे हलचल व कम्पन से दूर किसी बेंच पर रख दें (सेंट्रीफयूज वाली बेंच पर कभी न रखें)। इसे ऐसी जगह न रखें जहां हवा के झोंकें आते हों, रेडिएटर की गर्मी पड़ती हो या सीधी धूप पड़ती हो।
7. एक घंटे इन्तज़ार कीजिए (टाइमर को सेट कर दीजिए)। इसके बाद नली के ऊपरी सिरे पर लगे 0 मि.मी.के निशान से प्लाज़्मा के स्तंभ की ऊंचाई नोट करें (चित्र 8.115)।



चित्र 8.113 वेस्टरग्रेन नली में साइट्रेट युक्त खून को 0 मि.मी. के निशान तक खींचे

चित्र 8.114 वेस्टरग्रेन नली को स्टैण्ड में रखें

परिणाम

परिणाम मि.मी./घंटे के रूप में लिखें।

सामान्य परास (रेंज)

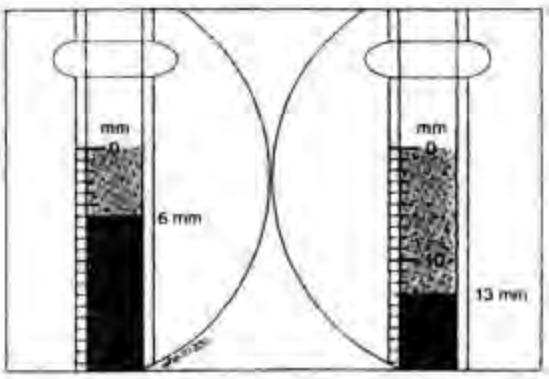
तालिका 1.1 में व्यस्कों के लिए सामान्य रेंज बतायी गयी है।

टीप: यदि व्यक्ति निर्जलीकरण से पीड़ित (डीहायड्रेटेड) है, तो ई.एस.आर. मापन का कोई मतलब नही होता।

तालिका: उम्र के अनुसार एरिथ्रोसाइट तलछटीकरण दर (ई.एस.आर.)*

उम्र समूह	ई.एस.आर.(मि.मी./घंटा)
वयस्क (<50 वर्ष)	
पुरुष	15
स्त्री	20
वयस्क (>50)	
पुरुष	20
स्त्री	30

*25° सेल्सियस तापमान पर



चित्र 8.115 प्लाज़्मा स्तंभ की ऊंचाई नापना

उच्च मान

प्लाज़्मा प्रोटीन में परिवर्तन करने वाला कोई भी रोग ई.एस.आर.में वृद्धि करता है। इनमें तात्कालिक व जीर्ण (एक्यूट व क्रॉनिक) संक्रमण, मायोकार्डियल इन्फार्क्शन और गठिया (रूमेटॉइड आर्थ्राइटिस) शामिल हैं। एनीमिया से ग्रस्त मरीजों का ई.एस.आर. भी बढ़ जाता है ।

7. रक्तस्राव अवधि का मापन : ड्यूक विधि

सिद्धांत

कान के लोब या उंगली के सिरे पर छुरी (लैन्सेट) से एक छोटा चीरा लगाया जाता है। इस चीरे में से रक्त बहने लगता है और इसे रुकने में लगा समय नाप लिया जाता है।

यह जांच निम्नलिखित परिस्थितियों में की जाती है:

- रक्तस्राव सम्बंधी कुछ गड़बड़ियों के निदान हेतु
- शल्य क्रिया से पहले
- लीवर या पित्ती में चीरा लगाने से पहले।

सामग्री और अभिकारक

- निर्जीवीकृत रक्त लैन्सेट (छुरी)
- सूक्ष्मदर्शी स्लाइड
- कागज़ (या सोख्ता कागज़)
- स्टॉप वॉच, उपलब्ध न हो तो सेकण्ड के कांटे वाली घड़ी
- ईथर

चित्र 8.116 ईथर से कान के लोब की सफाई

चित्र 8.117 कान के लोब में छेद करना

विधि

1. कान के लोब को रूई व ईथर से हल्के-हल्के साफ करें (चित्र 8.116)। पोंछिए मत, वैसे ही सूखने दीजिए।
2. कान के लोब को छेदिए (चित्र 8.117)। रक्त मुक्त रूप से बहना चाहिए, कान को दबाने की ज़रूरत नही होनी चाहिए। स्टॉप वॉच चालू कर दीजिए।
3. 30 सेकण्ड बाद एक छन्ना कागज़ (या सोख्ता कागज़) पर रक्त की पहली बूंद लें (चित्र 8.118)। कागज़ चमड़ी को न छुए।
4. 30 सेकण्ड और इंतज़ार कीजिए। रक्त की दूसरी बूंद उसी प्रकार से लीजिए। दूसरी बूंद उसी कागज़ पर थोड़ी दूरी पर लें (चित्र 8.119)।
5. प्रत्येक 30 सेकंड में रक्त की टपकती हुई बूंदों को जमा करते रहिये । बूंदें धीरे-धीरे छोटी होती जायेंगी । (चित्र 8.120)
6. जब रक्त आना बंद हो जाये तब स्टॉप वॉच बंद करिये । (या स्टॉप वॉच का समय नोट करिये । (चित्र 8.121)

   एक और तरीका है कि रक्त की बूंदें कागज पर जमा करिये एवं बूंदों की संख्या को 30 से गुणा कर दीजिये।

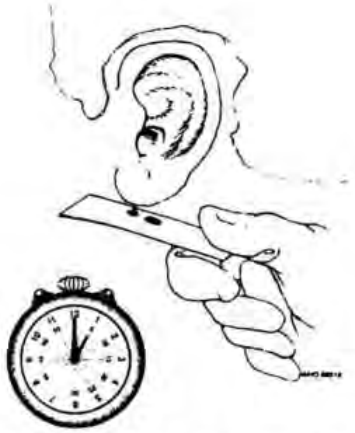
   उदाहरण के लिये - 7 बूंदें

   इस तरह

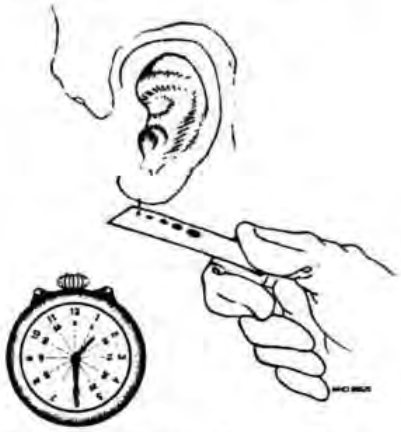
   रक्त स्राव की अवधि = 7 X 30 सेकंड

   = 3.5 मिनट

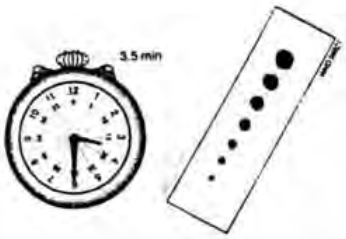
चित्र 8.118 - 30 सेकंड के बाद रक्त की पहली बूंद को स्लाईड या सोख्ता कागज पर लें।



चित्र 8.119 - 1 मिनट के बाद दूसरी बूंद लें।



चित्र 8.120 प्रति 30 सेकंड में रक्त की बूंद जमा करते रहें।



चित्र 8.121 - रक्त स्राव के अवधि की गणना करें।

8. रक्त के ए, बी, ओ समूह व आरएच

स्लाइड पर एबीओ समूह परीक्षण

1. जिन लाल रक्त कोशिकाओं की जांच करनी है, उनका 10 प्रतिशत सैलाइन सस्पेंशन बनाइए।
2. एक स्लाइड के बाएं भाग पर 'एंटी-ए' और दाएं हिस्से में 'एंटी-बी' लिख दें।
3. बाएं भाग में एक बूंद एंटी-ए समूहीकरण सीरम और दाएं भाग में एक बूंद एंटी-बी समूहीकरण सीरम डालिए।
4. एंटीसीरम बूंदों के पास अज्ञात रक्त कोशिकाओं का 10 प्रतिशत सैलाइन सस्पेंशन एक-एक बूंद डालिए। दाएं व बाएं भाग के पदार्थ आपस में मिलना नहीं चाहिए।
5. एप्लीकेटर स्टिक के आधे भाग से लाल रक्त कोशिका सस्पेंशन को एंटी-ए सीरम में मिला दें और एप्लीकेटर के दूसरे हिस्से से लाल रक्त कोशिका सस्पेंशन को एंटी-बी सीरम में मिलाएं।
6. स्लाइड को हल्के-हल्के हिलाइए और 1 मिनट तक अवलोकन कीजिए। देखिए कि समूहन (एग्लूटिनेशन) होता है क्या।
7. यह ज़रूरी होता है कि उक्त समूहीकरण की पुष्टि के लिए अज्ञात सीरम की जांच ए, बी और ओ समूह की ज्ञात लाल रक्त कोशिकाओं के साथ की जाए, जैसा कि 6-नली विधि में बताया गया है। (लाल रक्त कोशिकाओं के 10 प्रतिशत सैलाइन सस्पेंशन की जगह साइट्रेटेड या ऑक्ज़लेटेड रक्त लिया जा सकता है या सीधे त्वचा-छेदन से प्राप्त रक्त ले सकते हैं। हो सकता है कि ए उपसमूह में समूहन धीमा व दुर्बल हो।)

Rh समूहीकरण

IgG Rh एंटीबॉडीऐज़ युक्त एंटीसीरम की मदद से Rh फैक्टर (D) पता कर सकते हैं। आजकल मोनोक्लोनल एंटीसीरम उपलब्ध हैं और ये कहीं बेहतर होते हैं।

स्लाइड परीक्षण

1. एक निशान लगी स्लाइड पर एक बूंद एंटी Rh सीरम (IgG) डालें।
2. एंटीसीरम की बूंद पर 2 बूंद पूर्ण रक्त (साइट्रेटेड/ऑक्ज़लेटेड/ताज़ा) या थक्का बने रक्त की लाल रक्त कोशिकाओं का 50 प्रतिशत सस्पेंशन (उसी के सीरम में बना हुआ) डालिए।
3. रक्त और सीरम को मिलाकर स्लाइड के एक बड़े हिस्से पर फैला दीजिए।
4. स्लाइड को एक गर्म व्यूइंग बॉक्स पर रखिए। मिश्रण का तापमान 40-45^0 सेल्सियस कर दीजिए।
5. स्लाइड को हल्के-हल्के हिलाइए और देखिए कि समूहन होता है क्या।
6. 2 मिनट तक अवलोकन कीजिए।

सावधानियां और त्रुटियां

1. आम तौर पर गलत नकारात्मक परिणाम का कारण यह होता है कि लाल रक्त कोशिकाओं के बहुत तनु सस्पेंशन का उपयोग किया गया या एंटीसीरम गोल में बहुत कम मात्रा में सस्पेंशन डाला गया।
2. मिश्रण को पर्याप्त रूप से गर्म न करने से भी गलत नकारात्मक परिणाम आ सकते हैं।
3. स्व-समूहन (ऑटोग्लूटिनेशन) या रूलो निर्माण के कारण गलत सकारात्मक परिणाम आ सकते हैं।
4. मिश्रण के पूरी तरह या आंशिक रूप से सूखने से बचाएं।

(दुर्बल Rh किस्म की जांच करते हुए लाल रक्त कोशिकाओं का 2 प्रतिशत सस्पेंशन और Rh एंटीसीरम का उपयोग करें। मिश्रण को वॉटर बाथ में 37^0 सेल्सियस पर 30 मिनट तक रखें। परख नली को नॉर्मल सैलाइन से भर दीजिए और कोशिका सीरम को मिश्रण को इसमें फिर से निलंबित कर लें। इसे 30-60 सेकंड तक सेंट्रीफ्यूज करें और ऊपर के द्रव को अच्छी तरह निथार लें। कोशिकाओं को धोने की यह क्रिया कम से कम 3 बार दोहराइए। आखरी धुलाई के बाद ऊपर के द्रव को पूरी तरह निथार दें और संघनित लाल रक्त कोशिकाओं को 2 बूंद नॉर्मल सैलाइन में निलंबित कर लीजिए। इसमें 1 बूंद एंटी-ह्यूमैन ग्लोबुलिन सीरम डालकर मिलाइए। 1 मिनट तक सेंट्रीफ्यूज करें। अब समूहन की जांच करें। इसके साथ ही कंट्रोल परीक्षण भी करें।)

9. सिकल (हंसियाकार) कोशिका एनीमिया की जांच

हिमोग्लोबीन S अनुवांशिक असामान्य हिमोग्लोबीन है। यदि यह माता-पिता दोनों से प्राप्त हो, तो सिकल कोशिका एनीमिया नामक गंभीर रोग पैदा करता है। यदि एक ही पालक से प्राप्त हो तो यह सिकल कोशिका लक्षण पैदा करता है, जिससे आम तौर पर बीमारी पैदा नही होती। हिमोग्लोबीन S मुख्यतः कटिबंधीय अफ्रीका में पाया जाता है मगर पूर्वी भूमध्यसागर क्षेत्र और अफ्रीकी मूल के अमरीकियों में भी मिलता है। सिकल कोशिका स्लाइड परीक्षण से सिकल कोशिका एनीमिया और सिकल कोशिका लक्षण के बीच अंतर नही किया जा सकता।

सिद्धांत

एक स्लाइड पर एक बूंद रक्त को एक बूंद सोडियम मेटाबाईसल्फाइट अभिकारक के साथ मिलाते हैं। यदि एरिथ्रोसाइट में हिमोग्लोबीन S हो, तो वे हंसिए या अर्द्ध गोलाकार हो जाते हैं (देखें चित्र 9.79)।

यह अभिकारक कोशिकाओं में से ऑक्सीजन को हटा देता है और हंसियाकरण (सिकलिंग) को संभव बना देता है।

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- सूक्ष्मदर्शी स्लाइड
- कवर स्लिप
- छन्ना कागज़
- पाश्चर पिपेट (या ड्रॉपिग पिपेट)
- दो छोटी लकड़ी की सींकें
- तैयार स्लाइड को सूखने से बचाने के लिए पात्र (जैसे पेट्री डिश)
- ताज़ा सोडियम मेटाबाईसल्फाइट घोल 2 प्रतिशत

विधि

1. केशिका रक्त की एक छोटी-सी बूंद (करीब 4 मि.मी.व्यास की) एक स्लाइड के बीचों बीच रखिए । (नॉर्मल सेलाइन में घुली हुई पूर्ण रक्त की एक बूंद से बेहतर नतीजें मिलेंगे)।
2. उतनी ही बडी बूंद सोडियम मेटाबाईसल्फाइट घोल की भी डालिए।
3. एक स्लाइड के कोने से सावधानी पूर्वक मिलाइए (चित्र 8.122)। कवर स्लिप से ढंक दीजिए। ध्यान रहे कि हवा का कोई बुलबुला न रहे।
4. एक पेट्री डिश में गीले छन्ना कागज़ बिछाकर स्लाइड को उसमें लकड़ी की सींको पर टिका दीजिए (चित्र 8.123)। 30 मिनट रुककर स्लाइड को देखिए।

टीप: मेटाबाईसल्फाइट जैसा अवकारक अभिकारक उपयोग करते समय स्लाइड को सीलबंद करना जरूरी नही होता।

सूक्ष्मदर्शी से जांच

स्लाइड को सूक्ष्मदर्शी में X40 ऑब्जेक्टिव की मदद से देखें।

नकारात्मक परिणाम

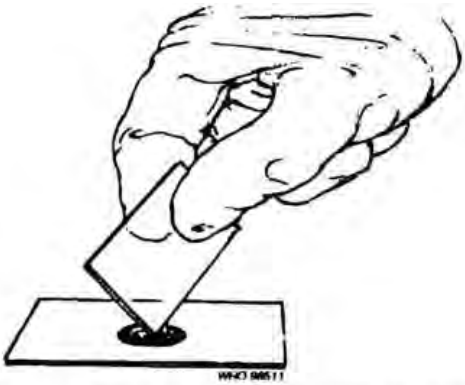
एरिथ्रोसाइट गोल बने रहते हैं (चित्र 8.124)।

यदि परिणाम नकारात्मक है, तो 30 मिनट बाद, 2 घंटे बाद और 24 घण्टे बाद स्लाइड का फिर अवलोकन करें।

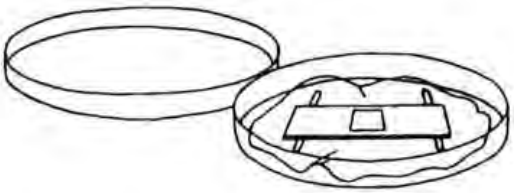
सकारात्मक परिणाम

एरिथ्रोसाइट हंसियाकार या केले के आकार के हो जाते हैं (चित्र 8.125 क)। कई बार इन पर कांटे भी दिखते हैं (8.125 ख)।

कई बार सामान्य एरिथ्रोसाइट बाजू से देखने पर सिकल कोशिका का भ्रम पैदा कर सकते हैं या किनेटेड कोशिकाएं भी ऐसा भ्रम पैदा करती हैं। इनसे भ्रमित न हो।



चित्र 8.122 खून और मेटाबाईसल्फाइट को मिलाना



चित्र 8.123 पेट्री डिश में स्लाइड का इन्क्यूबेशन

चित्र 8.124 सिकल कोशिका एनीमिया की जांच: नकारात्मक परिणाम

चित्र 8.125 सिकल कोशिका एनीमिया की जांच: सकारात्मक परिणाम
क. हंसियाकार एरिथ्रोसाइट
ख. कांटेदार हंसियाकार एरिथ्रोसाइट

टीप: निम्नलिखित कारणों से मिथ्या नकारात्मक परिणाम मिल सकते हैं:

- बासी अभिकारकों का उपयोग
- हिमोग्लोबीन S की सांद्रता कम न हो
- मरीज मध्यम या गंभीर एनीमिया से पीड़ित हो।

यदि परिणाम सकारात्मक है तो एक पतली रक्त फिल्म की जाच की जानी चाहिए। सिकल कोशिका एनीमिया के मरीज़ों में न्यूक्लिएटेड एरिथ्रोसाइट्स, टारगेट कोशिकाओं के अलावा उल्लेखनीय पाइकिलोसायटोसिस और प्रायः मेक्रोसायटोसिस भी पाए जाते हैं। सिकल कोशिका लक्षण के मरीज़ अक्सर एनीमिया पीड़ित नहीं होते और उनके सिकल कोशिका रोग की पुष्टि के लिए हिमोग्लोबीन का इलेक्ट्रोफोरेसिस किया जाना चाहिए। यक परीक्षण किसी स्रोत प्रयोगशाला में किया जा सकता है।

अन्य विधियां

यह जाच शिरा रक्त पर भी किया जा सकता हैं बशर्ते कि यह ताज़ा लिया गया हो (परीक्षण से 1-2 घण्टे पहले) या किसी थक्कारोधी (इ.डी.टी.ए.डाईपोटेशियम लवण 10 प्रतिशत घोल) में लिया गया हो।

जांच को पेट्री डिश की बजाय परखनली मे भी कर सकते हैं। इसके लिए अभिकारक व्यावसायिक तौर पर उपलब्ध हैं।

v/;k; & 9

i'kkc dh tkp

गुर्दे की गडबड़ी या मूत्र मार्ग संक्रमण की शंका वाले मरीज़ों के मामले में पेशाब की जांच एक बुनियादी जांच है। कई मरीज़ों में कोई शारीरिक लक्षण नही होते मगर उनमें पेशाब की जांच से पूर्व में अज्ञात मूत्र मार्ग संक्रमण पता चल सकता हैं।

1. पेशाब का नमूना लेना

पेशाब का नमूना लेने के लिए चौड़े मुंह वाले साफ व सूखे पात्र का उपयोग करना चाहिए। यदि पेशाब के नमूने को जांच के लिए कहीं दूर ले जाना हो, तो ज़रूरी होगा कि उसमें कोई उपयुक्त सरक्षक मिलाया जाए ताकि बैक्टीरिया की अतिवृद्धि और अण्डों में से जीव बनने की क्रिया को रोका जा सके।

पेशाब के नमूनो की किस्में

सुबह की पेशाब का नमूना

अल्सुबह की पेशाब सबसे सांद्र नमूना होती है।

पेशाब का बेतरतीब नमूना

पेशाब का बेतरतीब नमूना, जो दिन के किसी भी समय लिया जा सकता है, प्रयोगशाला में उन पदार्थो की जांच में सहायक होता है जो गुर्दा संक्रमण के सूचक हो सकते हैं।

24 घण्टे की पेशाब का नमूना

24 घण्टे की पेशाब का नमूना एक साफ 2 लीटर की ढक्कन वाली बोतल में एकत्रित किया जाता है। सुबह मरीज उठकर पेशाब करता है - इस पेशाब को एकत्रित नही किया जाता।शेष पूरे दिन और रात की पेशाब को बोतल में एकत्रित किया जाता है। अगले दिन सुबह मरीज उठकर पहली पेशाब इसी बोतल में एकत्रित कर देता है। इसके बाद बोतल को फौरन प्रयोगशाला पहुंचाना चाहिए।

इस पेशाब का आयतन नपनाघट से नापकर रिकॉर्ड कर लें ।

मध्य पेशाब का नमूना (मिडस्ट्रीम नमूना)

पेशाब करते समय मरीज पेशाब की धार के रास्ते में एक खुला बर्तन रखकर लगभग 20 मि.ली. पेशाब एकत्रित करे। इस बर्तन को फौरन ढक्कन से बंद कर देना चाहिए।

अंतिम पेशाब का नमूना

मरीज़ पेशाब का अंतिम हिस्सा एक बर्तन में भर दे।

केथेटर की मदद से पेशाब का नमूना

केथेटर लगाकर पेशाब का नमूना एकत्रित करने का काम किसी योग्य चिकित्सक या नर्स द्वारा किया जाना चाहिए। यह प्रकिया चंद बैक्टीरिया वैज्ञानिक जांच हेतु मुख्यतः महिलाओ में की जाती है। वैसे आम तौर पर इस उद्देश्य के लिए पूरी साफ-सफाई के साथ नमूना लेने की सामान्य प्रक्रिया भी स्वीकार्य होती है।

शिशुओं का पेशाब का नमूना

चिपकने वाले मुंह वाली प्लास्टिक की थैली को यौनांग के ऊपर बांधकर 1-3 घण्टे तक लगा रहने देते हैं। समय इस बात पर निर्भर हैकि कौन-सी जांच करना है। इसके लिए कोलोस्टोमी बैग का उपयोग किया जा सकता है।

2. पेशाब के नमूने का संरक्षण

- क्लिनिक में एकत्रित पेशाब जिसकी तत्काल जांच की जाए उसके लिए किसी प्रतिरक्षक की जरूरत नही है।

- यदि पेशाब का नमूना *शिस्टोसोमा हिमेटोबियम* के अण्डों की उपस्थिति देखने के लिए लिया गया हो और कई घण्टों तक उसकी जांच नहीं होने वाली है तो उसे 10 प्रतिशत एसिटिक अम्ल से अम्लीकृत कर देना चाहिए।

3 पेशाब के नमूनों की जांच

I. देखकर

- पेशाब आम तौर पर साफ हल्के पीले रंग की होती है। ज़्यादा गाढ़ी पेशाब गहरे पीले रंग की हो सकती है।
- रक्त कोशिकाओं या अत्यधिक लवणों की उपस्थिति से पेशाब थोड़ी धुंधली हो जाती है।
- पित्त पदार्थों के वर्णकों की वजह से पेशाब गहरे पीले या कत्थई रंग की हो सकती है।
- कभी-कभार पेशाब रंगहीन हो सकती है।

देखकर निम्नानुसार रिपोर्ट करें:

- साफ या धुंधली
- रंगहीन, हल्के पीले, गहरे पीले या कत्थई रंग की।

II. रक्त की उपस्थिति की जांच

पेशाब में निम्नलिखित स्थितियों मे एरिथ्रोसाइट की संख्या बढ़ सकती है या हिमोग्लोबीन का स्तर बढ़ सकता है:

- कठोर शारीरिक मेहनत के बाद
- योनि मार्ग संक्रमण के दौरान
- परजीवी संक्रमण के दौरान (जैसे शिस्टोसोमिएसिस)
- गंभीर ग्लोमेरूलोनेफ्राइटिस में
- गंभीर सिस्टाइटिस या युरेथ्राइटिस में
- कतिपय टयूमर्स से ग्रस्त मरीजों में

सेंट्रीफ्यूज करने के बाद सूक्ष्मदर्शी में देखने पर रक्त कोशिकाएं आसानी से देखी जा सकती हैं।

III. pH मापन

सामान्य ताज़ी पेशाब थोड़ी अम्लीय (pH लगभग 6.0) होती है। कुछ बीमारियों में पेशाब की pH घट या बढ़ सकती है।

सिद्धांत

- रंगीन सूचक कागज़ को पेशाब में डुबाया जाता है (या एक वॉच ग्लास में रखकर उस पर चंद बूंद पेशाब डाली जाती है)।
- सूचक कागज़ का रंग pH के अनुसार बदलता है।
- कागज़ की तुलना मानक तुलना चार्ट से करके pH पता लगाई जाती है।

सामग्री (चित्र 9.1)

- वॉच ग्लास
- ड्रापर
- चिमटी
- यूनिवर्सल सूचक कागज़ (pH 1 से 10 के लिए)
- सीमित परास का सूचक कागज़ (pH 5.0-7.0 और 6.0 से 8.0 परास के लिए)

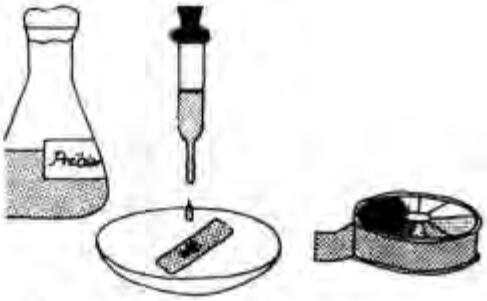
पेशाब का नमूना लेने के 1 घण्टे के अंदर जांच हो जानी चाहिए।

विधि

1. युनिवर्सल सूचक कागज़ की एक पट्टी वॉच ग्लास में रखें। कागज़ पर ताज़ा एकत्रित पेशाब की कुछ बूंदें टपकाइए (चित्र 9.2) अथवा बर्तन में रखी पेशाब में सूचक कागज़ की पट्टी को डुबाइए।
2. कागज़ की पट्टी को चिमटी से पकड़कर उठा लीजिए। कागज़ के रंग की तुलना मानक चार्ट से कीजिए (चित्र 9.3)। जो रंग मेल खाए उस पर लिखा pH मान पढ़ लीजिए।
3. उक्त परिणाम के आधार पर उसी मान का सीमित परास वाला सूचक कागज़ लीजिए। जैसे यदि pH 6 आए तो 5.0-7.0 pH परास वाला कागज़ लें। यदि pH 7.0 या अधिक आए तो 6.0-8.0 परास वाला सूचक कागज़ लें।
4. एक अलग वॉच ग्लास में सीमित परास वाले सूचक कागज़ से उपरोक्त परीक्षण दोहराइए। मानक चार्ट से मिलान करके पेशाब की pH पढ लीजिए (चित्र 9.4)। जैसे pH=6.2 या pH=7.5 वगैरह।

   पेशाब की pH आम तौर पर 6.0 (परास 5.0 -7.0) होती है। अम्लीय pH (4.5-5.5) मधुमेह की कुछ किस्मों, मांसपेशीय थकान और एसिडोसिस में दिखाई पडती है। क्षारीय pH (7.8-8.0) मूत्र मार्ग संक्रमण के मरीज़ों और शाकाहारी लोगों में पाई जाती है।

चित्र 9.1 पेशाब की pH नापने के लिए सामग्री



चित्र 9.2 सूचक कागज़ पर पेशाब डालना

pH और रवेदार निक्षेपण (क्रिस्टेलाइन डिपॉज़िट्स)

पेशाब की pH ज्ञात करना रवेदार निक्षेपण की पहचान में मददगार होता है।

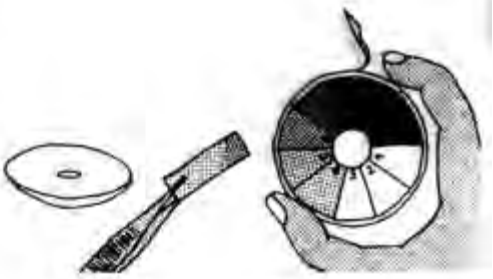
कुछ रवे सिर्फ अम्लीय पेशाब में जमा होते हैं जबकि कुछ रवे सिर्फ क्षारीय पेशाब में।

उदाहरण:

अम्लीय पेशाब: आक्ज़लेट्स, यूरिक एसिड

क्षारीय पेशाब: फास्फेट्स, कार्बोनेट्स, यूरेट्स

चंद अत्यंत बिरले मामलों के अलावा पेशाब में रवेदार निक्षेपों का कोई नैदानिक महत्व नहीं होता।



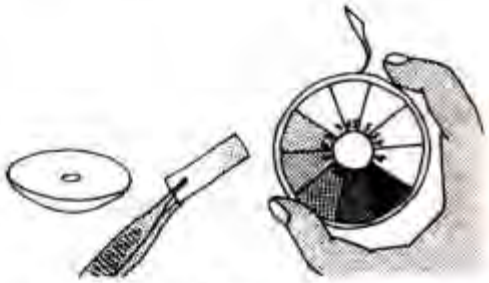
चित्र 9.3 मानक चार्ट से तुलना

IV. ग्लूकोज़ की जांच

सिद्धांत

ग्लूकोज़ पेशाब में पाया जाने वाला सबसे आम शर्करा पदार्थ है, खासकर मधुमेह के मरीज़ों और गुर्दों की जीर्ण नाकामी से ग्रस्त मरीज़ों में। ग्लूकोज़ एक अवकारक (रिड्यूसिंग) पदार्थ है। यह बेनेडिक्ट घोल में मौजूद नीले कॉपर सल्फेट को लाल कॉपर आक्साइड में अवकृत कर देता है जो अघुलनशील है।

लैक्टोज़ भी एक अवकारक शर्करा है जो कभी-कभार गर्भवती स्त्रियों



चित्र 9.4 सीमित परास वाले सूचक कागज़ से तुलना

के पेशाब में पाई जाती है।

सामग्री व अभिकारक

- परखनलियां
- लकड़ी की परखनली पकड़
- परखनली स्टैण्ड
- बीकर या डिब्बा
- बुसन बर्नर या स्पिरिट लैम्प
- ड्रॉपर पिपेट
- माप अंकित पिपेट, 5 मि.ली.
- बेनेडिक्ट घोल (अभिकारक क्र. 10)

चित्र 9.5 पेशाब में अवकारक पदार्थों का बेनेडिक्ट परीक्षण

विधि

1. पिपेट की मदद से एक परखनली में 5 मि.ली. बेनेडिक्ट घोल लीजिए।
2. आठ बूंद पेशाब डालकर अच्छी तरह मिलाइए।
3. बुसन बर्नर या स्पिरिट लैम्प पर 2 मिनट तक उबालिए (चित्र 9.5) या परखनली को उबलते पानी के बीकर में 5 मिनट तक रखिए।
4. परखनली को स्टैण्ड में रखकर कमरे के तापमान तक ठण्डा होने दीजिए।

यह देखिए कि क्या घोल के रंग में कोई परिवर्तन हुआ है अथवा कोई अवक्षेप बना है। परिणाम तालिका 9.1 में बताए अनुसार रिपोर्ट कीजिए।

पेशाब में ग्लूकोज़ की जांच एक पेशाब डिपस्टिक की मदद से भी की जा सकती है (देखें पृष्ठ 109)।

तालिका 9.1 बेनेडिक्ट परीक्षण के परिणाम

रंग	परिणाम (ग्लूकोज़ की उपस्थिति)
नीला	नकारात्मक
हरा	थोड़ी मात्रा
हरा + पीला अवक्षेप	+
पीला से गहरे हरे के बीच	+ +
कत्थई	+ + +
नारंगी से लाल	+ + + +

टीप: पेशाब में ग्लूकोज़ और एल्बुमिन की जांच के लिए अभिकारक पट्टी का उपयोग पृष्ठ 109 में देखें।

V. पेशाब में प्रोटीन की जांच

प्रोटीन युक्त पेशाब को उबालने पर एक धुंधली परत बन जाती है, जो एसिटिक अम्ल डालने पर गायब नहीं होती।

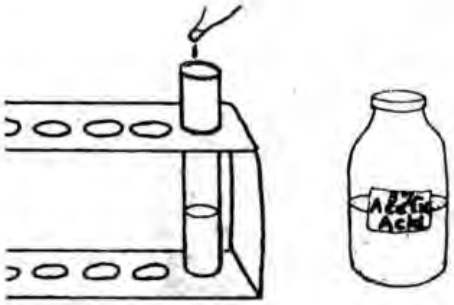
सामग्री

- पायरेक्स परख नलियां
- परख नली पकड
- पिपेट
- 5 प्रतिशत एसिटिक अम्ल (अभिकारक क्र. 1)

पेशाब पारदर्शी होना चाहिए। यदि यह धुंधली है, तो इसे छन्ना कागज़ से छान लें या सेंट्रीफ्यूज करने के बाद निथार लें।

विधि (चित्र 9.6)

1. परख नली में दो-तिहाई ऊंचाई तक पेशाब भरें।
2. परख नली को लौ के ऊपर एक कोण पर पकड़िए ताकि पेशाब की ऊपरी सतह उबलने लगे (चित्र)।
3. यदि पेशाब धुंधली हो जाए, तो उसमें एसिटिक अम्ल की कुछ बूंदें डालिए। आम तौर पर ऐसा करने पर धुंधलापन खत्म हो जाता है।
4. पेशाब को एक बार फिर उबालिए। यदि धुंधलापन बना रहता है, तो इससे पता चलता है कि उसमें प्रोटीन (एल्बुमिन) उपस्थित है।



चित्र - 9.6 पेशाब में प्रोटीन की जांच

परिणाम

धुंधलापन नहीं	नकारात्मक
हल्का धुंधलापन	थोड़ा-सा एल्बुमिन
भारी धुंधलापन	एल्बुमिन उपस्थित

टीप: पेशाब में प्रोटीन की जांच के लिए अभिकारक पट्टी का उपयोग भी किया जा सकता है। पृष्ठ 109 देखें।

पेशाब में ग्लूकोज़ और एल्बुमिन की जांच के लिए अभिकारक पट्टी

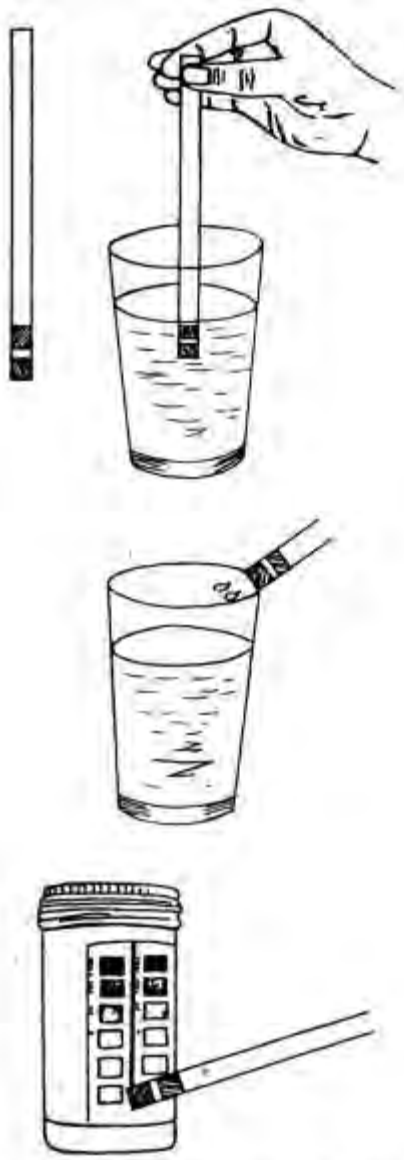
पेशाब में शर्करा व प्रोटीन की उपस्थिति की एक आसान जांच विशेष अभिकारक पट्टी (यूरिस्टिक्स) की मदद से की जा सकती है। ये प्लास्टिक की पट्टियां होती हैं जिन्हें एक शीशी में पैक करके रखा जाता है। प्रत्येक पट्टी के एक सिरे पर दो अलग-अलग परीक्षण क्षेत्र होते हैं - एक ग्लूकोज़ के लिए और दूसरा एल्बुमिन के लिए।

पट्टियों को बर्बाद होने से बचाने और गलत परिणामों से बचने के लिए कुछ सावधानियां बरतनी चाहिए:

1. शीशी का ढक्कन कसकर बंद कीजिए।
2. ठण्डी सूखी जगह पर रखिए। रेफ्रिजरेटर में न रखें।
3. गर्म भाप भरे माहौल में शीशी को न खोलें। पट्टियों को नमी सीधी धूप, गर्मी, धुएं या डिटर्जेन्ट के संपर्क में न आने दें।
4. एक बार में एक ही पट्टी निकालिए। पट्टी के परीक्षण क्षेत्र को न छुए। एक पट्टी निकालने के बाद शीशी का ढक्कन फौरन कसकर लगा दें।
5. जिस पट्टी का उपयोग न करें उसे वापिस उसी शीशी में डाल दें किसी अन्य शीशी में नहीं। उनकी मूल शीशी में शुष्कताकारी पदार्थ (डेसिकेन्ट) होता है।
6. एक पट्टी का उपयोग एक बार ही करें।
7. शीशी पर अंकित एक्सपाइरी तारीख के बाद उन पटिटयों का उपयोग न करें।

सामग्री

- अभिकारक पट्टी (यूरिस्टिक्स)
- पेशाब का ताज़ा नमूना



चित्र 9.7 पेशाब में ग्लूकोज़ और एल्बुमिन की जांच के लिए अभिकारक पट्टी

विधि (चित्र 9.7)

1. पेशाब को एक साफ पात्र में लीजिए और जितनी जल्दी हो सके जांच कीजिए।
2. जांच का काम अच्छी रोशनी में कीजिए।
3. परीक्षण क्षेत्र को पेशाब के नमूने में 1-2 सेकण्ड के लिए डुबाइए।
4. पट्टी को निकालकर उसे पात्र के किनारे पर हल्के से ठोंकिए ताकि अतिरिक्त पेशाब निकल जाए।
5. पेशाब में से पट्टी को निकालने के ठीक 30 सेकण्ड बाद उसके ग्लूकोज़ परीक्षण क्षेत्र को शीशी के लेबल पर बने ग्लूकोज़ रंग चार्ट के पास रखकर देखें। पट्टी के परीक्षण क्षेत्र का रंग चार्ट के जिस रंग से सबसे अधिक मिलता हो वह मान नोट कर लें।
6. एल्बुमिन परीक्षण क्षेत्र को शीशी के लेबल के प्रोटीन रंग चार्ट के पास रखिए। पट्टी के परीक्षण क्षेत्र का रंग चार्ट के जिस रंग से मिलता हो उसका मान लिख लें। एल्बुमिन परीक्षण क्षेत्र को पट्टी को पेशाब में डुबाने के 1 मिनट बाद तक कभी भी देखा जा सकता है।

परिणाम

ग्लूकोज: अनुपस्थित (नीला)
बहुत कम
+
+ +
+ + +
+ + + + (कत्थई)

एल्बुमिन: अनुपस्थित (पीला)
बहुत कम
+
+ +
+ + +
+ + + + (हरा-नीला)

VI. पेशाब में पित्त लवणों (बाइल साल्ट्स)की जांच

आम तौर पर पित्त लवण पेशाब में नही पाए जाते। हिपेटाइटिस जैसी कुछ स्थितियों में पित्त लवण रक्त प्रवाह में पहुंच जाते हैं और पेशाब में उत्सर्जित होते हैं।

हेज़ सल्फर पावडर परीक्षण

सिद्धांत

पित्त लवण की उपस्थिति में द्रव का पृष्ठ तनाव (सर्फेस टेंशन) कम हो जाता है।

गंधक का फूल (गंधक का एक रूप) पेशाब की सतह पर तैरता है। पित्त लवण की उपस्थिति में यह डूब जाएगा।

सामग्री

- परखनलियां और स्टैण्ड
- गंधक

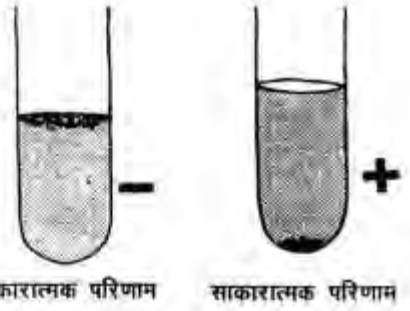
विधि (चित्र 9.8)

1. किसी ठण्डी जगह पर रखकर पेशाब को ठण्डा होने दें।
2. एक परखनली में थोड़ी पेशाब डालिए।
3. परखनली में रखी पेशाब पर गंधक का बारीक चूर्ण छिड़किए।

परिणाम

पित्त लवण अनुपस्थित (नकारात्मक परिणाम) : गंधक का चूरा सतह पर तैरता रहता है।

पित्त लवण उपस्थित (सकारात्मक परिणाम) : गंधक का चूरा डूबकर पैंदे में बैठ जाता है।



चित्र 9.8 पेशाब में पित्त लवणों (बाइल साल्ट्स)की जांच

VII. पेशाब में पित्त वर्णकों की जांच

जिगर (लीवर) द्वारा स्रावित पित्त में हरे-पीले रंग के पदार्थ - पित्त वर्णक - होते है। पीलिया जैसी कुछ बीमारियों, एनीमिया और संक्रमण की स्थिति में पित्त वर्णक रक्त प्रवाह में पहुंचकर पेशाब के साथ स्रावित हो सकते हैं।

क. ल्यूगॉल आयोडीन जांच

सिद्धांत

पित्त वर्णक युक्त पेशाब में आयोडीन डालने पर हरा रंग पैदा होता है।

सामग्री

- परखनलियां और स्टैण्ड
- नपनाघट (10मि.ली.)
- ल्यूगॉल आयोडीन (अभिकारक क्र.19)
- ड्रॉपिंग पिपेट

विधि (चित्र 9.9)

1. एक परखनली में 4 मि.ली. पेशाब डालिए।
2. उसमें 4 बूंद ल्यूगॉल आयोडीन घोल डालिए।
3. परखनली को हिलाइए।

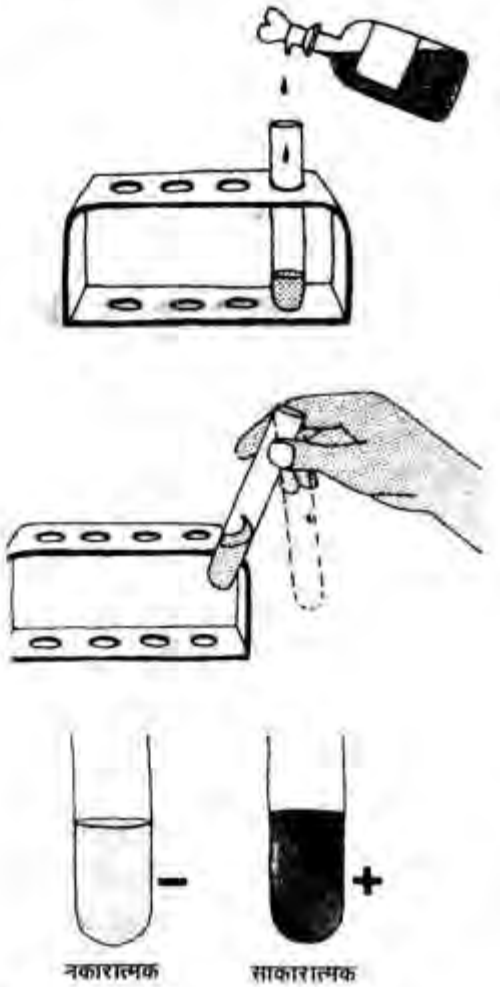
तुरन्त देखिए कि कैसा रंग बना है।

परिणाम

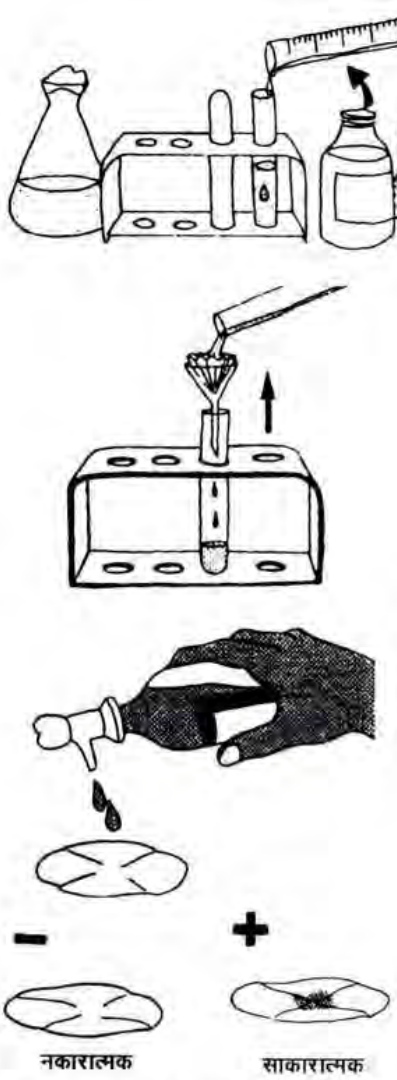
नकारात्मक परिणाम: हल्का पीला-कत्थई

सकारात्मक परिणाम: हरा रंग

- हल्का हरा +
- गहरा हरा + +



चित्र 9.9 पेशाब मे पित्त वर्णकों की जांच
क. ल्यूगॉल आयोडीन जांच



चित्र 9.10 पेशाब में पित्त वर्णकों की जांच
ख. फुशे अभिकारक परीक्षण

ख. फुशे अभिकारक परीक्षण

यह ज़्यादा संवेदनशील परीक्षण है और इसकी मदद से आयोडीन परीक्षण से प्राप्त परिणामों की पुष्टि होती है।

सामग्री

- परखनलियां
- कीप
- छन्ना कागज़
- ड्रॉपिंग पिपेट या ड्रॉप बोतल
- नपनाघट, 10 मि.ली.
- 100 ग्रा./ली. (10 प्रतिशत) बेरियम क्लोराइड जलीय घोल (अभिकारक क्र. 3)
- फुशे अभिकारक (अभिकारक क्र. 13)

विधि (चित्र 9.10)

1. एक परखनली में
   - 5 मि.ली. पेशाब और
   - 2.5 मि.ली. बेरियम क्लोराइड घोल मिलाएं।

   अवक्षेप बनेगा।
2. मिश्रण को छान लें।

   पित्त वर्णक युक्त अवक्षेप छन्ना कागज़ में रह जाएगा।
3. छन्ना कागज़ की तह खोलिए।

   छन्ना कागज़ पर रखे अवक्षेप पर 2 बूंद फुशे अभिकारक डालिए।

परिणाम

नकारात्मक परिणाम: कोई रंग परिवर्तन नहीं।

सकारात्मक परिणाम: अवक्षेप हरा हो जाता है।

3.8. सूक्ष्मदर्शी से पेशाब की जांच

असामान्य घटकों की जांच

सिद्धांत

पेशाब में कुछ कोशिकाएं और रवे (क्रिस्टल) निलंबित रूप में होते हैं। इन्हें सेंट्रीफ्यूज (अपकेंद्रण) की मदद से इकट्ठा किया जा सकता है या पेशाब को रखा रहने देने पर ये तलछट के रूप में पेंदे में जमा हो जाते हैं। इस तरह प्राप्त पदार्थ की जांच सूक्ष्मदर्शी से की जा सकती है। निम्नलिखित असामान्य घटक दिखाई पड़ सकते हैं:

- सफेद रक्त कोशिकाएं (ल्यूकोसाइट्स)
- लाल रक्त कोशिकाएं (एरिथ्रोसाइट्स) की असामान्य तादाद
- असामान्य रवे (कभी-कभार)
- परजीवी ट्रोफोज़ाइट्स (जैसे *ट्राइकोमोनास वैजिनेलिस*) या अण्डे (जैसे *शिस्टोसोमा हिपेटोबियम, एंटेरोबियस वर्मिक्यूलेरिस*)
- बैक्टीरिया

- फफूंद
- असामान्य टुकड़े

सामग्री और अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- सूक्ष्मदर्शी स्लाइड
- सेंट्रीफ्यूज
- शंकु आकार सेंट्रीफ्यूज नलियां
- पाश्चर पिपेट
- कवर स्लिप
- फॉर्मेल्डिहाइड
- आसुत पानी

विधि

नमूना प्राप्त करना

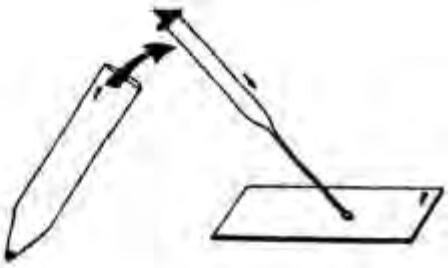
सूक्ष्मदर्शी से जांच के लिए ज़रूरी है कि पेशाब किसी साफ पात्र में अभी-अभी इकट्ठी की गई हो। इसके लिए मिडस्ट्रीम नमूना सबसे उपयोगी होता है।

रेफ्रिजरेटर में रखे पेशाब के नमूने में लवणों का अवक्षेप बहुत अधिक होगा, इसलिए सूक्ष्मदर्शीय जांच के लिए यह उपयुक्त नहीं होगा।

सूक्ष्मदर्शीय जांच हेतु पेशाब के नमूने के संरक्षण के लिए 300 मि.ली. पेशाब में 8-10 बूंद फॉर्मेल्डिहाइड का 10 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 28) डालकर रख सकते हैं। मगर इस तरह से संरक्षित पेशाब अन्य जांचों के लिए उपयुक्त नहीं रहती।

तलछट तैयार करना (चित्र 9.11)

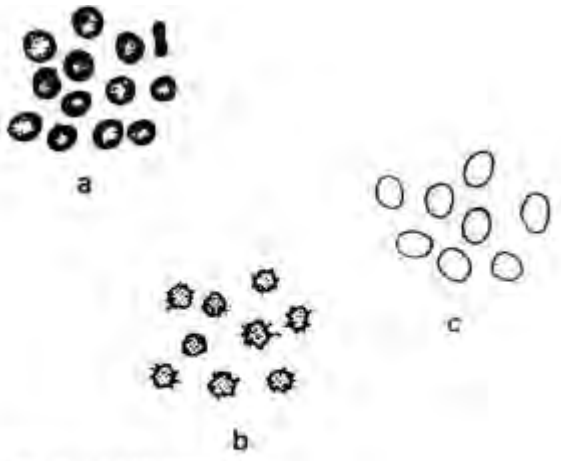
1. पेशाब के नमूने को धीरे-धीरे मिलाएं और करीब 11 मि.ली. एक सेंट्रीफ्यूज नली में डालिए।
2. नमूने को मध्यम गति (2000 गुरुत्व) पर 5 मिनट तक सेंट्रीफ्यूज कीजिए।
3. नली को बगैर हिलाए एकदम से उल्टा करके ऊपर का तरल बहा दीजिए। ऊपर के तरल का उपयोग जैव रासायनिक परीक्षण के लिए किया जा सकता है।
4. नीचे बचे अवशेष को एक बार फिर आसुत पानी में निलंबित कीजिए। नली को हिलाकर मिश्रण को मिला लीजिए।
5. पाश्चर पिपेट की मदद से इस मिश्रण की एक बूंद स्लाइड पर रखकर कवर स्लिप से ढंक दीजिए।
6. स्लाइड पर मरीज़ का नाम या पहचान क्रमांक लिखें।



चित्र 9.11 - पेशाब की सूक्ष्मदर्शीय जांच

सूक्ष्मदर्शी से जांच

कंडेंसर को नीचा रखते हुए, X10 ऑब्जेक्टिव की मदद से कवर स्लिप का पूरा अवलोकन कीजिए और *शिस्टोसोमा हिमेटोबियम* के अण्डे खोजिए। कंडेन्सर को नीचे करके या रोशनी के सुराख को छोटा करके, X40



चित्र 9.12 एरिथ्रोसाट्स
क. साबुत कोशिकाएं ख. कंगूरेदार कोशिकाए
ग. फूली हुई कोशिकाएं

ऑब्जेक्टिव की मदद से एक बार फिर पूरे कवर स्लिप क्षेत्र का अवलोकन करें और प्रत्येक उच्च शक्ति फील्ड के लिए मात्रात्मक परिणाम रिपोर्ट करें।

पेशाब में निम्नलिखित चीजें मिल सकती हैं:

- एरिथ्रोसाइट्स
- ल्यूकोसाइट्स
- एपिथिलीयल कोशिका
- कुछ टुकड़े
- फफूंद
- रवे
- परजीवी अण्डे और इल्लियां
- *ट्राइकोमोनास वेजिनेलिस*
- स्पर्मेटोज़ोआ

एरिथ्रोसाइट्स (चित्र 9.12)

पेशाब में एरिथ्रोसाइट निम्न किस्म के हो सकते हैं:

क. साबुत: छोटे पील तश्तरी जैसे, किनारों पर रंग गहरा (8 माइक्रोमीटर)

ख. कंगूरेदार: किनारे कांटेदार, साइज़ कम (व्यास 5-6 माइक्रोमीटर)

ग. फूले हुए: पतले गोले, व्यास अधिक (9-10 माइक्रोमीटर)

पेशाब के रखे-रखे कोशिकाओं की आकृति बदलती है और इसका कोई नैदानिक महत्व नहीं होता।

आम तौर पर पेशाब में बहुत कम एरिथ्रोसाइट होते हैं।

टीप: यदि मासिक स्राव अवधि में नमूना लिया जाए तो स्त्रियों की पेशाब में एरिथ्रोसाइट्स पाए जा सकते हैं।

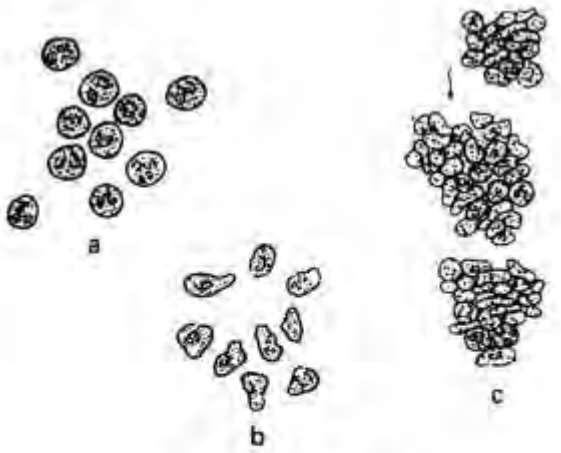
ल्यूकोसाइट्स (चित्र 9.13)

पेशाब में ल्यूकोसाइट्स निम्न प्रकार के हो सकते हैं:

क. साबुत: साफ कणदार तश्तरी, 10-15 माइक्रोमीटर (केंद्रक भी दिख सकते हैं)।

ख. विघटित: आकृति विकृत, सिकुड़े हुए, कम कणदार।

ग. मवाद: कई विघटित कोशिकाओं के गुच्छे।



चित्र 9.13 ल्यूकोसाईट्स
क. साबुत ख. विघटित ग. मवाद

बड़ी संख्या में ल्यूकोसाइट्स पाया जाना, खासकर गुच्छों में पाया जाना मूत्र मार्ग का संक्रमण दर्शाता है।

पेशाब की तलछट में एरिथ्रोसाइट और ल्यूकोसाइट की संख्या कैसे दर्शाएं

एक बूंद पेशाब की तलछट स्लाइड पर रखकर कवर स्लिप से ढक दें।

X10 ऑब्जेक्टिव की मदद से इसका अवलोकन कीजिए और एरिथ्रोसाइट व ल्यूकोसाइट की संख्या प्रति सूक्ष्मदर्शी फील्ड गिन लें।

परिणाम तालिका 9.2 व 93 में बताए अनुसार रिपोर्ट करें।

तालिका 9.2 पेशाब में एरिथ्रोसाइट की सूक्ष्मदर्शीय जांच के परिणामों की रिपोर्टिंग

एरिथ्रोसाइट संख्या प्रति सूक्ष्मदर्शी फील्ड	परिणाम
0-10	थोड़े एरिथ्रोसाइट (सामान्य)
10-30	एरिथ्रोसाइट संख्या मध्यम
>30	ढेरों एरिथ्रोसाइट्स

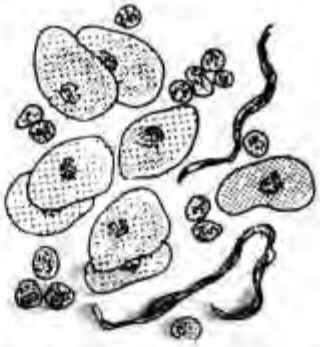
तालिका 9.3 पेशाब में ल्यूकोसाइट्स की सूक्ष्मदर्शीय जांच के परिणामों की रिपोर्टिंग

ल्यूकोसाइट संख्या प्रति सूक्ष्मदर्शी फील्ड	परिणाम
0-10	थोड़े ल्यूकोसाइट (सामान्य)
10-20	ल्यूकोसाइट संख्या मध्यम
20-30	कई ल्यूकोसाइट्स
20-30 (विघटित) गुच्छों में	कई ल्यूकोसाइट्स गुच्छों में
>30 (विघटित) गुच्छों में	फुल फील्ड

मूत्र नली और रीनल पेल्विक कोशिकाएं (चित्र 9.14)

मध्यम साइज़ की और स्पष्ट केंद्रक युक्त अण्डाकार कोशिकाएं।

यदि ऐसी बहुत सारी कोशिकाएं हों और साथ में ल्यूकोसाइट्स और तंतु भी हों, तो हो सकता है कि ये मूत्र नली से आई हों। यदि कोशिकाएं कम हैं और ल्यूकोसाइट्स नहीं हैं तो ये रीनल पेल्विस की कोशिकाएं हो सकती हैं।

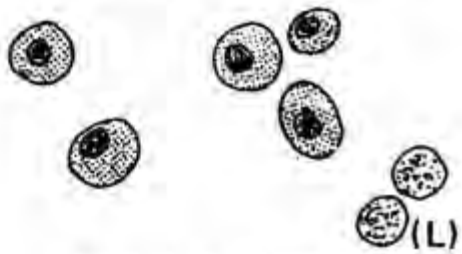


चित्र 9.14 यूरेटरल और रीनल पेल्विक कोशिकाएं

गुर्दा कोशिकाएं (रीनल सेल्स) (चित्र 9.15)

रीनल कोशिकाएं रीनल पेल्विक कोशिकाओं से बड़ी होती हैं (1-2 ल्यूकोसाइट्स के बराबर साइज़) और बहुत दानेदार होती हैं। केंद्रक भी चमकदार व स्पष्ट दिखाई पड़ता है।

पेशाब में प्रोटीन के साथ रीनल कोशिकाएं लगभग सदा उपस्थित होती हैं।



चित्र 9.15 गुर्दा कोशिकाएं

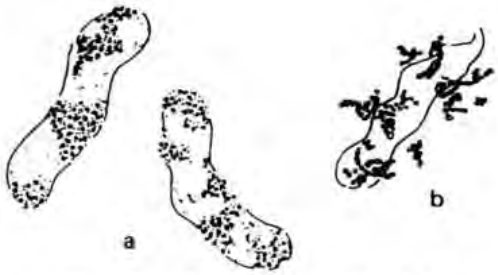
कास्ट्स

कास्ट्स बेलनाकार और लम्बे होते हैं। ये इतने लम्बे होते हैं कि X40 ऑब्जेक्टिव से देखने पर लगभग पूरे सूक्ष्मदर्शी फील्ड में फैले नज़र आते हैं।

हाएलाइन कास्ट्स पारदर्शी और थोड़े चमकीले होते हैं। इनके सिरे गोल या नुकीले हो सकते हैं (चित्र 9.16)। मांसपेशियों की कड़ी मेहनत के बाद ये स्वस्थ व्यक्ति में भी पाए जा सकते हैं, अतः इनका कोई नैदानिक महत्व नहीं है।

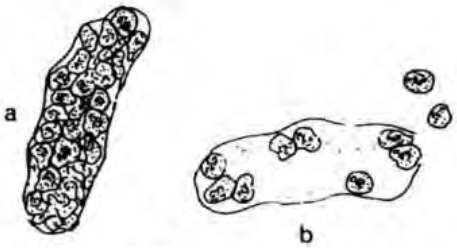
चित्र 9.16 हाएलाइन कास्ट्स

चित्र 9.17 दानेदार कास्ट्स

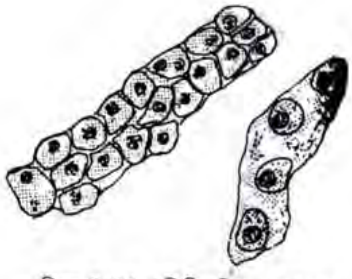


चित्र 9.18 महीन दानेदार कास्ट्स (a) (b)

चित्र 9.19 रक्त कास्ट्स



चित्र 9.20 मवाद कास्ट्स (a) (b)



चित्र 9.21 एपिथिलीयल कास्ट

चित्र 9.22 वसीय कास्ट्स

चित्र 9.23 झूठे कास्ट

दानेदार कास्ट्स अपेक्षाकृत छोटे होते हैं और दानों से भरे होते हैं। इनका रंग हल्का पीला होता है और सिरे गोल होते है (चित्र 9.17)। इनके दाने गुर्दे की नलिकाओं की विघटित एपिथिलियल कोशिकाएं है और इनका कोई नैदानिक महत्व नही है।

महीन दानेदार कास्टस (चित्र 9.18) में दाने बारीक होते हैं मगर ये पूरे कास्ट में नही भरे होते (**a**)। कभी-कभी फॉस्फेट क्रिस्टल से आंशिक रूप से ढंके हाएलाइन कास्ट्स भी ऐसे ही दिखते हैं (**b**)। कृपया भ्रमित न हों।

रक्त कास्ट्स कमोबेश विघटित एरिथ्रोसाइट से भरे होते हैं (चित्र 9.19)। इनका रंग कत्थई सा होता है। ये गुर्दो के एक्यूट रोग में पाए जाते हैं।

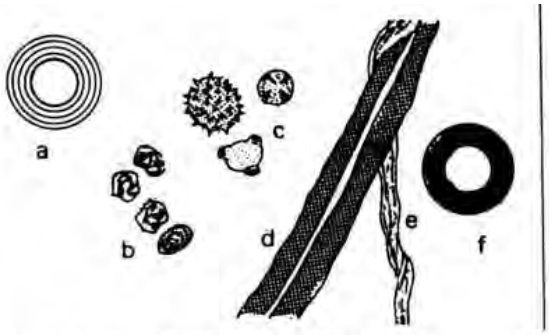
मवाद कास्ट (चित्र 9.20) पूरी तरह ल्यूकोसाइट्स(**a**) से भरे होते हैं। कुछ हाएलाइन कास्ट में भी ल्यूकोसाइट (**b**) पाए जाते हैं, इनसे भ्रमित न हों। मवाद कास्ट गुर्दे के संक्रमण से पीड़ित व्यक्ति में पाए जाते हैं।

एपिथिलीयल कास्ट (चित्र 9.21) पीली एपिथिलीयल कोशिकाओं से भरे होते हैं। (इन कोशिकाओं को स्पष्ट देखने के लिए एक बूंद 10 प्रतिशत एसिटिक एसिड [अभिकारक क्र.2] निक्षेप पर डालिए।) एपिथिलीयल कास्ट का कोई नैदानिक महत्व नहीं है।

वसीय कास्ट्स अत्यंत चकमीले पीले कास्ट्स होते हैं; इनके किनारे खांचेदार होते हैं और सिरे गोल होते हैं (चित्र 9.22)। ये ईथर में घुलनशील होते हैं मगर एसिटिक एसिड में नहीं। गंभीर गुर्दा रोग से पीड़ित मरीज़ों में वसीय कास्ट पाए जाते हैं।

झूठे कास्ट (चित्र 9.23) - इन्हें कास्ट समझने की भूल न करें। ये -

- या तो फॉस्फेट क्रिस्टल के गुच्छे होते हैं, छोटे और स्पष्ट (**a**)
- या अर्द्धपारदर्शी श्लेष्मा के संकुल होते हैं, दोनों सिरे पतले नुकीले (**b**)



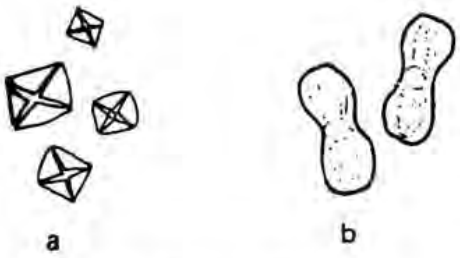
चित्र 9.24 तेल की बूंदे, चमकदार गोल (a), मण्ड के दाने (b), फूलो के पराग कण (c), बाल (d), कपास के रेशे (e), हवा के बुलबुले (f)

चित्र 9.25 रवे (क्रिस्टल)
a. क्रिस्टल b. आकारहीन मलबा

विविध विदेशी पदार्थ

यदि गंदे पात्रों या स्लाइड्स का उपयोग किया गया हो अथवा पेशाब के नमूने को खुला छोड़ दिया गया हो, तो उसमें निम्नलिखित चीज़ें पाई जा सकती है (चित्र 9.24):

- तेल की बूंदे, चमकदार गोल (**a**)
- मण्ड के दाने (ल्यूगॉल आयोडीन, 0.5 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 37) डालने पर ये नीले-काले हो जाएंगे) (**b**)
- फूलो के पराग कण (**c**)
- बाल (**d**)
- कपास के रेशे (**e**)
- हवा के बुलबुले (**f**)



चित्र 9.26 कैल्शियम ऑक्ज़लेट रवे

रवे (क्रिस्टल) चित्र 9.25

साधारण आकारहीन मलबे (**b**) के विपरीत रवों की एक नियमित ज्यामितीय आकृति होती है (**a**)। किसी बिरली बीमारी को छोड़ दें तो रवों का कोई नैदानिक महत्व नहीं है।

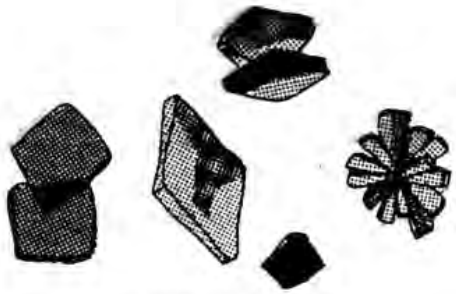
सामान्य रवेदार अवक्षेप

कैल्शियम ऑक्ज़लेट (अम्लीय पेशाब) (चित्र 9.26)

साइज़: 10-20 माइक्रोमीटर (**a**) या करीब 50 माइक्रोमीटर (**b**)

आकृति: लिफाफा आकृति (**a**) या मूंगफली आकृति (**b**)

रंग: रंगहीन, अत्यंत चमकीले।



चित्र 9.27 यूरिक एसिड

यूरिक एसिड (अम्लीय पेशाब) (चित्र 9.27)

साइज़: 30-150 माइक्रोमीटर

आकृति: अलग-अलग आकृतियां होती है: वर्गाकार हीरा आकृति, घनाकार या फूल जैसा।

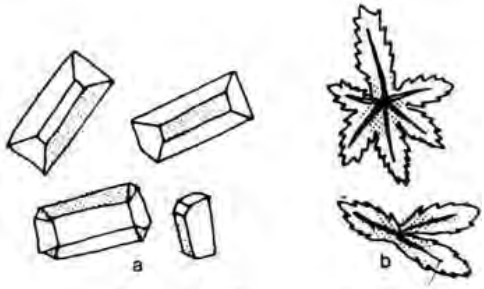
रंग: पीला या कत्थई-लाल

ट्रिपल फॉस्फेट (उदासीन या क्षारीय पेशाब) (चित्र 9.28)

साइज़: 30-150 माइक्रोमीटर

आकृति: आयताकार (**a**) या फर्न की पत्ती या तारेनुमा (**b**)।

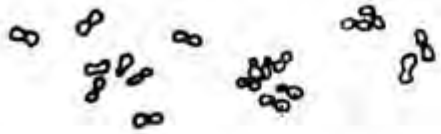
रंग: रंगहीन, चमकीले।



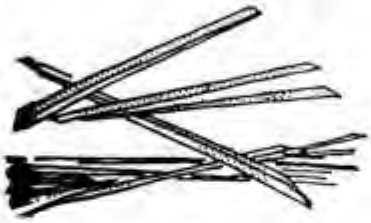
चित्र 9.28 ट्रिपल फॉस्फेट

चित्र 9.29 यूरेट्स

चित्र 9.30 कैल्शियम फॉस्फेट



चित्र 9.31 कैल्शियम कार्बोनेट



चित्र 9.32 कैल्शियम सल्फेट

चित्र 9.33 रवाहीन फॉस्फेट्स

चित्र 9.34 रवाहीन यूरेट्स

यूरेट्स (क्षारीय पेशाब) (चित्र 9.29)

साइज़: करीब 20 माइक्रोमीटर

आकृति: कैक्टसनुमा (**a**) या सुइयों ढेर नुमा (**b**)

रंग: पीला, चमकीला।

यूरेटस अक्सर फास्फेट्स के साथ मिलते हैं।

कैल्शियम फॉस्फेट (उदासीन या क्षारीय पेशाब) (चित्र 9.30)

साइज़: 30-40 माइक्रोमीटर

आकृति: तारेनुमा

रंग: रंगहीन

कैल्शियम कार्बोनेट (उदासीन या क्षारीय पेशाब) (चित्र 9.31)

साइज़: बहुत छोटे।

आकृति: ज्वार या मक्का के दाने जैसे, जोड़ियों में।

रंग: रंगहीन

यदि 10 प्रतिशत एसिटिक एसिड (अभिकारक क्र. 2) डलाया जाए, तो ये रवे घुल जाते हैं और गैस के बुलबुले निकलते हैं।

कैल्शियम सल्फेट (अम्लीय पेशाब) (चित्र 9.32)

साइज़: 50-100 माइक्रोमीटर

आकृति: लम्बे प्रिज़्म या चपटी पट्टियां। अलग-अलग या झुंड में।

पेशाब की pH पता करके कैल्शियम सल्फेट और कैल्शियम फॉस्फेट रवों में अंतर किया जा सकता है।

रवाहीन मलबा

रवाहीन फॉस्फेट्स (क्षारीय पेशाब) (चित्र 9.33)

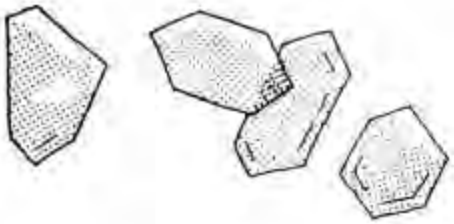
रवाहीन फॉस्फेट्स अक्सर बिखरे हुए छोटे-छोटे सफेद दानों के रूप में दिखते हैं। ये एसिटिक एसिड, 10 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 2) में घुलनशील होते हैं (1 बूंद अवक्षेप पर एक बूंद एसिटिक एसिड)।

***रवाहीन यूरेट्स** (अम्लीय पेशाब) (चित्र 9.34)*

रवाहीन यूरेट्स बहुत छोटे, पीले दानों के रूप मे नज़र आते हैं। ये दाने सघन झुंडों में होते है।

ये एसिटिक एसिड, 10 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 2) में अघुलनशील हैं मगर यदि पेशाब को थोड़ा गर्म किया जाए तो घुल जाते हैं।

(रेफ्रिजरेटर में रखी पेशाब में अक्सर यूरेट्स का भारी अवक्षेप देखने को मिलता है।)



चित्र 9.35 सिस्टाइन

अन्य रवेदार डिपॉज़िट्स

निम्नलिखित चीज़ें पेशाब में यदा-कदा पाई जाती हैं। मगर जब दिखते हैं, तब कुछ बीमारी के मरीज़ों में इनकी बड़ी मात्रा पाई जाती है।

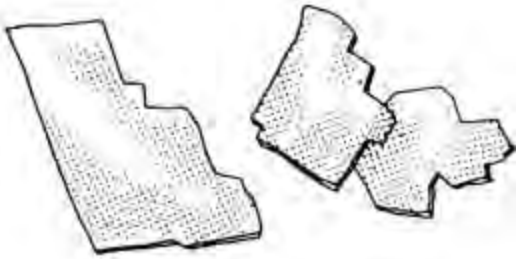
सिस्टाइन (अम्लीय पेशाब) (चित्र 9.35)

साइज़: 30-60 माइक्रोमीटर

आकृति: षट्कोणिक तश्तरीनुमा

रंग: रंगहीन, अत्यंत चमकीले।

सिस्टाइन रवे सिर्फ ताज़ी पेशाब में पाए जाते हैं क्योंकि ये अमोनिया में घुलनशील हैं। ये सिस्टाइन यूरिया नामक अत्यंत बिरले वंशानुगत रोग से ग्रस्त मरीज़ों में पाए जाते हैं।



चित्र 9.36 कोलेस्ट्रॉल

कोलेस्ट्रॉल (अम्लीय पेशाब) (चित्र 9.36)

साइज़: 50-100 माइक्रोमीटर

आकृति: वर्गाकार तश्तरियां, एक तरफ खांचे होते हैं।

रंग: रंगहीन, चमकीले।

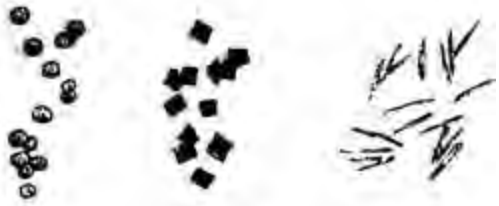
कोलेस्ट्रॉल के रवे नेफ्रोटिक सिण्ड्रोम के मरीज़ों की पेशाब में पाए जाते हैं।

बिलिरुबिन (अत्यंत बिरले) (चित्र 9.37)

साइज़: वर्गाकार अथवा मोतियों या सुइयों जैसे।

रंग: कत्थई।

(पित्त वर्णकों का परीक्षण सकारात्मक परिणाम देगा।)



चित्र 9.37 बिलिरुबिन

एसिटाइल सल्फोनामाइड्स (उदासीन या अम्लीय पेशाब)

आकृति: विविध, मगर आम तौर पर सुइयों के गट्ठे जैसे।

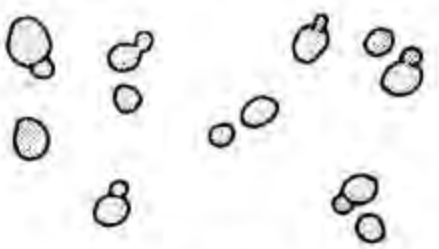
एसिटाइल सल्फोनामाइड के रवे सल्फोनामाइड दवाइयों से इलाज के बाद पेशाब में देखे जाते हैं। इन रवों की उपस्थिति रिपोर्ट की जानी चाहिए क्योंकि ये गुर्दे को क्षति पहुचा सकते हैं।

फफूंद (चित्र 9.38)

साइज़: 5-12 माइक्रोमीटर

आकृति: विभिन्न साइज़ के गोल या अण्डाकार पिण्ड। इन्हें एरिथ्रोसाइट समझने की भूल न करें। इनमें मुकुलन (बडिंग) दिखाई पड़ सकता है। फफूंद एसिटिक एसिड में नहीं घुलती।

जिस पेशाब में ग्लूकोज़ हो, उसमें कभी-कभी फफूंद भी पाई जाती है। यह ध्यान रखें कि पेशाब का नमूना ताज़ा हो।



चित्र 9.38 फफूंद

समूहन रोधक तकनीक द्वारा पेशाब में ए-ह्यूमन कोरिऑनिक गोनेडोट्रॉपिन (B-hCG) की जांच (Agglutination Inhibition के द्वारा BhCG)

सामग्री व अभिकारक

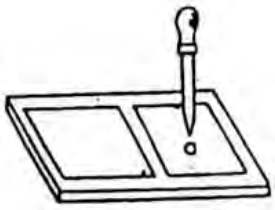
- जांच तश्तरियां
- हिलाने के लिए छड़ें, लकड़ी की तीलियां या रोटेटर
- परखनली स्टैण्ड
- एण्टी ए-ह्यूमन कोरिऑनिक गोनेडोट्रॉपिन (एण्टी- B-hCG) एण्टीबॉडी
- लैटेक्स hCG अभिकारक (hCG के आवरण युक्त लैटेक्स कणों का निलंबन)
- नकारात्मक कंट्रोल
- सकारात्मक कंट्रोल (सशक्त व दुर्बल सकारात्मक)

उपरोक्त अभिकारक आम तौर पर एक व्यावसायिक किट में उपलब्ध कराए जाते हैं।

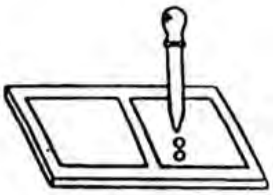
विधि (चित्र 9.39)

1. पेशाब के नमूने और अभिकारकों को कमरे के तापमान पर आने दें।
2. पेशाब के प्रत्येक नमूने और प्रत्येक कंट्रोल की एक-एक बूंद परीक्षण तश्तरियों पर डालिए।
3. प्रत्येक नमूने व प्रत्येक कंट्रोल में एक-एक बूंद एण्टी β-hCG एण्टीबॉडी डालिए। अच्छी तरह मिलाइए।
4. hCG युक्त लैटेक्स निलंबन को भलीभांति मिलाइए।
   प्रत्येक परीक्षण नमूने पर इसकी एक-एक बूंद डालिए। तश्तरी को घुमाकर या छड़ या लकड़ी की तीली की मदद से अच्छी तरह मिलाइए (प्रत्येक नमूने के लिए अलग छड़ लें)।
5. लगभग 3 मिनट बाद तश्तरी का मुआयना कीजिए और परीक्षण नमूनों और कंट्रोल में हुई क्रियाओं की तुलना कीजिए।

यदि समूहन (एग्लूटिनेशन) नहीं होता, तो यह सकारात्मक प्रतिक्रिया (गर्भवती होना या β–hCG की उपस्थिति) दर्शाता है। नकारात्मक प्रतिक्रिया (गर्भावस्था न होने या β-hCG की अनुपस्थिति) समूहन होने से पता चलती है।

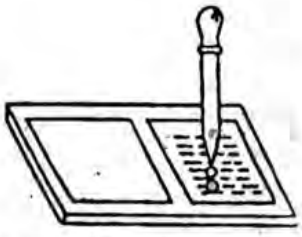


1. एक बूंद एण्टी hCG सीरम लीजिए (ड्रॉपर को एकदम खड़ा रखें)



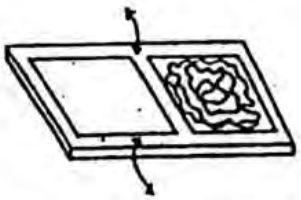
2. एक साफ ड्रॉपर से एक बूंद पेशाब डालिए

3. लकड़ी की तीली से अच्छी तरह मिलाइए

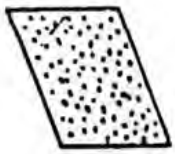


4. 1 बूंद एण्टीजेन डालिए (ड्रॉपर को एकदम खड़ा रखें)।

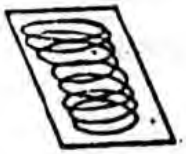
5. मिश्रण को पूरे खाने में लकड़ी की तीली से मिला दीजिए।



6. स्लाइड को धीरे-धीरे झुलाइए - अधिक से अधिक 90 सेकण्ड। समूहन की जांच कीजिए।



7. नकारात्मक परिणाम - 90 सेकण्ड में समूहन हो जाए।



सकारात्मक परिणाम - 90 सेकण्ड में समूहन न हो।

चित्र 9.39 समूहन रोधक तकनीक द्वारा पेशाब की जांच विधि

v/;k; & 10
ey dh tkp

मल में परजीवियों की जांच

1 नमूना प्राप्त करना

एक साफ, सूखे पात्र में लगभग 100 ग्रा. मल (परिरक्षक यानी प्रिज़र्वेटिव के बगैर) प्राप्त करें। चूड़ीदार ढक्कन वाला डिब्बा सबसे अच्छा रहेगा (देखें पृष्ठ 14)। यह ध्यान रखें कि यदि कोई वयस्क कृमि या उसका खण्ड मल में निकला हो, तो उसे भी नमूने में रखा जाए।

बैक्टीरिया सम्बंधी छानबीन के लिए (जैसे हैज़ा और अन्य पेचिशकारी बैक्टीरिया के संवर्धन के लिए) मल का नमूना प्राप्त करने के बारे में पृष्ठ 14 देखें।

सावधानियां

- खुले डिब्बे में मल के नमूने को हवा के संपर्क में न रखें।
- पेशाब मिला मल का नमूना (जैसे बेडपैन में इकट्ठा किया गया) कदापि स्वीकार न करें।
- दस्ताने पहने बगैर मल के नमूने की जांच न करें।
- मल की जांच किसी भी हालत में नमूना प्राप्त करने के 1-4 घण्टे के अंदर कर लें। यदि एक ही समय पर कई नमूने प्राप्त हों, तो सबसे पहले पतले मल और श्लेष्मा व रक्त युक्त नमूनों की जांच करें क्योंकि हो सकता है कि इनमें चलते-फिरते अमीबा हों (जो जल्दी ही मर जाएंगे)।

2 देखकर जांच

मल के नमूनों का सर्वोत्तम विवरण उनके रंग, गाढ़ेपन, तथा रक्त व अन्य स्राव के रूप में होता है।

रंग

रंग निम्नानुसार बताया जा सकता है:

- काला (रक्त)
- कत्थई, हल्का पीला (वसा)
- सफेद (अवरोधी पीलिया)

गाढ़ापन (चित्र 10.1)

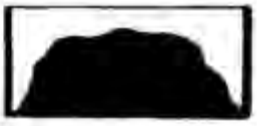
गाढ़ापन निम्नानुसार व्यक्त किया जा सकता है:

- ठोस (सामान्य आकारयुक्त)
- मुलायम आकार युक्त
- आकारहीन या तरल (पतला)

बाहरी रक्त या श्लेष्मा (म्यूकस) की उपस्थिति लाल या सफेद धारियों के रूप में दिखती है। इसे रिपोर्ट करना चाहिए। रक्त कुछ बीमारियों में उपस्थिति हो सकता है (जैसे, अल्सरयुक्त कोलाइटिस, शिस्टोसोमिएसिस)।

F (formed)
ठोस,

S (soft)
मुलायम,



W (watery)
पतला

चित्र 10.1 मल का गाढ़ापन

3 सूक्ष्मदर्शीय जांच

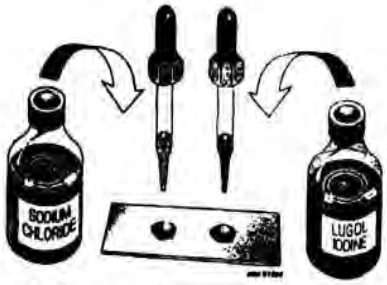
मल के सैलाइन या आयोडीन निलंबन की प्रत्यक्ष सूक्ष्मदर्शीय जांच निम्न कारणों से उपयोगी हो सकती है:

- चलते-फिरते ट्रोफोज़ॉइट का पता करने के लिए।

- मध्यम संख्या में अण्डों व कृमिकोशों (सिस्ट) की उपस्थिति का पता लगाने के लिए।
- एरिथ्रोसाइट्स, कोशिकीय मलबा या अतिरिक्त वसा का पता लगाने के लिए।

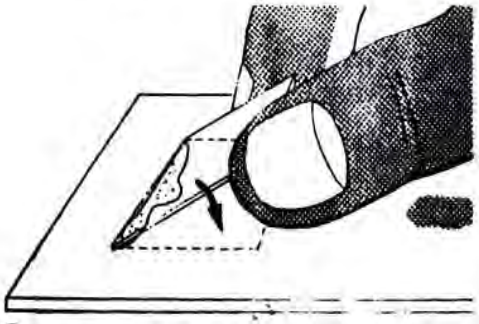
ट्रोफोज़ाइट का पता लगाने के लिए सीधे सूक्ष्मदर्शीय जांच का उपयोग करते समय तरल मल को ही चुनें। आकार युक्त मल में चलते-फिरते ट्रोफोज़ाइट कभी-कभार ही पाए जाते हैं। इसके अलावा रक्त या श्लेष्मा किसी भी वाले नमूने की प्रत्यक्ष सूक्ष्मदर्शीय जांच करें।

चित्र 10.2 मल में परजीवियों की सीधे सूक्ष्मदर्शीय जांच के लिए सामग्री और अभिकारक



चित्र 10.3 एक बूंद सैलाइन और एक बूंद आयोडीन घोल स्लाइड पर डालें

चित्र 10.4 परजीवी अण्डों की जांच के लिए मल का नमूना लेना



चित्र 10.5 हवा के बुलबुले से बचने के लिए कवर स्लिप रखने का तरीका

सामग्री और उपकरण (चित्र 10.2)

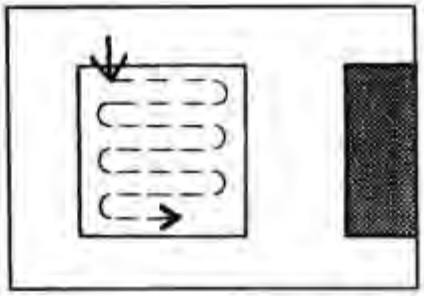
- सूक्ष्मदर्शी
- सूक्ष्मदर्शी स्लाइड्स
- कवर स्लिप्स
- लकड़ी के एप्लीकेटर्स या तार के छल्ले (0.45 मि.मी. निकल-एल्युमिनियम मिश्र धातु के तार)
- ग्रीज़ पेंसिल
- सोडियम क्लोराइड, 0.85 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 53)
- ल्यूगॉल आयोडीन, 0.5 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र 37)
- एसिटिक एसिड, 50 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 3), आसुत पानी से 1:1 तनु बनाकर
- मिथायलीन ब्लू घोल (अभिकारक क्र. 39)
- ईओसीन, 2 प्रतिशत सेलाइन घोल (अभिकारक क्र. 24)

विधि

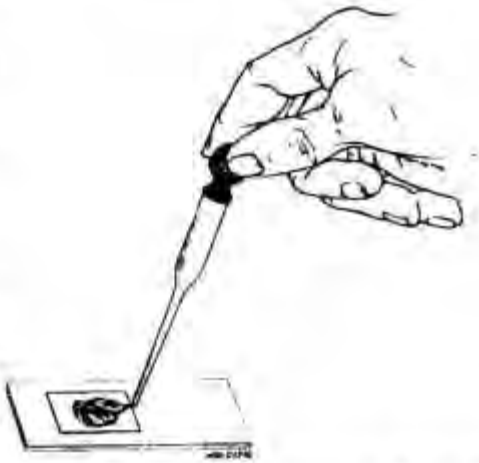
1. ल्यूगॉल आयोडीन घोल और एसिटिक एसिड घोल (उपरोक्तानुसार तनु किया हुआ) का 1:1 मिश्रण बनाइए।
2. एक सूखी स्लाइड लेकर उस पर मरीज का नाम या क्रमांक लिख दीजिए।
3. अब-
   - स्लाइड के बांए भाग के मध्य में 37^0 सेल्सियस तक गर्म किए हुए सोडियम क्लोराइड घोल की एक बूंद डालिए। और
   - स्लाइड के दाएं भाग के मध्य में आयोडीन-एसिटिक एसिड घोल की एक बूंद डालिए (चित्र 10.3)।
4. एप्लीकेटर या तार के छल्ले की मदद से थोड़ा-सा मल (2-3 मि.मी. व्यास का हिस्सा) उठाइए।
   क. यदि मल ठोस है तो नमूने के मध्य में से (चित्र 10.4) और सतह पर से उठाइए और इसमें परजीवी के अण्डे खोजने की कोशिश कीजिए।
   ख. यदि मल तरल है या उसमें श्लेष्मा है तो अमीबा की जांच के लिए या तो सतह की श्लेष्मा का हिस्सा लें
   या तरल की सतह का हिस्सा लें।
5. नमूने को स्लाइड पर रखी सोडियम क्लोराइड की बूंद के साथ मिलाइए।

6. एप्लीकेटर या तार के छल्ले की मदद से ऊपर बताए अनुसार मल का एक हिस्सा लें और उसे आयोडीन-एसिटिक एसिड की बूंद के साथ मिलाएं। उपयोग के बाद एप्लीकेटर को फेंक दें (या तार के छल्ले को लौ में जलाएं)।
7. दोनों बूंदों पर एक-एक कवर स्लिप रख दें (कवर स्लिप चित्र 10.5 में बताए अनुसार रखें ताकि हवा का बुलबुला न बनने पाए)।
8. स्लाइड को सूक्ष्मदर्शी से देखें। सेलाइन भाग को X10 व X40 ऑब्जेक्टिव तथा X5 आई पीस की मदद से देखिए। चूंकि अण्डे व सिस्ट रंगहीन होते हैं, इसलिए इन्हें देखने के लिए कंडेंसर के सुराख की मदद से या कंडेंसर को नीचा करके प्रकाश की मात्रा कम कर लें।

   पहले भाग को X10 ऑब्जेक्टिव की मदद से देखें। शुरुआत बाएं ऊपरी कोने से करें जैसा कि चित्र 10.6 में दर्शाया गया है। X10 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करते हुए एक कवरस्लिप के किनारे पर फोकस करें और प्रत्येक कवर स्लिप के पूरे क्षेत्र का मुआयना करें। इस दौरान *स्ट्रॉन्गालाइड्स स्टरकोलेरिस* के लार्वा और अण्डे देखने का प्रयास कीजिए। इसके बाद X40 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करते हुए सैलाइन वाली पूरी कवर स्लिप में चलते-फिरते ट्रोफोज़ाइट्स और आयोडीन वाली कवर स्लिप में सिस्ट की खोज कीजिए।
9. ल्यूगॉल आयोडीन-एसिटिक एसिड घोल ट्रोफोज़ाइट्स को गतिहीन बना देता है। केंद्रक स्पष्ट रूप से अभिरंजित होता है मगर ट्रोफोज़ॉइट और सिस्ट अवस्थाओं में भेद करना मुश्किल हो जाता है।



चित्र 10.6 कवर स्लिप से घिरे क्षेत्र की जांच



चित्र 10.7 सैलाइन वाली स्लाइड का मिथायलीन ब्लू से अभिरंजन

10. एक पाश्चर पिपेट की सहायता से एक बूंद मिथायलीन ब्लू घोल को सैलाइन बूंद वाली कवर स्लिप के नीचे बहने दीजिए (चित्र 10.7)। इससे वहां उपस्थित सारी कोशिकाओं के केंद्रक अभिरंजित हो जाएंगे और पॉलीमॉर्फ्स के पिण्डदार केंद्रक और श्लेष्मा कोशिकाओं के बड़े इकलौते केंद्रक स्पष्ट अलग-अलग नज़र आने लगेंगे।
11. यदि एक बूंद ईओसिन घोल डाल दिया जाए तो प्रोटोज़ोआ (खासकर अमीबा) को छोड़कर शेष पूरा क्षेत्र अभिरंजित हो जाता है। प्रोटोज़ोआ रंगहीन बने रहते हैं और आसानी से देखे जा सकते हैं।

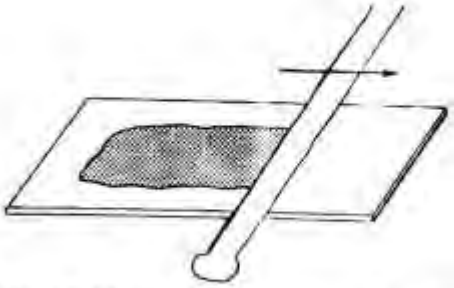
परजीवियों की शिनाख्त के लिए मल को विशेषज्ञ प्रयोगशाला में भेजना

दुर्लभ परजीवियों (जिन्हें पहचानना मुश्किल होता है) की पहचान के लिए मल के नमूनों को किसी विशेषज्ञ प्रयोगशाला में भेजा जा सकता है। ऐसे मौके पर जांच के लिए भेजने से पहले नमूनों में अभिरक्षक डालना चाहिए। निम्नलिखित अभिरक्षकों का उपयोग किया जाता है:

- फ़ार्मेल्डिहाइड, 10 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 28) नम माउण्टिंग के लिए।
- ल्यूगॉल आयोडीन, 0.5 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 37)
- पोलीविनाइल एल्कोहल (पी.वी.ए.) स्थिरकारक (अभिकारक क्र. 44)
- थायोमर्सल आयोडीन-फॉर्मेल्डिहाइड (T.I.F.) स्थिरकारक (अभिकारक क्र. 58), नम माउण्टिंग के लिए।

चित्र 10.8 फॉर्मेल्डिहाइड घोल में मल का परिरक्षण

चित्र 10.9 कांच की छड़ से मल का चूरा कर दें



चित्र 10.10 स्लाइड पर मल का नमूना फैला दें

10 प्रतिशत फॉर्मेल्डिहाइड घोल का उपयोग

1. लगभग 1 भाग मल और तीन भाग फॉर्मेल्डिहाइड घोल का मिश्रण बनाइए (चित्र 10.8)।
2. एक कांच की छड़ की मदद से मल को अच्छी तरह चूरा कर दीजिए (चित्र 10.9)।

यदि नमूने के पात्र को कसकर बंद किया जाए तो फॉर्मेल्डिहाइड घोल अण्डों व सिस्ट को अनिश्चित काल के लिए सरक्षित रखता है। यह परजीवी की वर्धी (वेजिटेटिव) अवस्थाओं का संरक्षण नहीं करता। ये अवस्थाएं कुछ दिनों बाद नष्ट हो जाती हैं।

पोलीविनाइल अल्कोहल स्थिरकारक का उपयोग

बोतल में

1. 40 मि.ली. की एक बोतल में करीब 30 मि.ली. पी.वी.ए. स्थिरकारक डालिए।
2. ताज़ा मल इतना डालिए कि बोतल का शेष चौथाई भाग भर जाए।
3. कांच की छड़ से भलीभांति मिला दीजिए।

पी.वी.ए. स्थिरकारक परजीवियों के सारे रूपों का संरक्षण अनिश्चितकाल के लिए करता है।

स्लाइड पर

1. अमीबा और फ्लेजिला युक्त जीवों की जांच के लिए स्लाइड के एक छोर पर मल का थोड़ा नमूना रखें।
2. मल पर तीन बूंद पी.वी.ए. स्थिरकारक डालें।
3. कांच की छड़ की मदद से नमूने को सावधानीपूर्वक लगभग आधी स्लाइड पर फैला दें (चित्र 10.10)। इसे 12 घण्टे सूखने दें (बेहतर हो कि 37° सेल्सियस पर सुखाएं)।

इस तरह संरक्षित नमूनों को लगभग 3 माह तक रखा जा सकता है। विशेषज्ञ प्रयोगशाला में पहुंचने पर इनका अभिरंजन किया जा सकता है।

थायोमर्सल[1]-आयोडीन-फॉर्मेल्डिहाइड स्थिरकारक का उपयोग

1. भेजने से तुरंत पहले 4.7 मि.ली. TIF स्थिरकारक और 0.3 मि.ली. ल्यूगॉल आयोडीन घोल को एक परखनली या छोटी बोतल में मिलाएं।
2. इसमें लगभग 2 मि.ली. मल डालकर कांच की छड़ से अच्छी तरह चूर दें।

उपरोक्त मिश्रण परजीवियों के हर रूप का संरक्षण अनिश्चित काल तक करता है। इनमें अमीबा के वर्धी रूप भी शामिल हैं हालांकि फ्लेजिला वाले जीव कुछ हद तक सड़ जाते हैं।

तालिका 10.1 आंतों के प्रोटोज़ोआ की रोगकारक क्षमता

प्रजाति	रोगकारक क्षमता
अमीबा	
एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका	यह एक मात्र अमीबा है जो मनुष्यों में रोग पैदा करता है। यह पेचिश या फोड़ा पैदा कर सकता है।
एण्टअमीबा कोली	गैर-रोगकारी मगर अत्यंत आम।
एण्टअमीबा हार्टमैनी, एण्डोलिमैक्स नैनस, आयडोमीबा बुट्श्ली	गैर रोगकारी। इनमें भेद कर पाना कठिन है मगर ज़रूरी भी नहीं है। इतना ही काफी है कि इन प्रजातियों को एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका से अलग पहचान पाएं।
डाईएण्टअमीबा फ्रेजिलिस	
फ्लेजिला वाले जीव	
जिआर्डिया इंटेस्टिनेलिस	रोगकारी
ट्राइकोमोनास होमिनिस	गैर-रोगकारी
चिलोमेस्टिक्स मेसनिलि	गैर-रोगकारी
सिलिएट्स	
बेलेन्टिडियम कोली	रोगकारी

4 आंतों के प्रोटोज़ोआ

प्रोटोज़ोआ एक कोशिका वाले सूक्ष्मजीव होते हैं। आंतों के प्रोटोज़ोआ मल में चलते-फिरते रूप में (ट्रोफोज़ॉइट) या सिस्ट के रूप में दिख सकते हैं। आंतों के कुछ प्रोटोज़ोआ रोगकारी होते हैं (तालिका 4.3)। अन्य हानिरहित होते हैं। ये सारे प्रोटोज़ोआ दुनिया भर में पाए जाते हैं।

चलते-फिरते रूप (ट्रोफोज़ॉइट) की पहचान

प्रोटोज़ोआ के ट्रोफोज़ॉइट गतिशील होते हैं (चित्र 10.11) :

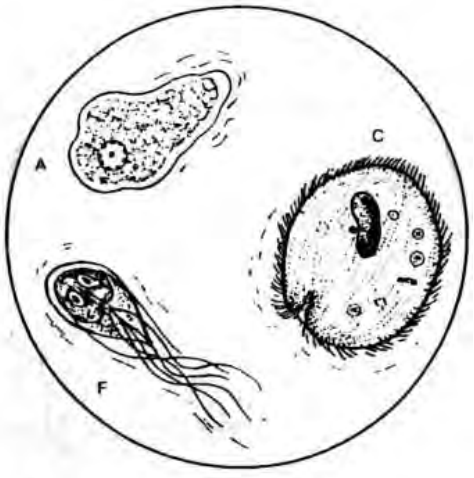
- या तो कोशिका की धीमी हरकत की वजह से (अमीबा)
- या उनमें तेज़ी से गति करता फ्लेजिला (लम्बा चाबुकनुमा धागा) या सिलिया (असंख्य बारीक रोम) होते हैं।

ट्रोफोज़ाइट आम तौर पर निम्नलिखित में पाए जाते हैं:

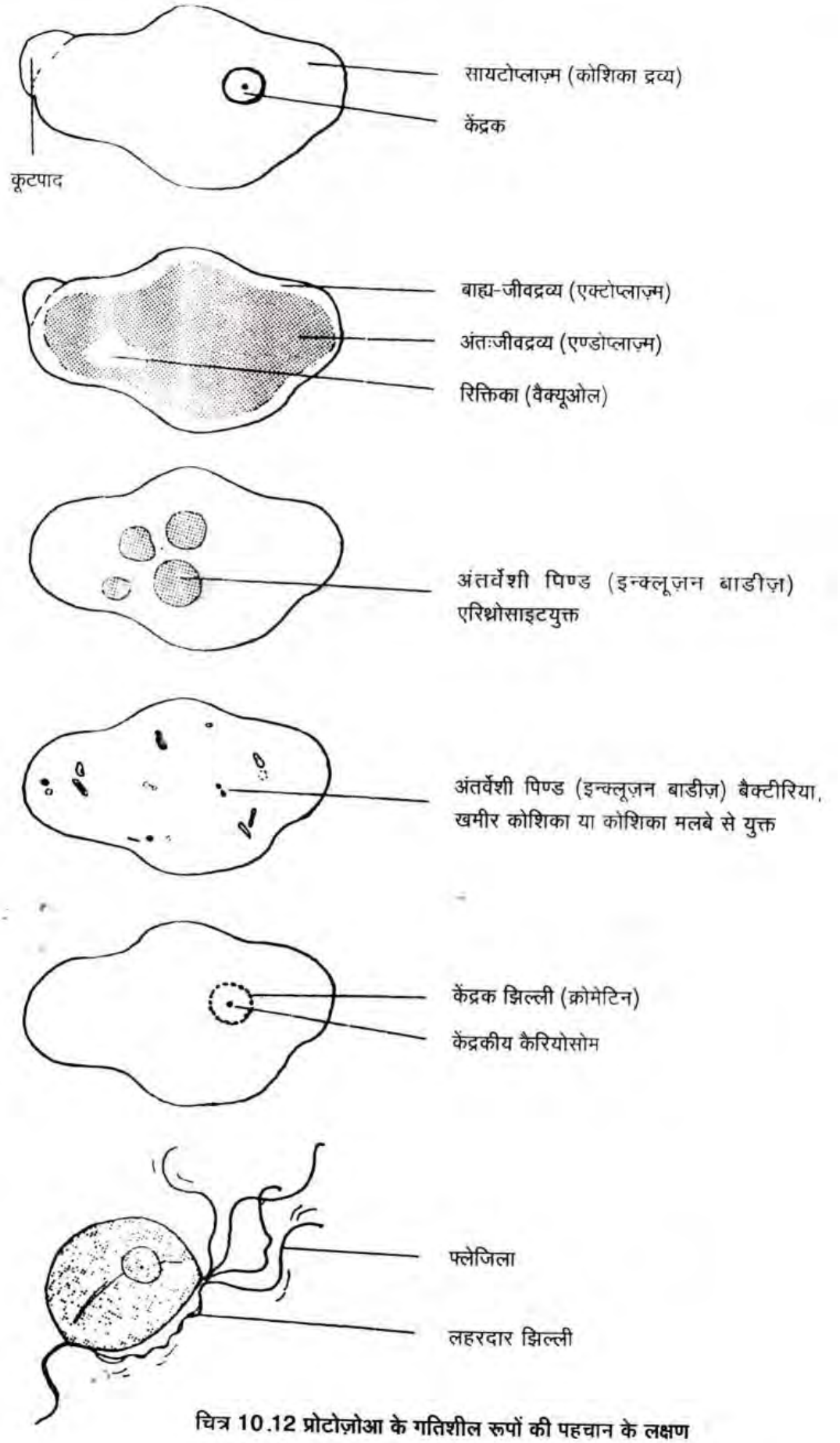
- तरल मल
- श्लेष्मा युक्त मल
- मुलायम (अर्ध ठोस) मल

आंतों के प्रोटोज़ोआ के गतिशील रूपों को पहचानने में निम्नलिखित लक्षण उपयोगी होते हैं (चित्र 10.12):

- साइज़
- कोशिका द्रव्य (सायटोप्लाज़्म)
- कूटपाद (स्यूडोपोडिया)
- केंद्रक
- एक्टोप्लाज़्म
- एण्डोप्लाज़्म
- रिक्तिकाएं (वेक्यूओल्स)
- अन्तर्वेशी पिण्ड (इन्क्लूज़न बाडीज़) जिनमें एरिथ्रोसाइट्स, बैक्टीरिया, खमीर कोशिकाएं, मलबा वगैरह हो सकता है
- केंद्रक झिल्ली
- केंद्रक केरियोसोम
- फ्लेजिला
- लहरदार झिल्ली



चित्र 10.11 प्रोटोज़ोआ के गतिशील रूप
क. अमीबा
ख. फ्लेजिलायुक्त जीव
ग. सिलियायुक्त जीव



चित्र 10.12 प्रोटोज़ोआ के गतिशील रूपों की पहचान के लक्षण

अमीबा के गतिशील रूपों की पहचान

एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका (चित्र 10.13 और चित्र 10.14)

(पेचिश अमीबा)

साइज़: 12-35 माइक्रोमीटर (आम तौर पर 3-4 एरिथ्रोसाइट्स के बराबर)।

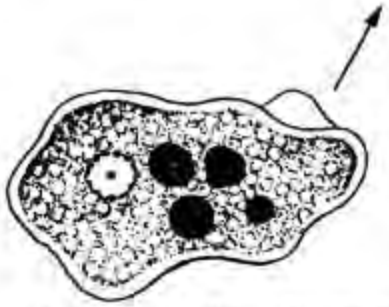
आकृति: चलते समय लम्बा व परिवर्तनशील, वैसे गोल।

गति: एक दिशा में चलता है, एक कूटपाद आगे की ओर बढ़ता है और जल्दी ही एण्डोप्लाज्म इसमें भर जाता है।

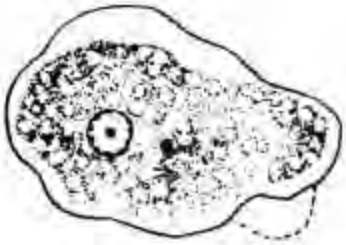
कोशिका द्रव्य: एक्टोप्लाज़्म पारदर्शी होता है, यह एण्डोप्लाज़्म की बारीक कणदार बनावट से काफी भिन्न होता है। एण्डोप्लाज़्म में पीली-हरी धारियां होती हैं और रिक्तिकाएं पाई जाती हैं।

केंद्रक: गतिशील रूप में नज़र नहीं आता मगर आयोडीन घोल से अभिरंजन करने पर स्पष्ट दिखता है कि इसकी एक नियमित झिल्ली है और एक छोटा सघन केरियोसोम (एक काला बिन्दु) है।

तरल या दस्तनुमा मल में **ए. हिस्टोलिटिका** के दो गतिशील रूप पाए जा सकते हैं: एक घुसपैठिया रूप (इन्वेज़िव फॉर्म) और एक गैर-घुसपैठिया रूप (नॉन-इन्वेज़िव फॉर्म)।



चित्र 10.13 एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका ट्रोफोज़ॉइट का घुसपैठिया रूप



चित्र 10.14 एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका ट्रोफोज़ॉइट का गैर-घुसपैठिया रूप

घुसपैठिया (इन्वेज़िव) रूप (चित्र 10.13)

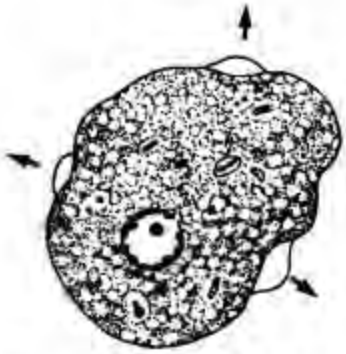
घुसपैठिये रूप की साइज़ 20-35 माइक्रोमीटर होती है। इसमें रिक्तिकाओं में लगभग पचे हुए एरिथ्रोसाइट्स (अलग-अलग साइज़ के 1-20) होते हैं। इनसे रक्तभक्षण क्रिया का पता चलता है जो रोगकारी क्षमता की द्योतक है।

गैर-घुसपैठिया (नॉन-इन्वेज़िव) रूप (चित्र 10.14)

गैर-घुसपैठिया रूप की साइज़ 12-20 माइक्रोमीटर होती है। यह आंतों में पलता है जहां यह बैक्टीरिया व अन्य चीज़ें खाता है जो इसकी रिक्तिकाओं में दिखते हैं। यह गैर-रोगकारी है।

एण्टअमीबा कोली (चित्र 10.15)

साइज़: 20-40 माइक्रोमीटर (आम तौर पर *ए. हिस्टोलिटिका* से बड़ा)।



चित्र 10.15 *एण्टअमीबा कोली* ट्रोफोज़ॉइट

आकृति: अण्डाकार या लम्बा, काफी अनियमित, प्रायः गतिहीन या बहुत धीमी गति। सारी दिशाओं में बोथरे कूटपाद आगे बढ़ाता है।

कोशिका द्रव्य: एक्टोप्लाज़्म और एण्डोप्लाज़्म दोनों ही कणदार होते हैं और इन्हें अलग-अलग देख पाना कठिन होता है।

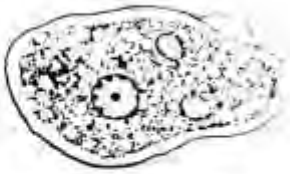
अन्तर्वेशी पिण्ड (इन्क्लूज़न बाडीज़): असंख्य और विविध (बैक्टीरिया, खमीर कोशिकाएं, कोशिका मलबा) मगर एरिथ्रोसाइट कदापि नहीं।

केन्द्रक: ताज़ा स्थिति में, बगैर अभिरंजन ही दिखता है। झिल्ली अनियमित और कणदार (मोतियों की माला जैसी) होती है और केरियोसोम बड़ा व केंद्र से थोड़ा हटकर होता है।

तालिका 10.2 में वे लक्षण दिए गए हैं जिनकी मदद से *ए.हिस्टोलिटिका* और *ए.कोली* के बीच अंतर किया जाता है। यदि ट्रोफोज़ॉइट तेज़ गति से एक दिशा में चलता है और कूटपाद जल्दी-जल्दी आगे बढ़ाता है, तो संभवतः यह *ए.हिस्टोलिटिका* है। अमीबा की अन्य प्रजातियां प्रायः इस तरह गति नहीं करतीं। यदि ट्रोफोज़ॉइट उपरोक्तानुसार चलता है और उसके कोशिका द्रव्य में एरिथ्रोसाइट उपस्थित हैं, तो माना जा सकता है कि यह *ए.हिस्टोलिटिका* है। यदि ज़रूरी हो, तो बफरयुक्त मिथायलीन ब्लू की मदद से केंद्रक को अभिरंजित करके पुष्टि की जा सकती है।

तालिका 10.2 एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका और ए. कोली को अलग-अलग पहचानने के लक्षण

लक्षण	ए. हिस्टोलिटिका	ए.कोली
गति	एक निश्चित दिशा में	बेतरतीब
गतिशीलता	काफी गतिशील	गतिहीन या बहुत कम गतिशील
एक्टोप्लाज्म	पारदर्शी, एण्डोप्लाज्म से काफी भिन्न	बहुत कम या एण्डोप्लाज्म से भिन्न नहीं
अन्तर्वेशी पिण्ड (इन्क्लूज़न बॉडीज़)	एरिथ्रोसाइट (यदि रक्तभक्षी है तो)	बैक्टीरिया, खमीर कोशिकाएं, और मलबा; इरिथ्रोसाइट्स नहीं होते
केंद्रक (न्यूक्लियस)	अदृश्य	दिखता है (केंद्रक झिल्ली मोतियों की माला समान)
केंद्रक झिल्ली (आयोडीन घोल से अभिरंजन के बाद)	नियमित झिल्ली	अनियमित झिल्ली
केरियोसोम	छोटा, घना, बीचोंबीच	बड़ा, केंद्र से हटकर



चित्र 10.16 एण्टअमीबा हार्टमैनी सिस्ट

एण्टअमीबा हार्टमैनी (चित्र 10.16)

साइज़: सदैव 10 माइक्रोमीटर से कम (लगभग एरिथ्रोसाइट के बराबर)। शेष गुणधर्म *ए हिस्टोलिटिका* के समान होते हैं मगर इसमें एरिथ्रोसाइट कभी नहीं होते। इसमें स्पष्ट दिखने वाली रिक्तिकाएं हो सकती हैं।

चित्र 10.17 एण्डोलिमैक्स नैनस सिस्ट

एण्डोलिमैक्स नैनस (चित्र 10.17)

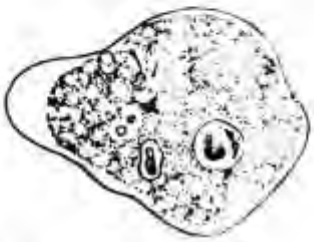
साइज़: 6-10 माइक्रोमीटर।

गतिशीलता: कई सारे छोटे-छोटे कूटपाद, हर दिशा में धीमे-धीमे चलते हुए।

कोशिका द्रव्य: बहुत कणदार, छोटी रिक्तिकाएं।

अन्तर्वेशी पिण्ड: विविध (मुख्यतः बैक्टीरिया)।

केंद्रक: केरियोसोम स्याही के धब्बे जैसा, आयोडीन घोल से अभिरंजन के बाद दिखता है।



चित्र 10.18 आयोडेमीबा बुट्शली ट्रोफोज़ोइट

आयोडेमीबा बुट्शली (चित्र 10.18)

साइज़: 10-15 माइक्रोमीटर।

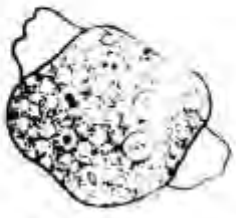
आकृति: सघन, पत्ती जैसी।

गतिशीलता: बहुत धीमी, स्पष्ट गोलाकार या उंगलीनुमा कूटपाद।

अन्तर्वेशी पिण्ड: बैक्टीरिया, बड़ी-बड़ी रिक्तिकाएं।

केंद्रक: कणों के एक झुण्ड के पास एक बड़ा अण्डाकार केरियोसोम, आयोडीन घोल से अभिरंजन के बाद दिखता है।

आयोडेमीबा बुट्शली अमीबा मल में कभी-कभार ही दिखता है।



चित्र 10.19 डाइएन्टअमीबा फ्रेजिलिस ट्रोफोज़ोइट

डाइएन्टअमीबा फ्रेजिलिस (चित्र 10.19)

साइज़: 6-15 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल।

गतिशीलता: या तो गतिहीन (अक्सर) या बहुत गतिशील (एकदम ताज़े तरल मल में), कूटपाद बिजली के पंखे के पंखों जैसे, कवर स्लिप के नीचे जल्दी ही गतिहीन हो जाता है।

कोशिका द्रव्य: साफ एक्टोप्लाज़्म।

अन्तर्वेशी पिण्ड: बैक्टीरिया।

केंद्रक: एक या दो केंद्रक, आयोडीन घोल से अभिरंजन के बाद दिखते हैं। केरियोसोम 4-6 कणों में बंटा होता है (झिल्ली बमुश्किल नज़र आती है)।

फ्लेजिला वाले जीवों (फ्लेजिलेट्स) के गतिशील रूपों की पहचान

ट्राइकोमोनास होमिनिस के अलावा ये सारे परजीवी सक्रिय फ्लेजिलेट वर्धी रूप में या अक्रिय सिस्ट के रूप में देखे जा सकते हैं।

जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस (चित्र 10.20)

साइज: 10-18 माइक्रोमीटर (एरिथ्रोसाइट के बराबर)।

आकृति: अपेक्षाकृत लंबा।

सामने से: नाशपाती जैसा।

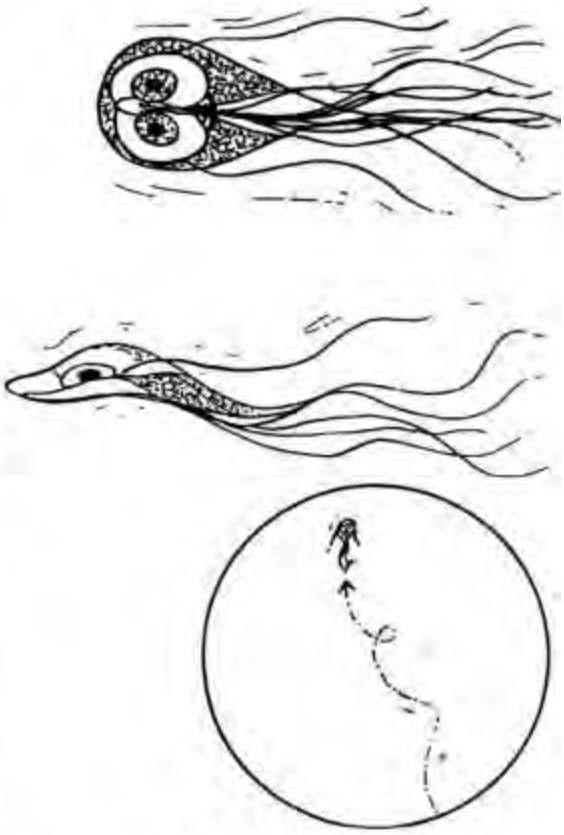
बाजू से: चम्मच जैसा।

गतिशीलता: या तो तेज़ झटके से एक निश्चित दिशा में आगे बढ़ता है या लूप में घूमता है (तरल मल में) या लगभग गतिहीन होता है।

केंद्रक: दो बड़े अण्डाकार केंद्रक, हल्के से दिखते हैं।

महत्वपूर्ण:

- इनकी लाक्षणिक गति सिर्फ ताज़ा तरल मल में ही दिखती है।
- तरल मल में श्लेष्मा के कतरों में अक्सर *जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस* बड़ी संख्या में झुण्ड में पाए जाते हैं।
- *जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस* के वर्धी रूप और सिस्ट रूप मुलायम मल में प्रायः साथ-साथ पाए जाते हैं।



चित्र 10.20 जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस ट्रोफोज़ॉइट

ट्राइकोमोनास होमिनिस (चित्र 10.21)

साइज़: 10-15 माइक्रोमीटर (*जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस* से थोड़ी कम)।

आकृति: दो नुकीले ध्रुवों समेत अण्डाकार।

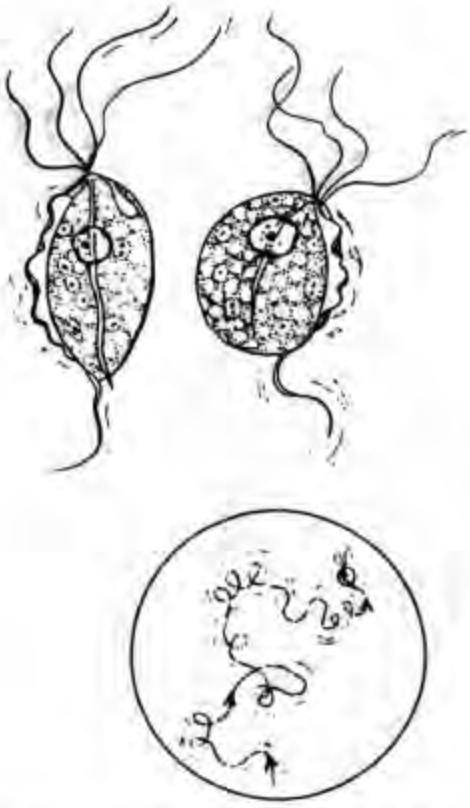
गतिशीलता: हर दिशा में घूमता है, लगता है कंपकंपा रहा है।

लहरदार झिल्ली: एक ही तरफ होती है, अत्यंत गतिशील (तेज़ लहरिया गति)।

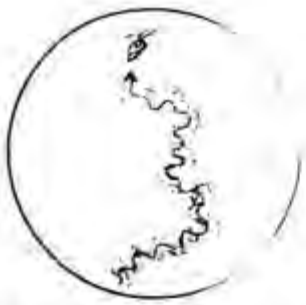
केंद्रक: एक केंद्रक, मुश्किल से दिखता है।

फ्लेजिला: आम तौर पर चार।

ट्राइकोमोनास होमिनिस सबसे प्रतिरोधी फ्लेजिलेट है। यह पुराने मल में भी गतिशील रहता है।



चित्र 10.21 ट्राइकोमोनास होमिनिस ट्रोफोज़ॉइट



चित्र 10.22 काईलोमेस्टिक्स [illegible] ट्रोफोज़ाइट

चित्र 10.23 बेलेन्टिडियम [illegible]

काईलोमेस्टिक्स मेसनिली (चित्र 10.22)

साइज़: 10-15 माइक्रोमीटर।

आकृति: अनियमित, एक सिरे पर पतला, ऐंठा हुआ दिखता है।

गतिशीलता: एक निश्चित दिशा में, एक सर्पित मार्ग पर चलता है।

कोशिका द्रव्य: भूरा हरा

- **पतले भाग की ओर:** एक स्पष्ट सर्पिल निशान जिसके इर्द-गिर्द फ्लेजिला घूमता है (8 की आकृति में)
- **गोलाकार सिरे की ओर:** मुंह जैसी दरार (हल्का-सा दिखने वाला सायटोसोम)।

केंद्रक: एक केंद्रक, अभिरंजक रहित स्लाइड में आसानी से दिखता है।

5. सिलिएट्स के गतिशील रूपों की पहचान

बेलेन्टिडियम कोली (चित्र 10.23)

साइज़: करीब 50 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, एक सिरा दूसरे से अधिक गोल।

सिलिया: बहुत सारे छोटे-छोटे सिलिया से ढंका होता है, ये सिलिया तेज झटके से गति करते हैं।

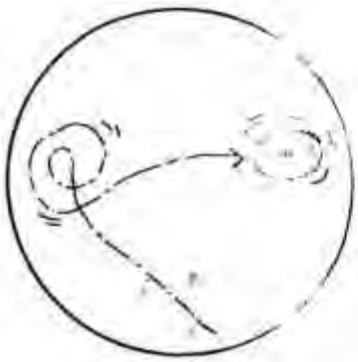
गतिशीलता: मल में काफी तेज़ से चलता है, एक निश्चित दिशा में चलते हुए सूक्ष्मदर्शी फील्ड को पार करता है और कभी-कभी गोले में घूमता है।

कोशिका द्रव्य: पारदर्शी।

केंद्रक: एक छोटे गोल केंद्रक के बाजू में एक बड़ा सेम के आकार का केंद्रक।

'मुंह': सायटोसोम, एक तरह का मुंह है जो फैलता-सिकुड़ता है और कोशिका मलबे को अंदर खींचता है।

महत्वपूर्ण: यदि मल को ढंके बगैर खुली हवा के संपर्क में रहने दिया जाए तो इन्फुसोरिया किस्म के सूक्ष्मजीव उस पर गिर सकते हैं। इन्हें बेलेन्टिडियम मानने की भूल हो सकती है।



मल के ट्रोफोज़ॉइट के लिए त्वरित फील्ड अभिरंजन

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- सूक्ष्मदर्शी स्लाइड्स
- स्लाइड रैक
- फील्ड अभिरंजक (अभिकारक क्र. 26)
  फील्ड अभिरंजक 'क' (बगैर तनु किया)
  फील्ड अभिरंजक 'ख' (1 भाग अभिरंजक को 4 भाग आसुत पानी से तनु करके)
- सोडियम क्लोराइड, 0.85 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 53)।
- मिथेनॉल

विधि

1. एक साफ स्लाइड पर सोडियम क्लोराइड घोल में मल का एक पतला स्मीयर बनाएं।
2. स्मीयर सूख जाने पर स्लाइड को 3 मिनट तक मिनट मिथेनॉल में भिगोकर स्मीयर को फिक्स करें।
3. मिथेनॉल को बहा दें।
4. पिपेट की मदद से 1 मि.ली. फील्ड अभिरंजक 'ख' स्लाइड पर डालें। इसके बाद 1 मि.ली. अभिरंजक 'क' डालें।
5. स्लाइड को झुका-झुकाकर अभिरंजकों को अच्छी तरह मिलाएं और 1 मिनट तक अभिरंजित होने दें।
6. स्लाइड को पानी से धोकर हवा में सूखने दें।
7. X100 ऑइल इमर्शन ऑब्जेक्टिव की मदद से स्लाइड का अवलोकर करें। स्मीयर को पूरा देखें, खासकर किनारों पर।

   जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस के फ्लेजिला नीले और केंद्रक लाल अभिरंजित होते हैं। *जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस* के सिस्ट भी नीले और उनके केंद्रक लाल अभिरंजित होते हैं।

टीप:

- ताज़ा बने अभिरंजकों को उपयोग से पहले तीन दिन तक रखा रहने दें।
- यदि स्थानीय कुएं का पानी बहुत खारा हो तो अभिरंजक बनाने के लिए बारिश के पानी का उपयोग करें।
- अभिरंजक घोलों के जार को ढंककर रखें ताकि वाष्पन न हो और उनमें धूल न गिरे।
- एक अभिरंजक घोल को दूसरे में मिलने से बचाएं।

मल के ट्रोफोज़ॉइट और सिस्ट के लिए ईओसिन अभिरंजन

सामग्री व अभिकारक

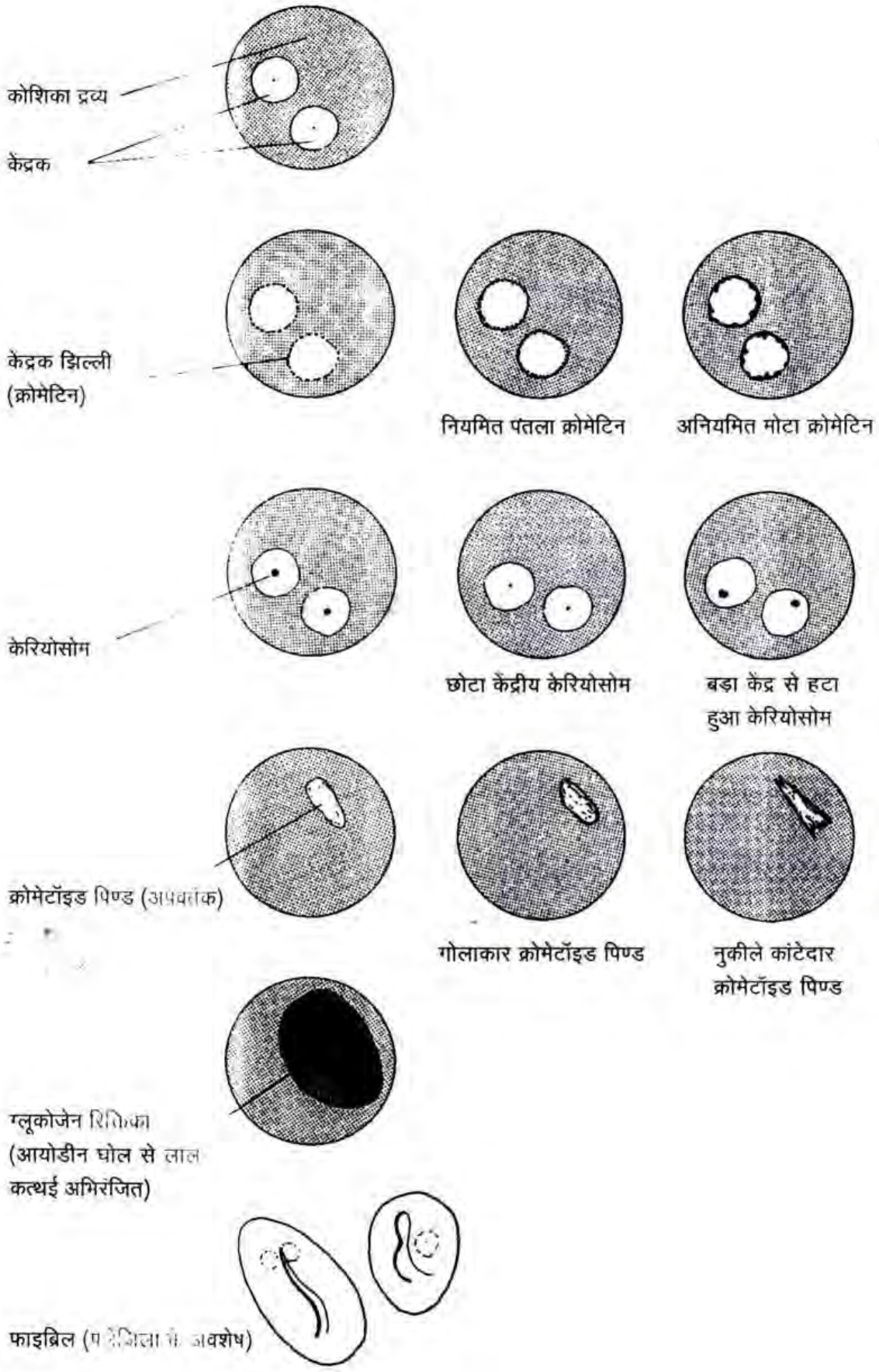
- सूक्ष्मदर्शी
- सूक्ष्मदर्शी स्लाइड्स
- स्लाइड रैक
- कवर स्लिप्स
- ईओसिन, 1 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 23)

विधि

1. एक साफ स्लाइड पर थोड़े से मल को 1 प्रतिशत ईओसिन घोल में मिला लें। इसे लगभग 2 से.मी. x 1 से.मी. क्षेत्र में फैला लें।
2. स्लाइड पर कवर स्लिप रखकर उसे सूक्ष्मदर्शी के मंच पर रखें।
3. X10 ऑब्जेक्टिव की मदद से स्मीयर का सिलसिलेवार अवलोकन करें और ट्रोफोज़ॉइट व सिस्ट देखें। ये अभिरंजन-मुक्त होंगे। ज़्यादा बारीकी से देखने के लिए X40 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करें।

   ईओसिन अभिरंजक एक गुलाबी पृष्ठभूमि तैयार कर देता है जिसमें अभिरंजन-मुक्त सिस्ट व ट्रोफोज़ॉइट साफ़ देखे जा सकते हैं।

   टीप: यदि 1 प्रतिशत ईओसिन घोल उपलब्ध न हो, तो फील्ड अभिरंजक 'ख' की एक बूंद से काम चलाएं।



चित्र 10.24 आंतों के प्रोटोज़ोआ की पहचान के लक्षण

सिस्ट की पहचान

सिस्ट आंतों में पाए जाने वाले कुछ अमीबा, फ्लेजिलेट्स और सिलिएट्स का प्रतिरोधी रूप हैं। ये छोटी और गतिहीन होती हैं तथा इनमें एक या एक से अधिक केंद्रक हो सकते हैं।

सिस्ट का मापन प्रजाति की पहचान में उपयोगी होता है।

सिस्ट का महत्व

चिकित्सा की दृष्टि से सिस्ट का महत्व अलग-अलग देश में अलग-अलग होता है। सिस्ट जीव का संक्रामक रूप है। स्वस्थ व्यक्ति के शरीर में सिस्ट हो सकती है मगर रोग के लक्षण अनुपस्थित हो सकते हैं। ऐसे वाहक व्यक्ति जन स्वास्थ्य के लिए खतरा होते हैं।

प्रयोगशाला में *एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका*, *जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस* और *बिलेन्टिडियम कोली* की सिस्ट की पहचान एक बड़ी समस्या होती है। इन व कुछ अन्य प्रोटोज़ोआ जीवों की सिस्ट की पहचान में उपयोगी लक्षण चित्र 10.24 में चित्रित किए गए हैं।

अमीबा सिस्ट की पहचान

एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका (चित्र 10.25)

साइज़: 12-15 माइक्रोमीटर (1-2 एरिथ्रोसाइट के बराबर)।

आकृति: गोल।

केंद्रक: 1-4 केंद्रक।

झिल्ली: पतली, नियमित, गोल।

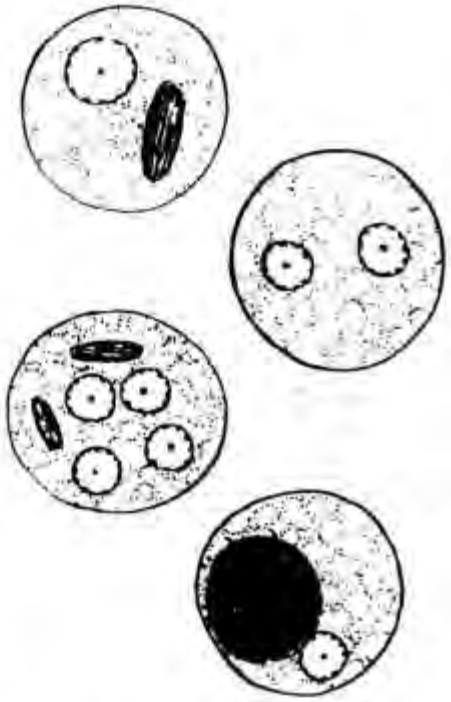
केरियोसोम: छोटा, सघन, बीचोंबीच (काले धब्बे जैसा)

कोशिका द्रव्य: आयोडीन घोल से अभिरंजन करने पर पीला-भूरा, कणदार, 'गंदला' दिखता है।

क्रोमेटॉइड पिण्ड: बेलनाकार, सिरे से गोल (सॉसेजनुमा), सब सिस्ट में नहीं पाया जाता।

रिक्तिका: कभी-कभी एक-दो केंद्रक वाली नई सिस्ट में एक बड़ी ग्लायकोजन रिक्तिका (आयोडीन घोल से लाल-कत्थई, अभिरंजित होती है)।

एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका पेचिश पैदा कर सकता है। कोई बीमारी पैदा न करने वाले अन्य अमीबा की सिस्ट पहचानना कठिन होता है। खास बात यह है कि उनमें और एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका की सिस्ट के बीच भेद किया जाए।



चित्र 10.25 एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका सिस्ट

एण्टअमीबा कोली (चित्र 10.26)

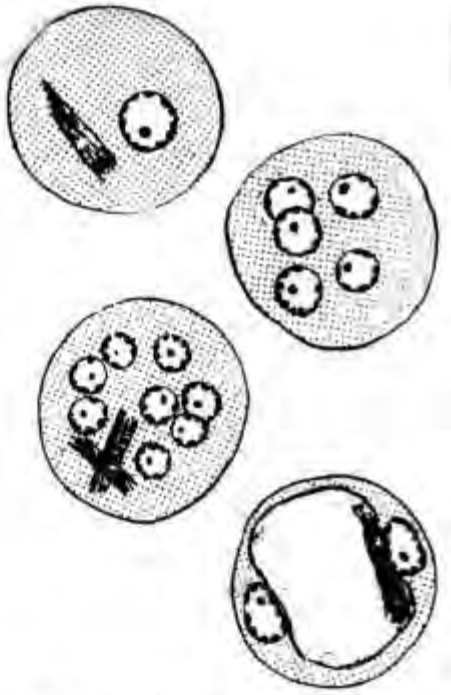
साइज़: 12-20 माइक्रोमीटर (1-2 एरिथ्रोसाइट के बराबर, *हिस्टोलिटिका* की सिस्ट से थोड़ी बड़ी)।

आकृति: गोल या थोड़ी अण्डाकार, कभी-कभी अनियमित।

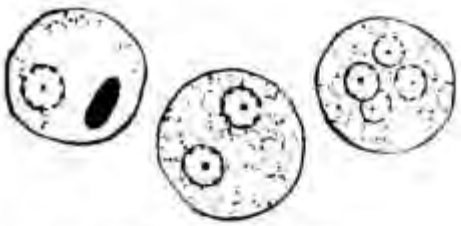
केंद्रक: 1-8 केंद्रक

झिल्ली: अनियमित, कुछ हिस्सों में मोटी, एकदम गोल नहीं।

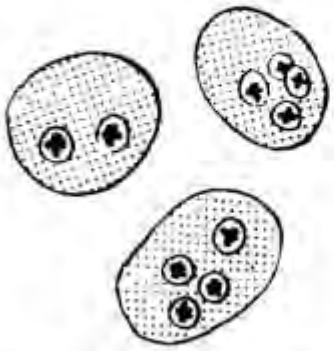
केरियोसोम: बड़ा, धुंधला, प्रायः केंद्रक से हटकर।



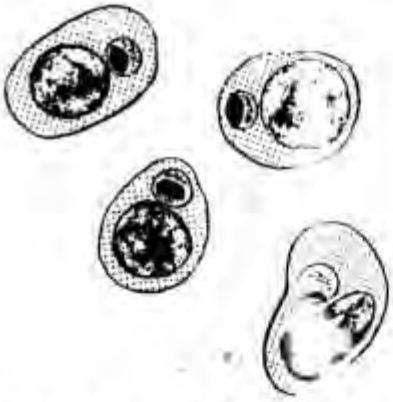
चित्र 10.26 एण्टअमीबा कोली सिस्ट



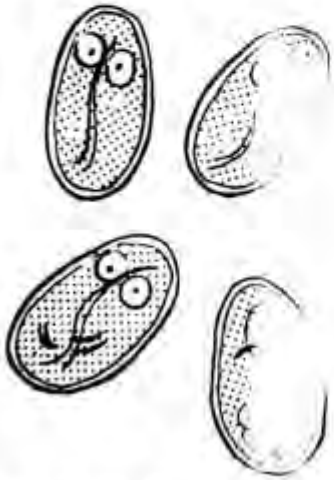
चित्र 10.27 एण्टअमीबा हार्टमैनी सिस्ट



चित्र 10.28 एण्डोलाइमैक्स नैनस सिस्ट



चित्र 10.29 आयोडेमीबा बुट्शिली सिस्ट



चित्र 10.30 जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस सिस्ट

कोशिका द्रव्य: आयोडीन घोल से अभिरंजन करने पर हल्का पीला, *हिस्टोलिटिका* की अपेक्षा चमकीला।

क्रोमेटॉइड पिण्ड: नुकीले या कटीले सिरे (छुरी या सुई नुमा), सभी सिस्ट में नहीं होते।

रिक्तिकाएं: कभी-कभी एक बहुत बड़ी रिक्तिका (आयोडीन घोल से लाल-कत्थई अभिरंजित) जो दोनों सिरों पर एक-एक केंद्रक को दबाए रहती है।

एण्टअमीबा हार्टमैनी (चित्र 10.27)

साइज़: 4-8 माइक्रोमीटर (एरिथ्रोसाइट्स के बराबर व्यास)।

केंद्रक: 1-4 केंद्रक, *एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका* के समान।

एण्डोलाइमैक्स नैनस (चित्र 10.28)

साइज़: 8-10 माइक्रोमीटर।

आकृति: कमोबेश अण्डाकार।

केंद्रक: 1-4 केंद्रक।

झिल्ली: नहीं दिखती।

केरियोसोम: बड़ा, रूपरेखा अनियमित।

कोशिका द्रव्य: साफ, कण विहीन, आयोडीन घोल से पीला अभिरंजित होता है।

आयोडेमीबा बुट्शिली (चित्र 10.29)

साइज़: 8-10 माइक्रोमीटर।

आकृति: विविध (गोल, अण्डाकार या अनियमित)।

केंद्रक: लगभग सदैव एक ही केंद्रक।

झिल्ली: नहीं दिखती।

केरियोसोम: बहुत बड़ा, अण्डाकार, कणों के झुण्ड में धंसा हुआ।

रिक्तिका: एक बहुत बड़ी ग्लायकोजन रिक्तिका (आयोडीन घोल से लाल-कत्थई अभिरंजित होती है, इसी से नाम आयडेमीबा पड़ा है)। रिक्तिका कभी-कभी आधी सिस्ट में फैली होती है।

डाइएण्टअमीबा फ्रेजिलिस

यह सिस्ट रूप में नहीं पाया जाता।

फ्लेजिलेट्स की सिस्ट की पहचान

जियार्डिया इंटेस्टिनेलिस (चित्र 10.30)

साइज़: 8-12 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, एक सिरा दूसरे से अधिक गोल।

खोल: अक्सर मोटी व दो दीवार वाली दिखती है। दूसरी दीवार दरअसल कोशिका द्रव्य की झिल्ली होती है।

केंद्रक: 2-4 अण्डाकार केंद्रक (साफ नहीं दिखते)।

झिल्ली: बहुत महीन।

केरियोसोम: छोटा, बीचोंबीच, हल्का रंग।

कोशिका द्रव्य: साफ, बगैर अभिरंजन के चमकता है, आयोडीन घोल से

अभिरंजन करने पर हल्का हरा-पीला या नीला-सा होता है।

फाइब्रिल: चमकीला, बाल जैसी लकीर, दोहरी तह किया हुआ या S आकृति में, सिस्ट के बीच लम्बाई के समान्तर रखा होता है (सूक्ष्मदर्शी को एडजस्ट करके देखें)।

काईलोमेस्टिक्स मेसनिली (चित्र 10.31)

साइज़: 6-8 माइक्रोमीटर।

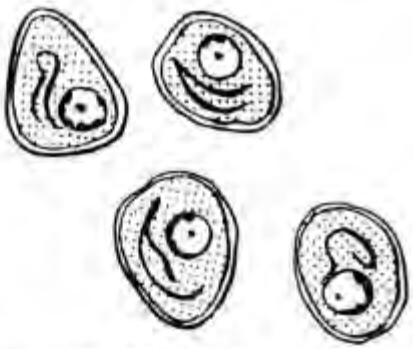
आकृति: गोल, एक सिरा पतला (नाशपाती जैसा)

केंद्रक: एक, बड़ा केंद्रक।

झिल्ली: साफ दिखती है, बीच-बीच में मोटी।

केरियोसोम: छोटा व बीचोंबीच।

फाइब्रिल: ऐंठा हुआ, घुंघराले बाल जैसा।



चित्र 10.31 चिलोमेस्टिक्स मेसनिली सिस्ट

सिलिएट्स की सिस्ट की पहचान

बैलेण्टिडियम कोली (चित्र 10.32)

साइज़: 50-70 माइक्रोमीटर (*एस्केरिस लुम्ब्रिकाईड्स* के अण्डे के बराबर)।

आकृति: गोल।

खोल: पतली, दोहरी दीवार वाली।

केंद्रक: एक छोटे केंद्रक के बाजू में एक बड़ा सेम के आकार का केंद्रक।

कोशिका द्रव्य: कणदार, हरा-सा, अन्तर्वेशी पिण्डों से भरा हुआ।

अक्सर इसके अंदर ट्रोफ़ोज़ॉइट रूप हल्का-सा दिखता है।

चित्र 10.32 बैलेण्टिडियम कोली सिस्ट

कॉक्सिडिया (चित्र 10.33)

कॉक्सिडिया प्रोटोज़ोआ हैं जो मनुष्य में परजीवी हो सकते हैं (मगर इनकी कोई खास रोगकारी क्रिया नहीं होती) या संक्रमित भोजन (मछली, खरगोश वगैरह) का सेवन करने पर मल में तात्कालिक रूप से उपस्थित हो सकते हैं। मल में ये सिस्ट जैसे रूप में दिखाई पड़ते हैं (और इन्हें ऊसिस्ट या स्पोरोसिस्ट कहते हैं)।

साइज़: 15-20 माइक्रोमीटर, प्रजाति के अनुसार बदलती है।

आकृति: लम्बा अण्डाकार, कभी-कभी एक सिरा पतला होता है।

रंग: रंगहीन या पारदर्शी (या कभी-कभी हल्का पीला)।

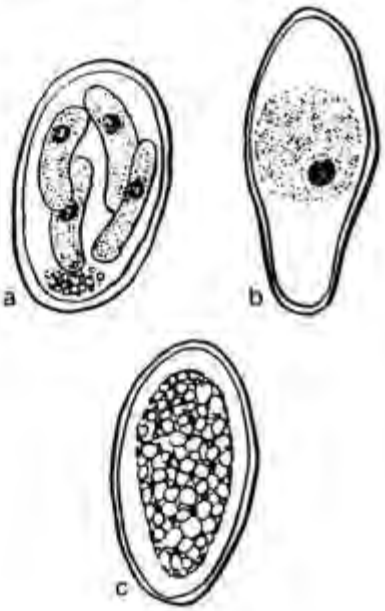
खोल: काफी स्पष्ट दोहरा अस्तर, कभी-कभी एक सिरे पर एक ढक्कन (ओपरक्यूलम) पाया जाता है।

कॉक्सिडिया तीन प्रकार के होते हैं (चित्र 4.33) :

क. चार स्पोरोज़ॉइट (छोटी केले जैसी छड़ें) वाले, प्रत्येक में एक केंद्रक होता है, कभी-कभी एक सिरे पर कुछ बड़े-बड़े कणों का झुण्ड होता है।

ख. एक बड़ी, गोल कणदार कोशिका वाले।

ग. चमकीले कणों वाले, ये कण पूरी जगह घेरे होते हैं।



चित्र 10.33 कॉक्सिडिया के प्रकार

क. जिसमें चार स्पोरोज़ॉइट होते हैं और कभी-कभार एक ध्रुव पर थोड़े से बड़े-बड़े कण होते हैं

ख. जिसमें एक बड़ी कणदार गोल कोशिका होती है

ग. जिसमें अपवर्तक कण होते हैं जो अंदर की पूरी जगह में भरे होते हैं

सिस्ट की सूक्ष्मदर्शीय जांच

सैलाइन गीला माउण्ट

सिस्ट को एक भूरी पृष्ठ भूमि में पारदर्शी चमकीले बुलबुलो के रूप में स्पष्ट देखा जा सकता है। इनकी सुस्पष्ट खोल (शेल) होती है।

X40 ऑब्जेक्टिव की मदद से ऐसी गोल चमकीली चीजों की तलाश कीजिए जिनका व्यास 1-3 एरिथ्रोसाइट्स के बराबर हो।

क्रोमेटाइड पिण्ड

क्रोमेटॉइड पिण्ड (छड़नुमा रचनाएं) भी खोजिए। क्रोमेटॉइड पिण्ड आयोडीन घोल की अपेक्षा सैलाइन माउण्ट में ज्यादा स्पष्ट नज़र आते हैं। ये पिण्ड काफी अलग ही दिखते है और *एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका* तथा *एण्टअमीबा कोली* की सिस्ट में पाए जाते है। *एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका* की छड़नुमा रचनाओं के सिरे गोलाकार बोथरे होते हैं जबकि *एण्टअमीबा कोली* में इन रचनाओं के सिरे नुकीले होते हैं। ये क्रोमेटॉइड पिण्ड *एण्टअमीबा हिस्टोलिटिका* की अपेक्षा *एण्टअमीबा कोली* में कम दिखते हैं।

केंद्रक

सेलाइन माउण्ट में केंद्रक साफ नही दिखते मगर आयोडीन घोल में स्पष्ट दिखते हैं। अमीबा की प्रजातियों के बीच भेद करने में केंद्रक का बहुत महत्व है। इसलिए यदि सेलाइन माउण्ट में सिस्ट (या सिस्टनुमा पिण्ड) दिखें तो आयोडीन माउण्ट की जांच ज़रूर करें।

मापन

सही पहचान के लिए सिस्ट का सटीक मापन आवश्यक है। जो भी सिस्ट दिखे उसे नापिए. यदि संभव हो तो आई पीस में लगे केलिब्रेटेड ग्रेटिक्यूल का उपयोग कीजिए ।

आयोडीन का गीला माउण्ट

आयोडीन माउण्ट का उपयोग अमीबा और फ्लेजिलेट्स की सिस्ट देखने के लिए किया जाता है। सिस्ट को X10ऑब्जेक्टिव की मदद से देखा जा सकता है। सिस्ट के गुणधर्म देखने, उनका मापन करने और सही पहचान करने के लिए X40 ऑब्जेक्टिव का उपयोग कीजिए।

आयोडीन से सिस्ट के कोशिका द्रव्य पीले या हल्के कत्थई अभिरंजित होते हैं। जब एण्टअमीबा प्रजातियों की सिस्टों को आयोडीन से अभिरंजित किया जाता है तो परिधीय (किनारे के) क्रोमेटिन की जमावट और केरियोसोम की स्थिति देखी जा सकती है। (यदि परिधीय क्रोमेटिन उपस्थित नही है तो वह सिस्ट एण्टअमीबा प्रजाति की नहीं है)। ये परिधीय क्रोमेटॉइड पिण्ड हल्के पीले अभिरंजित होते है और शायद बहुत स्पष्ट न हों। कभी कभी नव-निर्मित सिस्ट में ग्लायकोजन होता है; यह आयोडीन के साथ गहरा कत्थई अभिरंजित होते हैं। फ्लेजिलेट सिस्ट को आयोडीन से अभिरंजित करने पर तंतु (फाइब्रिल्स) देखने में मदद मिलती है।

मल के एक ही नमूने में कई अलग-अलग प्रजातियों की सिस्ट देखने को मिल सकती है।

सांद्रण

ज़्यादा पक्की पहचान के लिए ज़्यादा संख्या में सिस्टों का अवलोकन करने के लिए जरूरी हो तो फार्मेल्डिहाइड-ईथर तलछटीकरण तकनीक का उपयोग करें।

क्रिप्टोस्पोरिडियम प्रजातियों के ऊसिस्ट के अभिरंजन हेतु संशोधित ज़ीएल-नीलसन तकनीक

क्रिप्टोस्पोरिडियम प्रजातियों के संक्रमण से बुखार, पेट में मरोड़, दस्त व वज़न में कमी जैसे लक्षणो के साथ इस्नोफिलिया होता है। गंभीर मामलों में अवशोषण में गड़बड़ी जैसे लक्षण भी पैदा हो सकते हैं।

क्रिप्टोस्पोरिडिओसिस बच्चों में दस्त पैदा करता है जो स्व-नियंत्रित होते हैं। प्रतिरोध क्षमता की कमी वाले वयस्कों में यह जीर्ण दस्त का जाना-माना कारण है। जैसे एड्स पीडित मरीज़ों में। जीर्ण दस्त और वज़न में कमी वाले मरीज़ो मे कोई अन्य कारण न होने की स्थिति में क्रिप्टोस्पोरिडिओसिस की संभावना पर विचार करना चाहिए।

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- सूक्ष्मदर्शी स्लाइड्स
- स्लाइड रैक
- पेट्री डिश
- कपास
- सोडियम क्लोराइड, 0.85 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 53)
- फार्मेल्डिहाइड, 37 प्रतिशत घोल (फॉर्मेलिन)।
- कार्बोल फुकसिन ज़ीएल नीलसन अभिरंजक हेतु (अभिकारक क्र. 16)
- एसिड-इथेनॉल ज़ीएल नीलसन अभिरंजक हेतु (अभिकारक क्र. 5)
- मेलेकाइट ग्रीन 1 प्रतिशत घोल (देखें अभिकारक क्र. 31)
- मिथेनॉल

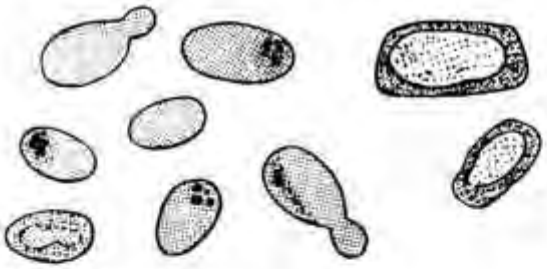
चित्र 10.34 क्रिप्टोस्पोरिडियम के ऊसिस्ट

विधि

1. एक साफ स्लाइड पर थोड़े से मल को सैलाइन के साथ मिलाए। लगभग 2 से.मी. X 1से.मी. के बराबर फैला दें।
2. विशुद्ध मिथेनॉल में फिक्स करने से पहले स्मीयर को 5 मिनट सूखने दे। यदि मरीज़ एच.आई.वी. संक्रमित है या इसकी आशंका है तो स्मीयर को 15 मिनट तक फॉर्मेलिन की बाष्प में फिक्स करे। इसके लिए एक पेट्री डिश में फॉर्मेलिन में भीगा कपास रखें और स्लाइड को पेट्री डिश में 15 मिनट तक रखें।
3. स्लाइड को 5 मिनट तक कार्बोल फुकसिन में डुबोकर रखें। बाद में अभिरंजक को पानी से धो दें।
4. स्लाइड पर एसिड-इथेनॉल घोल भर दें। इस तब तक रखा रहने दीजिए जब तक कि हल्का गुलाबी न हो जाए। स्लाइड को पानी से धो लीजिए।
5. स्लाइड को 2 मिनट तक मेलेकाइट ग्रीन घोल में प्रति-अभिरंजित कीजिए। पानी से धोकर पानी निथारने व सूखने के लिए रैक पर रख दीजिए।

   X40ऑब्जेक्टिव की मदद से स्लाइड को सूक्ष्मदर्शी में देखिए।

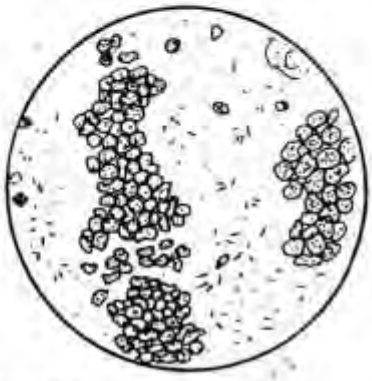
   इस विधि से अभिरंजित क्रिप्टोस्पोरिडियम के ऊसिस्ट हल्के गुलाबी से लेकर गहरे लाल तक अभिरंजित होते हैं। ऊसिस्ट की साइज 4-6 माइक्रोमीटर होती है। ऊसिस्ट के अंदर उपस्थित स्पोरोज़ाइट का एक बाहरी घेरा होता है जो गहरे अभिरंजित पदार्थ का होता है और हल्के रंग का केंद्रीय भाग होता है (देखें चित्र 10.34)। इस आधार पर ऊसिस्ट और कुछ खमीर (यीस्ट) कोशिकाओं के बीच अंतर किया जा सकता हैं, खमीर कोशिकाएं भी लाल अभिरंजित होती है मगर पूरी कोशिका एकसार अभिरंजित होती है।



चित्र 10.35 फफूंद

चित्र 10.36 ब्लास्टोसिस्टिस होमिनिस

चित्र 10.37 ल्यूकोसाइट्स



चित्र 10.38 मवाद

टीप: क्रिप्टोस्पोरिडियम प्रजातिया परजीवियों के एक समूह की सदस्य हैं जिसे कॉक्सिडिया कहते है (देखें पृष्ठ 112)।

इस समूह के अन्य परजीवी है:

- *आइसोस्पोरा बेल्ली*
- *टॉक्सोप्लाज़्मा गोण्डाई*
- *प्लाज़्मोडियम प्रजातियां*

क्रिप्टोस्पोरिडियम मे ऊसिस्ट संक्रमणनाशी पदार्थों के खिलाफ काफी प्रतिरोधी होते हैं।

वे चीज़ें जिन्हें सिस्ट समझने की भूलहो जाती है

फफूंद (चित्र 10.35)

साइज़: 5-8 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, अक्सर कलिकाओं के साथ।

रंग: आयोडीन घोल से अभिरंजन के बाद लाल-कत्थई।

अंदर का पदार्थ: 3-6 कणों का एक झुण्ड केंद्र से हटकर। फफूंद के कुछ रूप (आर्थोस्पोर्स) आयताकार होते हैं और इनमे अदर एक स्पष्ट अण्डाकार कोशिका द्रव्य होता है।

ब्लास्टोसिस्टिस होमिनिस (खमीर) (चित्र 10.36)

साइज़: 5-20 माइक्रोमीटर (औसतन 10 माइक्रोमीटर)।

आकृति: गोल या अण्डाकार, कभी-कभी अनियमित, नुकीले किनारे।

रंग: बगैर अभिरंजन के अत्यंत चमकीले, आयोडीन घोल से रिक्तिका अभिरंजित नही होती मगर परिधि हल्की पीली।

अंदर का पदार्थ: एक बडी रिक्तिका जो लगभग पूरी कोशिका को घेर लेती है; पिचका हुआ कोशिका द्रव्य इसके आसपास एक कणदार छल्ले के रूप में होता है।

कुछ चिकित्सक आग्रह करते हैं कि खासकर बच्चो के मल के नमूने में *ब्लास्टोसिस्टिस होमिनिस* की उपस्थिति को रिपोर्ट किया जाए।

सफेद रक्त कोशिकाएं (ल्यूकोसाइट्स) (चित्र 10.37)

साइज़: 10-20 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल या थोड़ी लम्बी, अनियमित रूपरेखा।

केंद्रक: अस्पष्ट, कभी-कभी एक तारे की आकृति वाले झूठे केरियोसोम के साथ।

अंदर का पदार्थ: चमकीला कोशिका द्रव्य, कई साफ व कणदार रिक्तिकाएं।

मवाद (चित्र 10.38)

मवाद नंगी आंखों से अपारदर्शी भूरी धारियों जैसा दिखता है (यह श्लेष्मा जैसा पारदर्शी नहीं होता)। सूक्ष्मदर्शीसे देखने पर यह विघटित ल्यूकोसाइट्स के ढेर जैसा दिखता है।

मवाद की उपस्थिति रिर्पोट की जानी चाहिए क्योंकि यह संक्रमण का लक्षण है।

6 आंतो के कृमि

कृमि संक्रमण से कई शारीरिक लक्षण प्रकट होते हैं। जैसे पेट में मरोड़, बुखार, वजन घटना, उल्टियां, अपेण्डिसाइटिस, रक्त की क्षति, एनीमिया और इस्नोफिलिया। चिकित्सा के लिहाज़ से कृमि तीन मुख्य प्रकार के होते है:

- निमेटोड्स (गोल कृमि)
- सेस्टोड्स (फीता कृमि)
- ट्रिमेटोड्स (फ्लूक्स)

कृमि संक्रमण का पता आम तौर पर अण्डों व इल्लियों की उपस्थिति के आधार पर किया जाता है। कभी-कभी वयस्क कृमि की उपस्थिति से भी संक्रमण का निदान किया जाता है (जैसे *एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स, एण्टरोबियस वर्मिक्यूलेरिया*)। इसके अलावा वयस्क कृमि के शरीर के खण्ड (प्रोग्लोटिड्स) की उपस्थिति से भी निदान किया जाता है (जैसे *टीनिया सेजिनेटा* और *टीनिया सोलियम*)। अलबत्ता, अधिकांश कृमि संक्रमण के निदान हेतु अण्डों को देखा जाता है।

अण्डों की पहचान

कृमियों के अण्डों को पहचानने के लिए निम्नलिखित गुणधर्मों का उपयोग किया जाता है:

साइज़

लम्बाई व चौड़ाई नापी जाती हैं। ये अक्सर एक विशिष्ट रेंज में होती हैं।

आकृति

प्रत्येक प्रजाति के अण्डों की विशेष आकृति होती है।

मलत्याग के समय विकास की अवस्था

कुछ प्रजातियों के अण्डों में एक ही कोशिका होती है, कुछ में कई कोशिकाएं होती हैं जबकि कुछ अण्डे भ्रूणावस्था तक पहुंच चुके होते हैं अर्थात उनमें इल्ली होती है।

कभी-कभी, यदि मल का नमूना 1-2 दिन पुराना हो तो, अण्डों का विकास और आगे की अवस्था तक हो जाता है। मल त्याग के समय *एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स* (गोल कृमि) के अण्डे में एक ही कोशिका होती है; अलबत्ता, इस एक कोशिका में विभाजन हो सकता है और 12 घण्टे पुराने नमूने में दो या चार कोशिका वाले अण्डे नज़र आ सकते हैं।

कई घण्टों से रखे नमूनों में *एन्कायलोस्टोमाडुओडिनेल* या *नेकेटर अमेरिकैनस* (अंकुश कृमि -हुकवर्म) के अण्डों में 16, 32 या उससे भी ज़्यादा कोशिकाएं हो सकती है। 12-24 घण्टों में अण्डे में भ्रूण विकसित हो सकता है तथा कुछ और समय बाद इल्ली निकल सकती है।

कृमियों के अण्डों के विकास की अवस्थाएं देखते समय यह ध्यान रखें कि मल का नमूना ताज़ा हो। यदि नमूना कुछ घण्टे या एक दिन पुराना है तो कुछ प्रजातियों के अण्डों में विकास की अवस्था में परिवर्तन हुआ मिल सकता है। आदर्श स्थिति में तो कृमि की जांच के लिए ताज़ा नमूना ही स्वीकार करना चाहिए।

अण्डे के खोल की मोटाई

एस्केरिस लुम्ब्रिकाइड्स जैसे कुछ कृमियों के अण्डो की खोल मोटी होती है जबकि *एन्कायलोस्टोमाडुओडिनेल* या *नेकेटर अमरिकैनस* के अण्डों की खोल पतली होती है।

रंग

एन्कायलोस्टोमाडुओडिनेल, नेकेटर अमेरिकैनस और *एन्टरोबियस वर्मिक्यूलेरिस* जैसी प्रजातियों के अण्डे रंगहीन होते हैं जबकि *एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स* और *ट्राइकुरिस ट्राइकुरा* के अण्डे पीले या कत्थई होते हैं।

अन्य गुणधर्म

ढक्कन (ओपरकुलम), कांटों, प्लग्स, अंकुश या मेमेलिएटेड बाहरी आवरण से भी पहचान में मदद मिलती है।

यदि अण्डे या अण्डे जैसी कोई चीज़ नज़र आए, तो उपरोक्त गुणधर्मों को ध्यान से देखना चाहिए ताकि विशिष्ट पहचान की जा सके। कभी कभार असामान्य या विकृत अण्डे भी दिखाई पड़ते हैं। ऐसे मामलो में यह ज़रूरी होता है कि और अधिक सामान्य रूप के अण्डे खोजकर भरोसेमंद निदान किया जाए। यह याद रखें कि एक ही मरीज़ में एक से अधिक कृमि पाए जा सकते हैं।

अण्डों की नपाई

- *1 माइक्रोमीटर उ 0.001मि.मी.*

इस मैनुअल में अण्डों की साइज़ का जो आंकड़ा दिया गया है वह उसकी लम्बी वाली भुजा का है।

- साइज़ का अनुमान एरिथ्रोसाइट (करीब 7.5-8 माइक्रोमीटर) से तुलना के आधार पर भी लगाया जा सकता है।
- सूक्ष्मदर्शी फील्ड के सापेक्ष भी साइज़ का आकलन किया जा सकता है:
  - यदि X10 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करें तो अण्डे फील्ड का करीब दसवां भाग घेरते हैं।
  - यदि X40 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करें तो अण्डे फील्ड का करीब एक तिहाई भाग घेरते हैं।
  - सूक्ष्मदर्शी के आईपीस में एक माइक्रोमीटर पैमाने वाली स्लाइड लगाकर भी अण्डों को नापा जा सकता है। X10ऑब्जेक्टिव और X40 आई पीस का उपयोग करने पर इस पैमाने का एक खण्ड 1माइक्रोमीटर के बराबर होता है।
- साइज नापने का एक और तरीका यह हो सकता है कि उस इलाके में पाए जाने वाले किसी आम कृमि (जैसे *एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स*) के अण्डे से तुलना की जाए बशर्ते कि उस अण्डे की साइज़ ज्ञात हो।

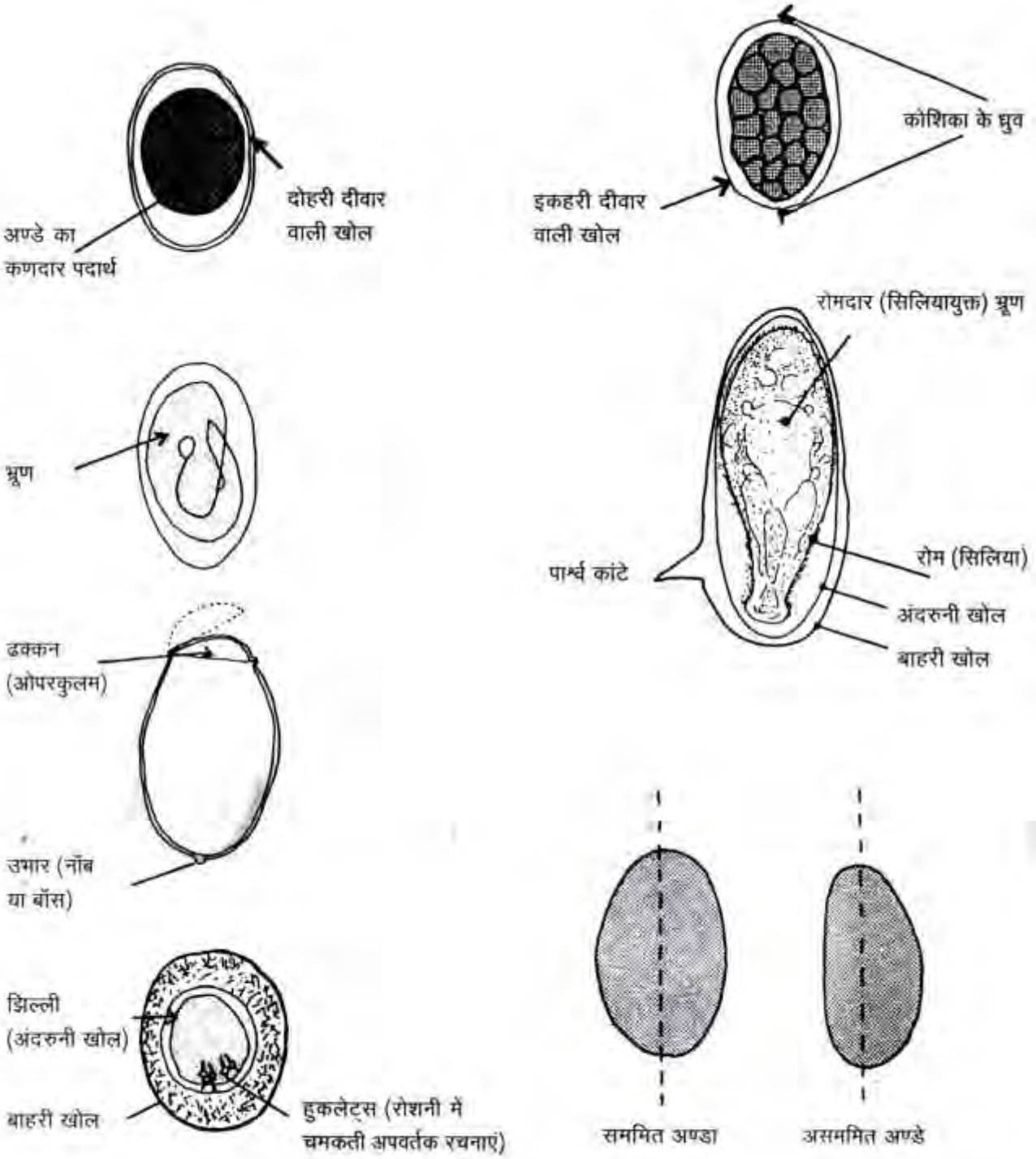
अण्डो को कैसे पहचानें

इसके लिए निम्न विधि सुझाई जा रही है:

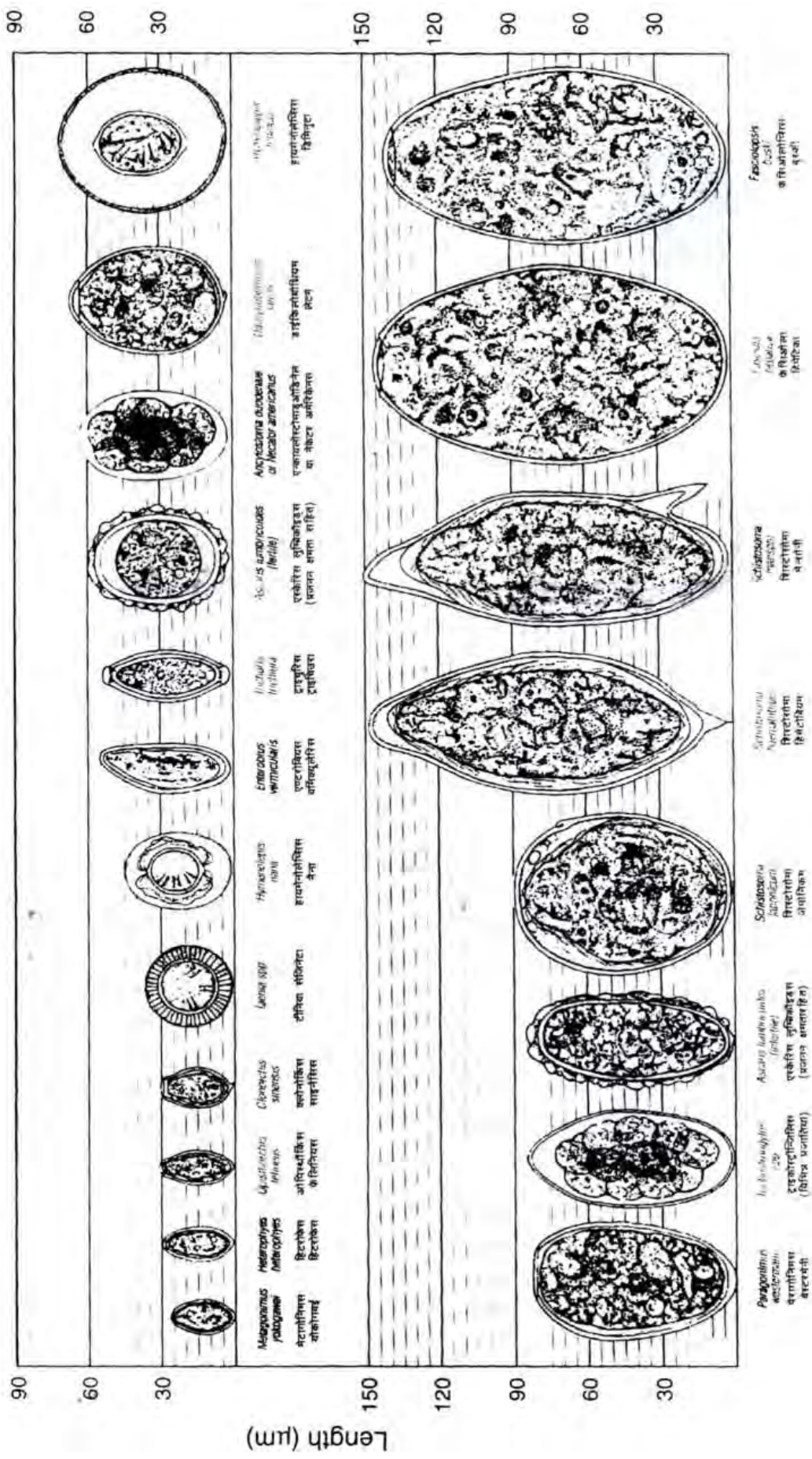
- सामान्य शक्ल सूरत से अण्डे की संभावित पहचान तय कीजिए।
- फिर अण्डे के समस्त गुणधर्मों का व्यवस्थित अध्ययन करके उसकी पहचान की पुष्टि कीजिए। यदि संभव हो तो किसी प्रशिक्षक के मार्गदर्शन में अनुभव प्राप्त करने के लिए:
  - आपके इलाके में पाए जाने वाले विभिन्न अण्डों का अध्ययन कीजिए।
  - इस मैनुअल में वर्णित अण्डों के गुणधर्मों को एक-एक करके पहचानिए।

तालिका 10.3 में उन कृमियों की सूची दी गई है जिनके अण्डे मल में मिलते हैं।

कृमियों के अण्डो को पहचानने में प्रयुक्त शब्द और उनकी पहचान की कुंजी क्रमशः चित्र 10.39 और 10.40 में दी गई हैं। चित्र 10.40 में विभिन्न कृमियों के अण्डो की तुलनात्मक साइज़ दी गई हैं।



चित्र 10.39 कृमियों के अण्डों की पहचान में प्रयुक्त शब्द



चित्र 10.40 विभिन्न कृमियों के अण्डों की तुलनात्मक साइज़

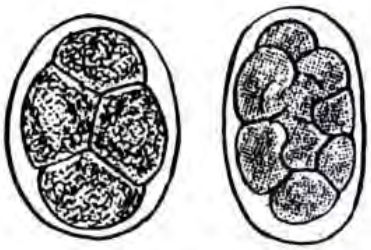
तालिका 10.3 कृमि जिनके अण्डे मल में पाए जाते हैं

वैज्ञानिक नाम	भौगोलिक वितरण
एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल	विश्वव्यापी
एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स	विश्वव्यापी
क्लोनोर्किस साइनेंसिस	दक्षिण पूर्वी एशिया
डिक्रोसिलीयम लेंसियोलेटम, डिक्रोसिलीयम हॉस्पेक्स	विश्वव्यापी
डाईफिलोबोथ्रियम लेटम	विश्वव्यापी
डाईपायलिडियम केनिनम	विश्वव्यापी
एण्टरोबियस वर्मिक्यूलेरिस	विश्वव्यापी
फेसिओला गायगेंटिका	विश्वव्यापी
फेसिओला हिपेटिका	विश्वव्यापी
फेसिओलोप्सिस बुस्की	पूर्वी व दक्षिण एशिया
हिटरोफेस हिटरोफेस	दक्षिण-पूर्वी एशिया, मध्य व पूर्वी भूमध्य सागर क्षेत्र
हायमेनोलेप्सिस डिमिनुटा	विश्वव्यापी
हायमेनोलेप्सिस नैना	विश्वव्यापी
मेटागोनिमस योकोगवई	पूर्वी व दक्षिण एशिया मध्य व पूर्वी यूरोप
नेकेटर अमेरिकेनस	विश्वव्यापी
ओपिस्थॉर्किस फेलिनियस	पूर्वी व दक्षिण एशिया, मध्य व पूर्वी यूरोप
पेरागोनिमस वेस्टरमेनी[i]	मध्य अफ्रीका, दक्षिण अमरीका, पूर्वी व दक्षिण एशिया
शिस्टोसोमा हिमेटोबियम[ii]	अफ्रीका, पूर्वी भूमध्य सागर क्षेत्र
शिस्टोसोमा इंटरकेलेटम	अफ्रीका
शिस्टोसोमा जेपोनिकम	पूर्वी व दक्षिण एशिया
शिस्टोसोमा मेन्सोनी	अफ्रीका (सहारा के दक्षिण मे), मध्य व दक्षिणी अमेरिका, केरेबियन
शिस्टोसोमा मेकॉन्गी	दक्षिण-पूर्वी एशिया
स्ट्रॉन्गालॉइडिस स्टरकोरेलिस[iii]	विश्वव्यापी
टीनिया सेजिनेटा	विश्वव्यापी
टीनिया सोलियम	विश्वव्यापी
ट्राइकोस्ट्रॉन्गाइलिस (विभिन्न प्रजातियां)	विश्वव्यापी एशिया
ट्राइकुरिस ट्राइकुरा	विश्वव्यापी

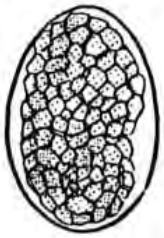
i *मुख्यतः खखार में मिलता है।*

ii *मुख्यतः पेशाब में मिलता है।*

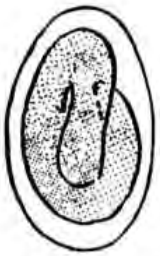
iii. *मल मे मुख्यतः इल्लियो के रूप मे मिलता है।*



चित्र 10.41 ताज़ा मल में एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल के अण्डे

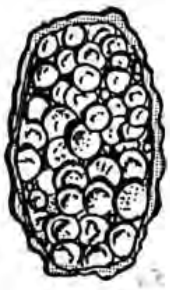


चित्र 10.42 कुछ घण्टे पुराने मल में एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल के अण्डे



चित्र 10.43 12-48 घण्टे पुराने मल में एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल के अण्डे

चित्र 10.44 एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स का दोहरी खोल वाला निषेचित अण्डा



चित्र 10.45 एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स का दोहरी खोल वाला अनिषेचित अण्डा

एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल

साइज़: 50-80 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, सिरे गोल व थोड़े चपटे (एक सिरा प्रायः थोड़ा अधिक चपटा होता है)।

खोल: बहुत पतली, एक काली लाइन जैसी दिखती है।

अंदर का पदार्थ: परिपक्वता की स्थिति के अनुसार बदलता है।

रंग: हल्का भूरा, आयोडीन घोल से अभिरंजन के बाद गहरा कत्थई।

किस्म A (ताज़ा मल में) (चित्र 10.41)

4, 8 या 16 भूरी कणदार कोशिकाएं साफ मगर चमकीली नहीं (ब्लास्टोमीयर्स)

किस्म B (कुछ घण्टे पुराने मल में) (चित्र 10.42)

कई सारी भूरी कणदार कोशिकाओं का एकसार पिण्ड।

किस्म C (12-48 घण्टे पुराने मल में) (चित्र 10.43)

पूरा अण्डा छोटी-छोटी एक-दूसरी से लिपटी हुई इल्लियों (जो आगे चलकर कृमि बनेंगी) से भरा होता है। यह भ्रूण अवस्था में पहुंच चुका अण्डा है।

एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स

एस्केरिस के अण्डे चार प्रकार के होते है:

1. निषेचित अण्डा, दोहरी खोल वाला
2. अनिषेचित अण्डा, दोहरी खोलवाला
3. सेमीडी-कार्टिकेटेड निषेचित अण्डे (कम पाए जाते है)
4. सेमीडी-कार्टिकेटेड अनिषेचित अण्डे (बहुत ही कम)

किस्म A: दोहरी खोल वाला निषेचित अण्डा (चित्र 10.44)

साइज़: 45-70 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार या कभी-कभी गोल।

खोल: दोनो खोल अलग-अलग दिखती हैं।

- बाहरी खोल खुरदुरी कत्थई होती है और छोटे-छोटे लोंदो से ढंकी होती है (मेमिलेटेड)।
- अंदरूनी खोल सपाट, मोटी और रंगहीन होती है।

अंदर का पदार्थ: एक अकेला गोल कणदार पिण्ड, बीचोबीच।

रंग: बाहरी खोल कत्थई और अंदर का पदार्थ रंगहीन या हल्का पीला।

किस्म B: दोहरी खोलवाला अनिषेचित अण्डा (चित्र 10.45)

साइज़: 45-90 माइक्रोमीटर (किस्म A से बड़ा)।

आकृति: किस्म A से अधिक लम्बा (अनियमित या परावलयाकार)

खोल: दोनों खोल स्पष्ट अलग-अलग नहीं होतीं

- बाहरी खोल कत्थई व फूली हुई, इस पर काफी खुरदरे लोंदे होते हैं।
- अंदरूनी खोल पतली होती है (एक या दो परतें दिख सकती हैं)।

अंदर का पदार्थ: अण्डा बड़े-बड़े गोल अत्यंत चमकीले दानों से भरा होता है।

किस्म C: सेमी-डीकार्टिकेटेड निषेचित अण्डा (चित्र 10.46)

किस्म A के समान मगर बाहरी खोल नही होती।

खोल: एक चिकनी, मोटी, रंगहीन (या हल्की पीली)।

अंदर का पदार्थ: एक गोल रंगहीन दानेदार पिण्ड।

किस्म D: सेमी-डीकार्टिकेटेड अनिषेचित अण्डा (चित्र 10.47)

खोल: एक चिकनी पतली रंगहीन (दोहरा अस्तर)

अंदर का पदार्थ: बड़ा, गोलीय, रंगहीन, चमकीले दाने।

सावधानी: किस्म D को *एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल, फेसिओला* प्रजातियां या *फेसिओलेप्सिस बुस्की* के अण्डे समझने की गलती न करे।

क्लोनॉर्किस साइनेन्सिस (चित्र 10.48)

साइज़: 25-45 माइक्रोमीटर।

आकृति: अनोखी, अलग पहचानी जाती है।

खोल: बढ़िया व चिकनी मगर बहुत मोटी (दोहरी परत)।

ढक्कन: अण्डे के संकरे भाग की ओर स्पष्ट दिखता है, खोल की फूली हुई रिम में फिट होता है।

बॉस: अण्डे के चौड़े भाग की ओर एक घुण्डी।

अंदर का पदार्थ: एक सुगठित सिलिया युक्त भ्रूण।

रंग: खोल पीली कत्थई, पदार्थ हल्का पीला।

डिक्रोसीलियम प्रजातियां

साइज़: 35-50 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, अपेक्षाकृत असममित (बेडौल)

खोल: मोटी चिकनी पीली नारंगी या हल्की कत्थई।

ढक्कन: आसानी से दिखता है।

किस्म A: सफर में अण्डा (सबसे अधिक पाया जाने वाला रूप) (चित्र 10.49)

खोल: पीली नारंगी या हल्की कत्थई।

अंदर का पदार्थ: एक अस्पष्ट गहरे पीले रंग का अण्डाकार पिण्ड, अक्सर 1-4 तक चमकीले बुलबुले होते है।

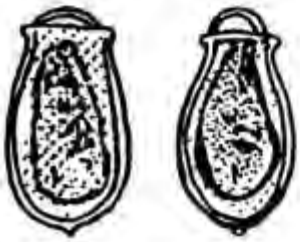
किस्म B: संक्रमित व्यक्ति से प्राप्त अण्डे (यदा-कदा पाए जाते हैं, चित्र 10.50)

खोल: एकरूप गहरी कत्थई।

अंदर का पदार्थ: एक सिलिया युक्त भ्रूण।

चित्र 10.45 एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स का सेमी-डीकार्टिकेटेड निषेचित अण्डा

चित्र 10.47 एस्केरिस लुम्ब्रिकॉइड्स का सेमी-डीकार्टिकेटेड अनिषेचित अण्डा



B

चित्र 10.48 क्लोनॉर्किस साइनेन्सिस अण्डा (B बॉस)

O

चित्र 10.49 डिक्रोसीलियम प्रजाति का सफर में अण्डा (O ओपरकुलम)

चित्र 10.50 सक्रमित व्यक्ति से प्राप्त डिक्रोसीलियम प्रजाति का अण्डा

चित्र 10.51 डाईफिलोबोथ्रियम लेटम का अण्डा (B बॉस, O ओपरकुलम)

डाईफिलोबोथ्रियम लेटम (चित्र 10.51)

साइज़: 55-80 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार।

खोल: चिकनी व मोटी।

ढक्कन: जब उठा हुआ न हो तो मुश्किल से दिखता है।

बॉस: बहुत छोटा ढक्कन से विपरीत सिरे पर।

अंदर का पदार्थ: एक केंद्रीय कोशिका के इर्द गिर्द कोशिकाओं का एक पुंज।

रंग: हल्का पीला।

ये तब नज़र आते हैं जब मरीज़ ने फ्लूक संक्रमित भेड़ या गाय का लीवर (कलेजी) खाया हो। फ्लूक के अण्डे पचते नहीं हैं और हालांकि ये मल में नज़र आते है मगर मरीज़ फ्लूक संक्रमित नहीं हुआ है। 5 दिन बाद इनकी जांच फिर से करें। मरीज़ से कहें कि इस बीच कलेजी या कलेजी से बनी चीज़ों का सेवन न करें।

चित्र 10.52 डाईपायलीडियम कैनिनम के अण्डे

डाईपायलीडियम कैनिनम (चित्र 10.52)

डाईपायलीडियम कैनिनम के अण्डे 6-20 के झुण्ड में एक पतली झिल्ली में बंद मिलते हैं।

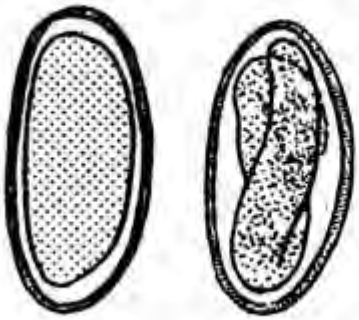
साइज़: 30-40 माइक्रोमीटर (झुण्ड 150-300 माइक्रोमीटर का होता है)।

आकृति: गोल।

खोल: मोटी, थोड़ी दानेदार, लकीरें नहीं होतीं।

अंदर का पदार्थ: एक एकसार दानेदार पिण्ड, तीन हुक पंखे की आकृति में जमे हुए।

रंग: पीला या हल्का भूरा।



चित्र 10.53 एन्टरोबियस वर्मीक्यूलेरिस के अण्डे

एन्टरोबियस वर्मीक्यूलेरिस (चित्र 10.53)

साइज़: 50-60 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार मगर स्पष्ट रूप से असममित (एक तरफ चपटा दूसरी तरफ गोल)।

खोल: चिकनी व पतली मगर दोहरी परत दिखती है।

अंदर का पदार्थ: या तो (क) एक अनियमित अण्डाकार दानेदार छोटे से पिण्ड के रूप में या (ख) कृमि का भ्रूण एक कुंडलित इल्ली के रूप में होता है।

रंग: रंगहीन।

एन्टरोबियस वर्मीक्यूलेरिस के अण्डे मल की अपेक्षा गुदा के आसपास की चमड़ी की तहों में ज़्यादा आसानी से मिलते हैं (आगे देखें)।

अण्डों का संग्रह करने व जांच की तकनीक

सिद्धांत

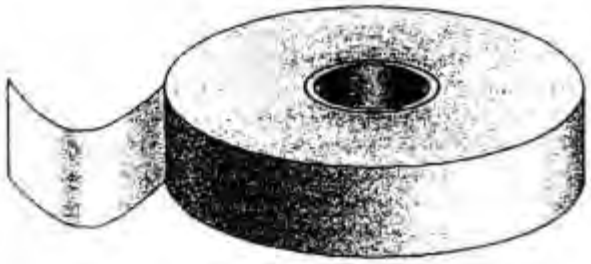
एन्टरोबियस वर्मीक्यूलेरिस (पिन कृमि) के अण्डे (खासकर बच्चो में) गुदा के आसपास की चमडी की तहों में से प्राप्त किए जाते हैं। ये मल में कभी-कमार ही नज़र आते हैं।

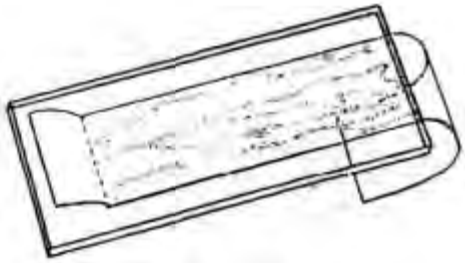
सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- सूक्ष्मदर्शी की स्लाइड्स
- परखनलियां
- पाश्चर पिपेट
- एडहेसिव टेप
- चम्मच 10 से.मी. या जीभ को दबाने के लिए लकड़ी का औज़ार
- कपास
- सोडियम क्लोराइड, 0.85 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 53)

विधि[1]

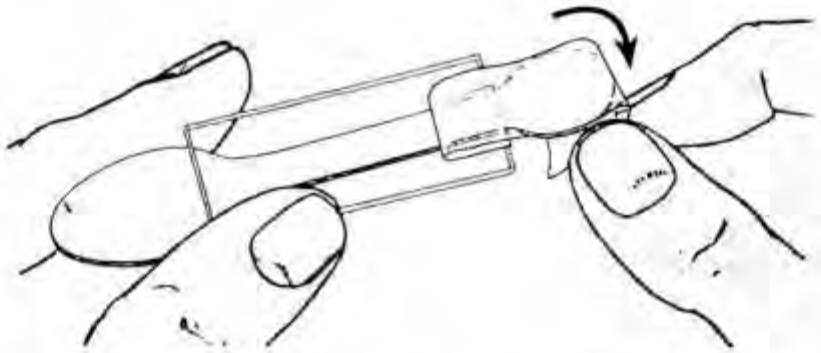
1. चित्र 10.54 में दिखाए अनुसार एक स्लाइड पर एडहेसिव टेप (चिपकने वाली सतह नीचे) रखें।
2. चम्मच के हेण्डल को स्लाइड के पिछले भाग से सटाकर रखें (चित्र 10.55)।
3. टेप को स्लाइड से दूर धीमे से खीचे-और चम्मच के हैण्डल पर उसका छल्ला बना दें (चित्र 10.56)।





चित्र 10.54 पिनवर्म अण्डे प्राप्त करने के लिए स्लाइड की तैयारी

चित्र 10.55 स्लाइड के नीचे चम्मच की स्थिति



चित्र 1056 चम्मच के हैण्डल पर टेप का छल्ला बनाएं

1मेल्विन डी. और ब्रुक एम. लेबोरटरी प्रोसीजर्स फॉर दी डायग्नोसिस आफॅ इन्टैस्टाइनल वर्म्स एटलान्टा जी एरिथ्रोसाइट्स युनाइटेड स्टेट्स डिपार्टमेन्ट ऑफ हेल्थ एजुकेशन एण्ड वेलफेया सेंटर फॉर डिसीज कंट्रोल 1969,138।

चित्र 10.57 बच्चे से पिनवर्म अण्डे संग्रह की तकनीक

चित्र 10.58 नमूने को स्लाइड पर लगाने का तरीका

चित्र 10.59 देख लें कि टेप स्लाइड पर ठीक से चिपक गई है

4. टेप लगे इस उपकरण को अपने दाए हाथ में पकडिए और स्लाइड को चम्मच से सटाकर रखिए।
5. अपने बाएं हाथ से मरीज़ के कूल्हों को दूर-दूर कीजिए। टेप से ढंके चम्मच को गुदा के आसपास की चमडी पर कई जगह दबाइए (चित्र 10.57)।
6. स्लाइड को पकड़कर टेप को इस पर लपेट दीजिए। चिपकने वाली सतह नीचे रहे (चित्र 10.58)।
7. यह पक्का कर लीजिए कि टेप स्लाइड पर ठीक से चिपक गई है। इसके लिए रूई से टेप को दबा दीजिए (चित्र 10.59)।
8. कन्डैसर का सुराख कम करके सूक्ष्मदर्शी में स्लाइड का अवलोकन कीजिए। X10ऑब्जेक्टिव का उपयोग करें। एन्टरोबियस वर्मीक्यूलेरिस के अण्डे खोजिए (चित्र 10.53 देखें)।

वैकल्पिक विधि

1. यदि सेलोफेन टेप उपलब्ध न हो तो रूई के फोहे से गुदा के आसपास (अंदर नहीं) के स्थान को पोंछे (चित्र 10.60)।
2. फोहे को एक परखनली में रखें। करीब 0.5 मि.ली. (10 बूंद) सोडियम क्लोराइड घोल में भिगोइए। फोहे को घोल में अच्छी तरह घोएं (चित्र 10.61)।
3. घोल को एक पाश्चर पिपेट में खींच लें। इसे एक स्लाइड पर डाल दें (चित्र 10.62)। कवर स्लिप से ढककर ऊपर बिन्दु 8 में बताए अनुसार सूक्ष्मदर्शी से देखें।

चित्र 10.60 बच्चे से पिनवर्म कृमि प्राप्त करने का वैकल्पिक तरीका

चित्र 10.61 नमूने को परख नली में डालना

चित्र 10.62 नमूने को स्लाइड पर रखें

फेसिओला हिपेटिका (चित्र 10.63)

साइज़: 130-145 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, सिरे गोल।

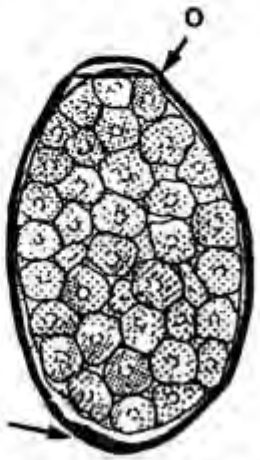
खोल: चिकनी व महीन, दोहरी परत।

अंदर का पदार्थ: अस्पष्ट बड़ी-बड़ी कोशिकाओं का एक पिण्ड, दानेदार केंद्रक (देखने के लिए फोकस करें)।

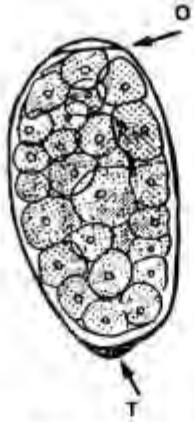
रंग: पीले से हल्के कत्थई तक।

अन्य लक्षण: एक सिरे पर स्पष्ट दिखता ढक्कन (ओपरकुलम), कोशिका भित्ती पीछे हटी हुई दिख सकती है। दूसरे सिरे पर कोशिका भित्ती का थोडा सा हिस्सा मोटा होता है।

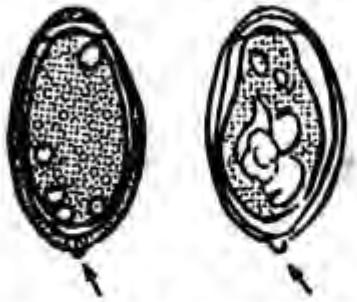
मल में बहुत कम संख्या में अण्डे मिलते हैं (संदिग्ध मामलों में डुओडेनम (ग्रहणी) से प्राप्त पदार्थ की जांच की जा सकती है)।



चित्र 10.63 फेसिओला हिपेटिका के अण्डे (T कोशिका भित्ती में मोटापन O ओपरकुलम)



चित्र 10.64 फेसिओलॉप्सिस बुस्की के अण्डे (T कोशिका भित्ती में मोटापन, O ओपरकुलम)



चित्र 10.65 हिटरोफेस हिटरोफेस के अण्डे

चित्र 10.66 हायमेनोलेप्सिस डिमिनूटा का अण्डा

चित्र 10.67 हायमेनोलेप्सिस नैना का अण्डा

फेसिओलॉप्सिस बुस्की (चित्र 10.64)

फेसिओला हिपेटिका के अण्डो के समान (देखे चित्र 10.63) मगर मल में आम तौर पर बडी सख्या में पाए जाते हैं।

साइज़: 125-140 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार।

खोल: फेसिओला हिपेटिका से पतली, एक परत, ढक्कन (ओपरकुलम) से विपरीत सिरे पर कोशिका भित्ती स्पष्ट रूप से मोटी हो जाती है।

ओपरकुलम: *फेसिओला हिपेटिका* से थोडा छोटा।

अंदर का पदार्थ: कोशिकाएं चमकीली हो सकती हैं और अण्डे के बीच मे एक स्पष्ट कोशिका होती है।

हिटरोफेस हिटरोफेस (चित्र 10.65)

क्लोनोर्किस साइनेन्सिस (देखे चित्र 4.49) के अण्डों के समान।

साइज़: 25-30 माइक्रोमीटर।

आकृति: **क्लोनोर्किस साइनेन्सिस** से ज़्यादा अण्डाकार, ढक्कन (ओपरकुलम) ओव्हरलेपिंग नहीं होता।

खोल: *क्लोनोर्किस साइनेन्सिस* की अपेक्षा थोड़ी मोटी।

बॉस: छोटा और मस्से के आकार का, अण्डे के चौड़े हिस्से की ओर मगर हमेशा नज़र नहीं आता।

अंदर का पदार्थ: कोशिकाओं का ढेर, कभी-कभार बड़े चमकीले दानों वाली कोशिकाएं (अनिषेचित) या एक सिलिया युक्त भ्रूण।

रंग: पीले से गहरे कत्थई तक।

हायमेनोलेप्सिस डिमिनूटा (चित्र 10.66)

बिरली प्रजाति (बच्चों के मल में पाई जाती है)।

साइज़: 70-90 माइक्रोमीटर (हायमेनोलेप्सिस नैना से कहीं ज़्यादा बड़े)।

आकृति: गोल।

खोल: बाहरी खोल पतली व आड़ी रेखाओं से चिन्हित, अंदरूनी खोल बहुत मोटी, तंतु रहित।

अंदर का पदार्थ: एक गोलाकार भ्रूण जिसमें छः हुक पंखे के समान जमे होते हैं।

रंग: पारदर्शी या हल्का पीला।

हायमेनोलेप्सिस नैना (चित्र 10.67)

साइज़: 40-60 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, लगभग गोल।

खोल: दोहरी, बाहरी झिल्ली पतली और अन्दरूनी झिल्ली अक्सर सिरों पर अपेक्षाकृत मोटी, दोनों सिरों से तंतु निकले होते हैं (इन्हें देखने के लिए सूक्ष्मदर्शी के प्रकाश स्रोत की तीव्रता कम करें), दोनों झिल्लियों के बीच की जगह में दाने भरे होते हैं।

अंदर का पदार्थ: गोलाकार पिण्ड (भ्रूण), जिसमें छः छोटे-छोटे हुक पंखे की आकृति में जमे होते हैं और बीच में कुछ सुपरिभाषित दाने होते हैं।

रंग: बहुत हल्का भूरा।

ज़रूरी बात: यह रिकॉर्ड करें कि अण्डे बहुत सारे थे या थोड़े-से।

मेटागोनिमस योकोगवई (चित्र 10.68)

क्लोनोर्किस साइनेन्सिस और *हिटरोफेस हिटरोफेस* के अण्डों के समान (देखें चित्र 10.48 और 10.65)।

साइज़: 25-30 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, कोई स्पष्ट किनार बन्दी (शोल्डरिंग) नहीं होती।

खोल: *क्लोनोर्किस साइनेन्सिस* और *हिटरोफेस हिटरोफेस* की अपेक्षा मोटी।

ढक्कन: *हिटरोफेस हिटरोफेस* की अपेक्षा ज़्यादा गोल, *क्लोनोर्किस साइनेन्सिस* की अपेक्षा कम ओव्हरलैपिंग।

बॉस: अण्डे के संकरे वाले सिरे पर छोटा या अदृश्य।

अंदर का पदार्थ: सिलिया युक्त भ्रूण।

चित्र 10.68 मेटागोनिमस योकोगवई का अण्डा

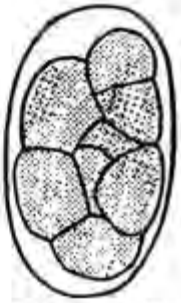
नेकेटर अमेरिकेनस (चित्र 10.69)

लगभग *एन्कायलोस्टोमाडुओडिनेल* के अण्डों के समान (देखे चित्र 10.41)।

साइज़: 60-80 माइक्रोमीटर (*एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल* से थोड़ा लम्बा)।

आकृति: अण्डाकार, सिरे गोल चपटे (*एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल* से अधिक चपटे)।

अंदर का पदार्थ: सदैव कम से कम आठ कोशिकाएं होती हैं (ताज़ा मल में *एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल* की तरह चार कदापि नहीं)।



चित्र 10.69 नेकेटर अमेरिकेनस का अण्डा

ओपिस्थोर्किस फेलिनियस (चित्र 10.69)

क्लोनोर्किस साइनेन्सिस के अण्डे जैसे (देखे चित्र 10.48)।

साइज़: 25-35 माइक्रोमीटर (*क्लोनोर्किस साइनेन्सिस* के बराबर)।

आकृति: आधार पर अपेक्षाकृत संकरा और *क्लोनोर्किस साइनेन्सिस* से कम शोल्डरिंग, कुछ अण्डे बेडौल (असममित) भी होते हैं।

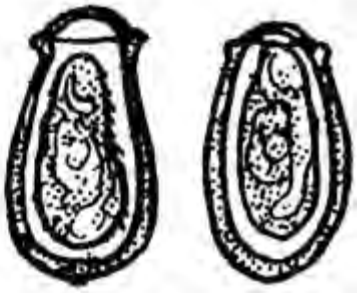
ढक्कन: *क्लोनोर्किस साइनेन्सिस* से कम ओव्हरलैप।

बॉस: कभी-कभार ही दिखता है।

अंदर का पदार्थ: सिलिया युक्त भ्रूण।

ओपिस्थोर्किस फेलिनियस, क्लोनोर्किस साइनेन्सिस, हिटरोफेस हिटरोफेस और *मेटागोनियस योकोगवई* के अण्डों के बीच अंतर करना बहुत मुश्किल होता है।

- *ओपिस्थोर्किस फेलिनियस*: संकरा, प्रायः असममित, बॉस कभी-कभार ही दिखता है।
- *क्लोनोर्किस साइनेसिस* :स्क्वैट आकार का, ढक्कन में ओव्हर लैप होता है।।
- *हिटरोफेस हिटरोफेस* : स्क्वैट आकार का, रंग अपेक्षाकृत गहरा ।
- *मेटागोनिमस योकोगवई* : मोटी खोल।



चित्र 10.70 ओपिस्थोर्किस फेलिनियस का अण्डा

पैरागोनिमस वेस्टरमेनी (चित्र 10.71)

चित्र 10.71 पैरागोनिमस वेस्टरमेनी का अण्डा

अण्डे मुख्यतः खखार मे पाए जाते हैं (यदि निगल लिए जाए तो मल में निकलते हैं)।

साइज़: 65-120 माइक्रोमीटर (*फेसिओलोप्सिस बुस्की* के अण्डों से छोटे)।

आकृति: अण्डाकार, प्रायः एक तरफ थोड़े चपटे।

ढक्कन: काफी स्पष्ट, इसमें स्पष्ट किनार (रिम) होती है।

खोल: ढक्कन के विपरीत छोर पर स्पष्ट मोटी हुई दिखती है।

अंदर का पदार्थ: बीच की साफ जगह के आसपास वर्गाकार कोशिकाएं।

रंग: सुनहरा कत्थई।

शिस्टोसोमा बोविस (चित्र 10.72)

चित्र 10.72 शिस्टोसोमा बोविस का अण्डा

संक्रमित गौमांस खाने वाले मरीज़ों के मल में इसके अण्डे मिलते हैं।

साइज़: करीब 200 माइक्रोमीटर।

आकृति: स्पिंडल आकार, भ्रूण के दोनों सिरों से संकरे छोर निकले होते हैं।

नोक: अंतिम छोर पर लम्बा स्पाइन।

अंदर का पदार्थ: अण्डे के बीच मे एक छोटा गोल भ्रूण मगर यह पूरे अण्डे को भरता नहीं।

शिस्टोसोमा बोविस मनुष्यों मे बीमारी पैदा नहीं करता।

शिस्टोसोमा हिमेटोबियम (चित्र 10.73)

चित्र 10.73 शिस्टोसोमा हिमेटोबियम का अण्डा

अण्डे पेशाब में पाए जाते हैं, कभी कभार मल मे भी दिखते हैं।

साइज़: 110-150 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, एक सिरा गोलाकार।

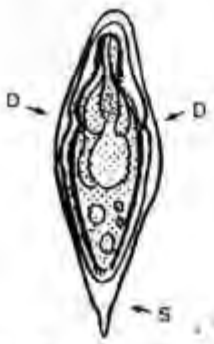
नोक: अन्त में और दूसरे सिरे पर।

खोल: चिकनी, बहुत पतली।

अंदर का पदार्थ: एक झिल्ली (अन्दरूनी खोल) से घिरा हुआ एक सुविकसित, चौडा, सिलिया युक्त भ्रूण।

रंग: भूरा या हल्का पीला।

शिस्टोसोमा इन्टरकेलेटम (चित्र 10.74)



चित्र 10.74 शिस्टोसोमा इन्टरकेलेटम का अण्डा

दिखने में शिस्टोसोमा हिमेटोबियम जैसा होता है (देखें चित्र 10.73) मगर मल में पाया जाता है।

साइज़: 140-180 माइक्रोमीटर (*शिस्टोसोमा हिमेटोबियम* से थोड़ा बड़ा)।

आकृति: स्पिंडल आकार, *शिस्टोसोमा हिमेटोबियम* से कम चौड़ा (गोल सिरे की तरफ बाजू ज़्यादा चपटी)।

नोक: सिरे पर नोक, *शिस्टोसोमा हिमेटोबियम* से लम्बी और नुकीली।

अंदर का पदार्थ: झिल्ली से घिरा हुआ एक सिलिया युक्त भ्रुण, इसमें मध्य भाग के पास दोनों तरफ एक-एक खांचा होता है।

शिस्टोसोमा जेपोनिकम (चित्र 10.75)

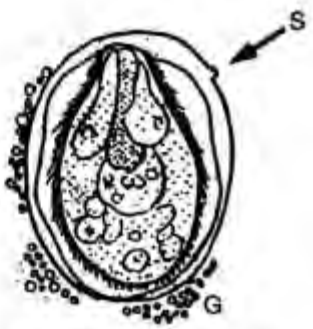
साइज़: 70-100 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार, लगभग गोल।

नोक: मुश्किल से दिखती है, बाजू में होती है और बहुत छोटी होती है, प्रायः अण्डे की सतह पर पाए जाने वाले दानों के बीच गुम हो जाती है।

अंदर का पदार्थ: एक चौड़ा, सिलियायुक्त भ्रूण।

रंग: पारदर्शी या हल्का पीला।



चित्र 10.75 शिस्टोसोमा जेपोनिकम का अण्डा

शिस्टोसोमा मेन्सोनी (चित्र 10.76)

साइज़: 110-180 माइक्रोमीटर।

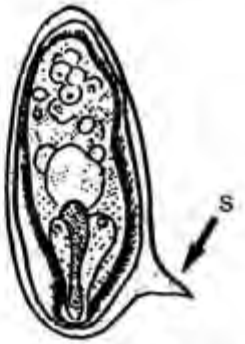
आकृति: अण्डाकार, एक सिरा गोल, दूसरा शंकु आकार।

नोक: बाजू में स्थित, गोल वाले सिरे के पास, बड़ी व तिकोनी (यदि पीछे दब गई हो तो सूक्ष्मदर्शी का फोकस बदलकर देखें)।

खोल: चिकनी, बहुत पतली।

अंदर का पदार्थ: एक झिल्ली (अंदरूनी खोल) से घिरा हुआ एक चौड़ा, सिलिया युक्त भ्रूण (जैसा कि *शिस्टोसोमा* की सभी प्रजातियों में होता है)।

रंग: हल्का पीला।



चित्र 10.76 शिस्टोसोमा मेन्सोनी का अण्डा

_शिस्टोसोमा मेन्सोनी_ संक्रमण की पहचान के लिए सेलाफेन फीकल थिक स्मीयर तकनीक (काटो-काट्ज़ तकनीक)

काटो-काट्ज़ तकनीक *शिस्टोसोमा मेन्सोनी* व आंतों के अन्य कृमियों की पहचान के लिए काफी कारगर साबित हुई है।

फील्ड में स्लाइड्स बनाकर, स्लाइड बॉक्स में रखकर दूर-दूर तक पहुंचाई जा सकती हैं। लिहाज़ा इनकी जांच किसी केंद्रीय प्रयोगशाला में हो सकती है। यह तकनीक स्ट्रॉन्गाइलाडिएसिस अथवा *एन्टरोबियस वर्मीक्यूलेरिस* या प्रोटोज़ोआ संक्रमण की जांच हेतु उपयुक्त नहीं है।

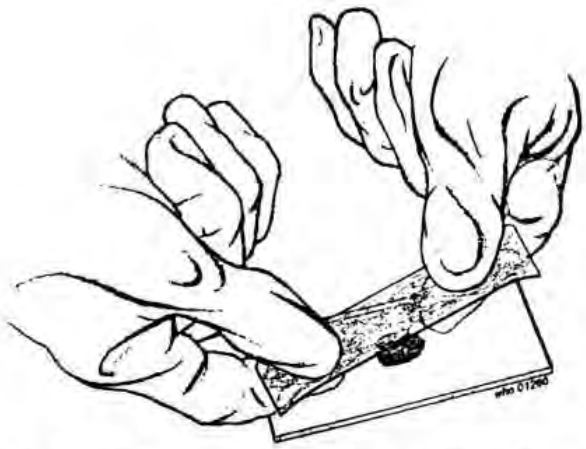
सामग्री व अभिकारक

- चपटी एप्लीकेटर छड़, लकड़ी की
- स्क्रीन, स्टेनलेस स्टील, नायलोन या प्लास्टिक, 60-105 मेश।
- टेम्पलेट, स्टेनलेस स्टील, प्लास्टिक या कार्ड बोर्ड
- सूक्ष्मदर्शी
- स्लाइड्स
- सेलोफेन, 40-50 माइक्रोमीटर मोटा 20X30 मि.मी. या 25X35 मि.मी. की पट्टियां
- चपटे पेंदे वाला जार
- चिमटी
- टायलेट पेपर या सोख्ता टिशू
- रद्दी कागज़ (जैसे अखबार)
- ग्लिसरॉल मेलेकाइट ग्रीन घोल (अभिकारक क्र. 31) या मिथायलीन ब्लू घोल (अभिकारक क्र. 39)।

चित्र 10.77 एप्लीकेटर छड़ की मदद से स्करीन की ऊपरी सतह को रगड़िए ताकि मल छन जाए

विधि

चित्र 10.78 छने हुए मल के नमूने को टेम्प्लेट में भरिए



चित्र 10.79 ग्लिसरॉल में भीगी सेलोफेन की पट्टी से मल के नमूने को ढंक दें

ज़रूरी बात: मल का नमूना प्राप्त करते समय संदूषण से बचाव की सावधानी रखनी चाहिए। हमेशा दस्ताने पहनकर काम करें।

1. सेलोफेन की पट्टियों को कम से कम 24 घण्टों के लिए ग्लिसरॉल मेलेकाइट ग्रीन (या मिथायलीन ब्लू) घोल में भिगोएं।
2. एक रद्दी कागज़ (अखबार सर्वोत्तम होगा) के टुकड़े पर थोड़ा सा मल (करीब 0.5 ग्राम) रखिए।
3. स्क्रीन को मल के नमूने पर दबाकर रखिए।
4. एप्लीकेटर छड़ की मदद से स्क्रीन की ऊपरी सतह को रगडिए ताकि मल छन जाए (चित्र 10.77)।
5. टेम्पलेट को एक साफ स्लाइड पर रखिए। छने हुए मल पदार्थ को टेम्पलेट के सुराख पर रखिए और एप्लीकेटर छड़ से उसे समतल कर दीजिए (चित्र 10.78)।
6. टेम्पलेट को सावधानी उठाइए ताकि सारा मल पदार्थ स्लाइड पर छूट जाए और टेम्पलेट पर कुछ चिपका न रहे।
7. स्लाइड के मल पदार्थ को ग्लिसरॉल में भीगी सेलोफेन की पट्टी से ढंक दें (चित्र 10.79)।
8. यदि सेलोफेन की ऊपरी सतह पर ग्लिसरॉल लगा हो, तो उसे एक सोख्ता टिशू से पोंछ दें।
9. स्लाइड को पलटाकर सेलोफेन की पट्टी को किसी सपाट सतह पर दबाइए (टाइल या सपाट पत्थर सर्वोत्तम होगा) ताकि नमूना एकसार फैल जाए।
10. स्लाइड को सीधा ऊपर न उठाएं अन्यथा पट्टी अलग हो जाएगी। सेलोफेन को पकड़े-पकड़े स्लाइड को धीरे धीरे सरकाकर उठाइए।

    स्लाइड तैयार है। अतिरिक्त ग्लिसरॉल को सोख्ता टिशू से पोंछ डालिए ताकि सेलोफेन चिपकी रहे। अभ्यास के साथ आप एकदम बढ़िया स्लाइड बना पाएंगे।

स्ट्रॉन्गाइलॉइड्स स्टेरोकोरेलिस (चित्र 10.80)

चित्र 10.80 स्ट्रॉन्गाइलॉइड्स स्टेरोकोरेलिस का अण्डा

ठोस मल में *स्ट्रॉन्गाइलॉइड्स स्टेरोकोरेलिस* के अण्डे कभी-कभार ही नज़र आते हैं क्योंकि मल त्याग से पहले ही अण्डे फूटकर इल्लियां निकल आती हैं। अलबत्ता, इनके अण्डे पतले मल में (और यदा-कदा कुछ किस्मों के वाहक व्यक्तियों के ठोस मल में) पाए जा सकते है।

स्ट्रॉन्गाइलॉइड्स स्टेरोकोरेलिस के अण्डे काफी हद तक *एन्कायलोस्टोमाडुओडिनेल* के अण्डों (देखें चित्र 10.41) जैसे होते हैं।

साइज़: 50-80 माइक्रोमीटर (*एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल* से थोड़े छोटे)।

आकृति: अण्डाकार, सिरे थोड़े चपटे।

खोल: बहुत पतली, एक काली लाइन के रूप में दिखती है।

अंदर का पदार्थ: एक मोटी इल्ली जो एक या अधिक बार स्वयं के इर्द-गिर्द लिपटी होती है और कभी-कभी गतिशील होती है।

रंग: हल्का भूरा, आयोडीन घोल से अभिरंजन पर गहरा कत्थई।

टीनिया सेजिनेटा और टीनिया सोलियम (चित्र 10.81)

चित्र 10.81 टीनिया प्रजातियों के अण्डे
क. सामान्य अण्डा
ख. तैरती पारदर्शी थैली में बंद अण्डा

इन दो फीताकृमियों के 'अण्डे'[1] लगभग एक जैसे होते है ये मल में मिल सकते हैं (देखें पृष्ठ 136)।

साइज़: 30-80 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल।

खोल: बहुत मोटी, चिकनी, आड़ी रेखाओं सहित (प्रकाश थोड़ा कम करके देखें)।

अंदर का पदार्थ: एक महीन झिल्ली में बंद एक गोल दानेदार पिण्ड, जिसमें तीन जोड़ी चमकीले छुरीनुमा हुक होते हैं (फोकस बदलकर देखें)।

रंग: खोल गहरा पीला-कत्थई, अंदर का पदार्थ हल्का पीला-भूरा।

अन्य विशेषताएं: कभी कभी अण्डा एक तैरती पारदर्शी थैली में बंद रहता है (चित्र 10.82)।

ट्राइकोस्ट्रॉन्जिलस प्रजातियां (चित्र 10.82)

चित्र 10.82 ट्राइकोस्ट्रॉन्जिलस प्रजातियों के अण्डे

एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल के अण्डे के काफी समान (देखें चित्र 10.41)।

साइज़: 75-115 माइक्रोमीटर (*एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल* से कुछ बड़ा)।

आकृति: अण्डाकार, एक सिरा गोल, दूसरा संकरा।

खोल: बहुत पतली व चिकनी (*एन्कायलोस्टोमा डुओडिनेल* जैसी)।

अंदर का पदार्थ: कम से कम 20 छोटी-छोटी गोल कोशिकाओं का पिण्ड (ताज़ा मल में)। अण्डा जल्दी ही भ्रूण में विकसित हो जाता है।

रंग: पीला-कत्थई।

ट्राइकुरिस ट्राइकुरा (चित्र 10.83)

चित्र 10.83 ट्राइकुरिस ट्राइकुरा का अण्डा

साइज़: 50-65 माइक्रोमीटर।

आकृति: बेरल के आकार का।

खोल: काफी मोटी और चिकनी, दो परतें।

अंदर का पदार्थ: एकसार दानेदार पिण्ड (पुराने मल में कभी-कभी बंटा हुआ)।

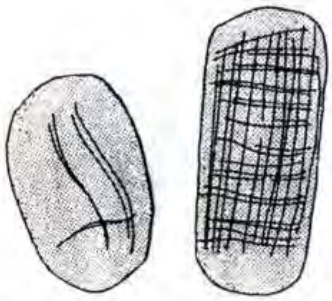
रंग: खोल-नारंगी; अंदर का पदार्थ पीला।

अन्य विशेषताएं: दोनों सिरों पर एक-एक गोलाकार पारदर्शी प्लग।

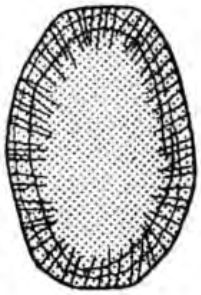
ज़रूरी बात: यह बताएं कि कई सारे अण्डे थे या थोड़े-से।

1. इन 'अण्डों' का सही नाम एम्ब्रियोस्फीयर है यानी भ्रूणीकृत अण्डे जिनकी बाहरी थैली झड़ चुकी है।

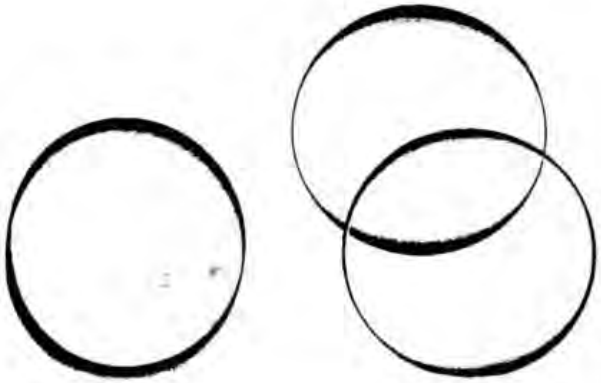
चित्र 10.84 पौधो से प्राप्त मण्ड के कण



चित्र 10.85 मांस के पचे हुए रेशे



चित्र 10.86 साबुन



चित्र 10.87 हवा के बुलबुले

चित्र 10.88 तेल की बूंदें

जिन चीज़ों को अण्डे समझने की भूल नहीं करनी चाहिए

पौधों से प्राप्त मण्ड के कण (चित्र 10.84)

साइज़: 50-100 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल या अण्डाकार और लम्बे।

खोल: कहीं-कहीं मोटी, बहुत अनियमित, दरार युक्त।

अंदर का पदार्थ: सघन रूप से भरे हुए मण्ड के कण।

रंग: सफेद या भूरा-पीला; आयोडीन घोल से अभिरंजन के बाद जामुनी।

ये कण आलू, सेम, यैम और कसावा जैसे मण्ड युक्त भोज्य पदार्थों के अवशेष हैं।

मांस के पचे हुए रेशे (चित्र 10.85)

साइज़: 100-200 माइक्रोमीटर।

आकृति: अण्डाकार या आयताकार, कोने गोलाई लिए हुए।

अंदर का पदार्थ: पारदर्शी, कोई कण या लकीरें नहीं (हो सकता है कि मांस न पचने की वजह से कहीं-कहीं लकीरें दिखाई पड़ें)।

रंग: पीला।

साबुन (चित्र 10.86)

साइज़: 20-100 माइक्रोमीटर।

आकृति: गोल, अण्डाकार या अनियमित (पेड़ के तने की आड़ी काट जैसी)।

अंदर का पदार्थ: केंद्र से फैलती लकीरें जो परिधि पर दिखाई पड़ती हैं, बीच में कुछ नहीं।

रंग: कत्थई-पीला या रंगहीन।

हवा के बुलबुले या तेल की बूंदें (चित्र 10.87 और 10.88)

साइज़: परिवर्तनशील (किसी भी साइज़ के हो सकते हैं)।

आकृति: बिलकुल गोल।

झूठी खोल: एक गोलाकार छल्ला, अत्यंत चमकीला (तेल के मामले में कई परतें होती हैं)।

अंदर का पदार्थ: कुछ नहीं।

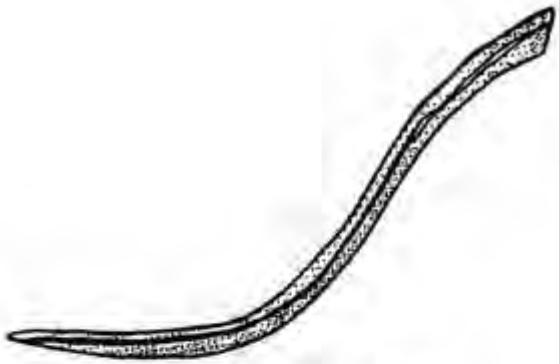
पौधों के रोम (चित्र 10.89)

साइज़: परिवर्तनशील (50-300 माइक्रो-मीटर)।

आकृति: काफी सख्त, प्रायः वक्राकार, चौड़ा और एक सिरे पर साफ कटा हुआ, दूसरे सिरे पर पतला।

अंदर का पदार्थ: दो पारदर्शी चमकीली परतों के बीच एक संकरी खाली नली।

रंग: हल्का पीला।



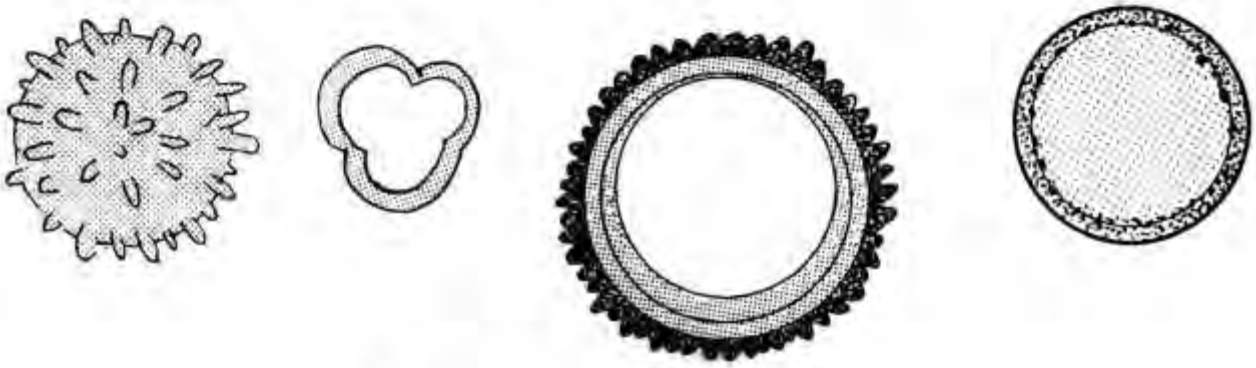
चित्र 10.89 पौधों के रोम

पराग कण एवं फफूंद के स्पोर्स (चित्र 10.90)

साइज़: किसी भी साईज के हो सकते हैं । भौगोलिक स्थिति एवं स्थानीय आहार पर निर्भर।

आकृति: विभिन्न ज्यामितीय आकार

अन्य विशेषताएं : भेदकारी, दरांती जैसे या गोल उभार।



चित्र 10.90 - पराग कण एवं फफूंद के स्पोर्स

विब्रियो हेतु मल की जांच विधि

पानी जैसे दस्त की जांच

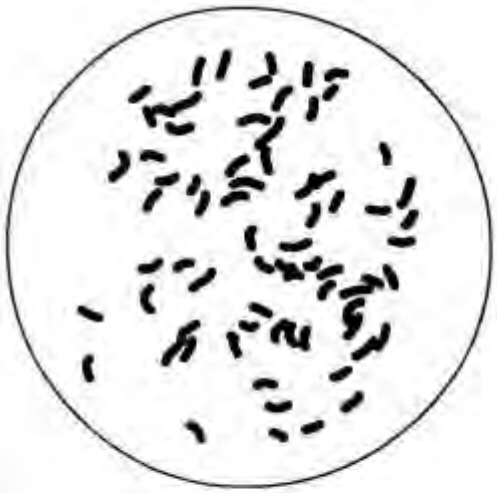
माईक्रोस्कोप की डार्क फील्ड का उपयोग हैजा (पानी जैसा पतला दस्त) फैलाने वाले जीवाणु कॉलेरा वीब्रियो की पहचान करने के लिये किया जाता है।

सामग्री

1. डार्क फील्ड (अटैचमेंट) के साथ माईक्रोस्कोप
2. स्लाइड
3. कवर स्लिप
4. इनाकुलेटिंग लूप
5. सोडियम क्लोराईड का 0.85s घोल

विधि

1. 0.2 ग्राम मल को 5 मिली सोडियम क्लोराईड घोल में डालें। बड़े कणों को तल में बैठ जाने दें ।



चित्र 10.91 - कॉलेरा विब्रियो

2. इनाकुलेटिं ग लूप की सहायता से इस द्रव का स्लाईड पर पतली स्मीयर बना लें यदि बड़े कण आ गये हों तो सावधानी से उन्हे निकाल ले।
3. कवर स्लिप से ढांके और माईक्रोस्कोप के मंच पर स्लाईड रखें।
4. डार्क फील्ड (अटै चमेंट) लगाकर देखें।

सूक्ष्मदर्शी जांच

1. 10X आब्जेक्टि व लेंस का उपयोग करें। काला नजर आयेगा एवं सेलाईन में निलंबित कण उजले नजर आयेंगे।
2. 40X आब्जेक्टि व लेंस का उपयोग - आकार एवं गतिशीलता की जांच करने के लिये करें।

विब्रियो - छोटी, वक्र सीधी या - गतिशील राड की तरह दिखाई देता है। **(चित्र 10.91)**

कैम्पाईलो बैक्टर प्रजाति - ग्राम नेगेटिव राड की तरह होता है जो – धुरी पर तेजी से घूमता है।

v/;k; & 11

oh; d ueu dh tkp

वंध्यता (अनुर्वरता) की संभावना को खारिज करने के लिए मरीज़ों के वीर्य की जांच की जाती है। इसके लिए वीर्य में शुक्राणुओं के कामकाजी गुणों का आकलन किया जाता है।

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- स्लाइड्स
- कवर स्लिप्स
- रक्त पिपेट (साहली पिपेट)
- अंकित नपनाघट, 10 मि.ली.
- pH सूचक कागज़
- उन्नत न्यूबौर काउण्टिंग चेम्बर
- सोडियम बाईकार्बोनेट
- फिनॉल या फार्मेलिन (37 प्रतिशत फॉर्मेल्डिहाइड)
- आसुत पानी
- पेट्रोलियम जेली

वीर्य का नमूना प्राप्त करने से पहले निम्नलिखित विधि से वीर्य तनुकारक घोल बना लें:

सोडियम बाई कार्बोनेट	5 ग्राम
फिनॉल या फॉर्मेलिन	1 मि.ली.
आसुत पानी	100 मि.ली. तक बनाने के लिए

विधि

वीर्य का नमूना प्राप्त करना

मरीज़ द्वारा एक साफ सूखी बोतल में वीर्य इकट्ठा किया जाता है और जल्दी से जल्दी से प्रयोगशाला में लाया जाता है। संभव हो, तो 30 मिनट के अंदर नमूना प्रयोगशाला में पहुंच जाए। इसकी जांच तुरंत नहीं की जा सकती क्योंकि वीर्य अत्यंत गाढ़ा द्रव होता है तथा इसे 'तरल' बनाना ज़रूरी होता है। यह 15-30 मिनट के अंदर तरल हो जाता है और इसके बाद जल्दी से जल्दी इसकी जांच की जानी चाहिए।

स्लाइड बनाना

तरलीकरण हो जाने के बाद एक स्लाइड पर वीर्य का एक महीन स्मीयर बनाइए (रक्त स्मीयर जैसा)। इसे पहले हवा में सूखने दें और फिर फिक्स करने के लिए आंच पर हल्का गर्म करें।

वीर्य को तनुकारक घोल से धोकर उसमें से श्लेष्मा हटा दें (वरना यह अभिरंजन में बाधा पहुंचाएगी)। इसके बाद स्लाइड को बफरयुक्त आसुत पानी से धो डालें।

वीर्य को लीशमैन अभिरंजक या जिएस्मा अभिरंजक (देखें खण्ड 9.10.3 पृष्ठ 303, 304) से अभिरंजित कीजिए।

आयतन (मात्रा)

एक छोटे नपनाघट से वीर्य का आयतन नापिए - आयतन चंद बूंदों से लेकर करीब 10 मि.ली. तक होता है। सामान्य आयतन 4-5 मि.ली. होता है। 1.5 मि.ली. से कम आयतन असामान्य माना जाता है।

गाढ़ापन (श्यानता या विस्कॉसिटी)

ताज़ा स्खलित वीर्य 30 मिनट के अंदर पूरी तरह तरलीकृत हो जाना चाहिए। तरलीकरण न हो, तो शुक्राणुओं की गतिशीलता और निषेचन क्रिया में बाधा आ सकती है।

रंग

वीर्य आम तौर पर पारदर्शी भूरे रंग का होता है। लंबे समय तक यौन गतिविधि से दूर रहने पर वीर्य का रंग थोड़ा पीला हो जाता है।

pH

आम तौर पर pH नापी तो जाती है मगर इसका कोई खास महत्व नहीं है। वीर्य सदा क्षारीय होता है और इसकी pH 7.6 के आसपास होती है (रेंज 7.2-8.9)।

सूक्ष्मदर्शी से जांच

सामान्य शुक्राणु (स्पर्मेटोज़ोआ) 50-70 माइक्रोमीटर लंबे होते हैं। इनका एक अण्डाकार सिर, एक छोटी सी गर्दन और एक लम्बी पूंछ होती है जो कुल लंबाई की 90 प्रतिशत होती है (चित्र 11.1)।

सिर 3-6 माइक्रोमीटर X 2-3 माइक्रोमीटर होता है।

शुक्राणु की बनावट में निम्नलिखित असामान्यताएं देखी जाती हैं:

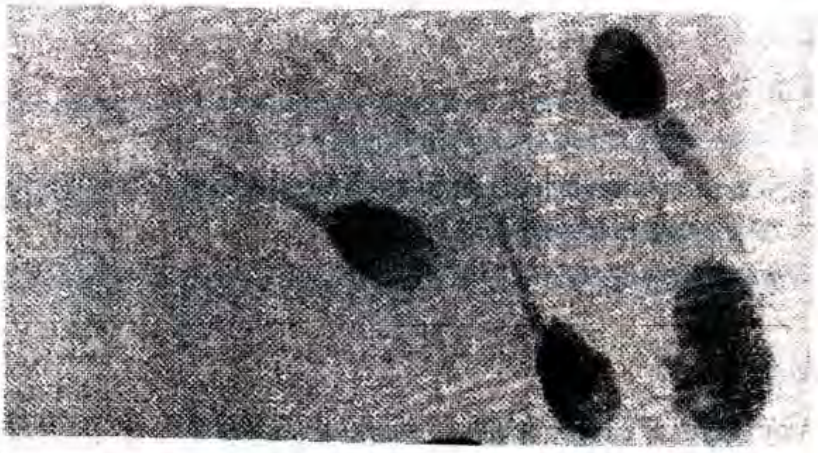
- असामान्य आकृति के सिर (चित्र 11.2)
- असामान्य साइज़ के सिर (चित्र 11.3)
- दोहरे सिर (चित्र 11.4)
- कुंडलित पूंछ (चित्र 11.5)
- अनुपस्थित, अविकसित या फूली हुई गर्दन (मध्य भाग) (चित्र 11.6)
- दोहरी, अविकसित या नदारद पूंछ (चित्र 11.7)

एक सामान्य स्मीयर में 20 प्रतिशत से अधिक असामान्य शुक्राणु नहीं होने चाहिए।

वीर्य की जांच के दौरान किसी भी अन्य कोशिका की उपस्थिति पर भी ध्यान दीजिए। जैसे,

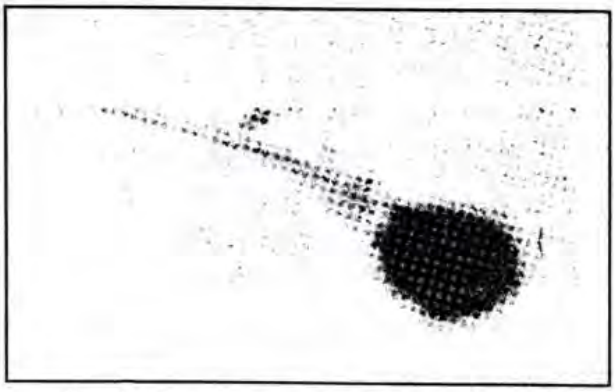
- एरिथ्रोसाइट्स
- पोलीमार्फोन्यूक्लियर ल्यूकोसाइट्स
- एपिथिलियल कोशिकाएं
- वृषण की अपरिपक्व कोशिकाएं वगैरह।

विभिन्न किस्म के रवे (क्रिस्टल) भी नज़र आ सकते हैं। इनकी उपस्थिति को भी नोट करना चाहिए।

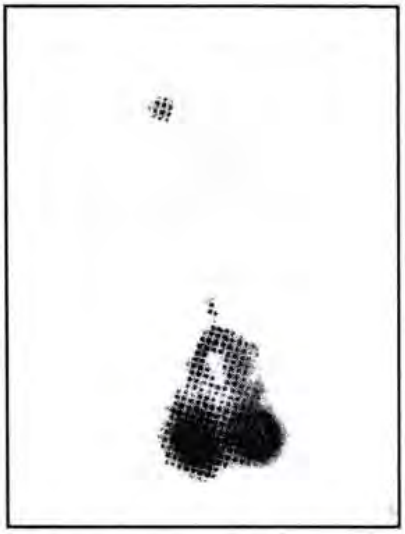


चित्र 11.1 सामान्य शुक्राणु

चित्र 11.2 असामान्य आकृति के सिर वाले शुक्राणु



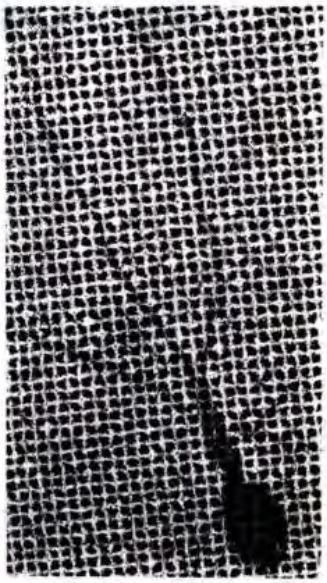
चित्र 11.3 असामान्य साइज़ के सिर वाले शुक्राणु



चित्र 11.4 दोहरे सिर वाले शुक्राणु

चित्र 11.5 कुंडलित पूंछ वाले शुक्राणु

चित्र 11.6 अनुपस्थित, अविकसित या फूली हुई गर्दन वाले शुक्राणु



चित्र 11.7 दोहरी, अविकसित या पूंछ रहित शुक्राणु

गतिशीलता

गतिशीलता की जांच के लिए स्लाइड पर वीर्य की एक बूंद रखिए, बूंद को कवर स्लिप से ढक दीजिए और कवर स्लिप की किनोर को पेट्रोलियम जेली से बंद कर दीजिए ताकि वाष्पन न हो। X40 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करते हुए सूक्ष्मदर्शी में देखें।

कई अलग-अलग सूक्ष्मदर्शीय फील्ड में गतिशील व गतिहीन शुक्राणुओं के अनुपात का अनुमान लगाइए। आम तौर पर करीब 80 प्रतिशत शुक्राणु सक्रिय रूप से गतिशील होते हैं जबकि 20 प्रतिशत सुस्त होते हैं या गतिहीन होते हैं। स्लाइड का अवलोकन 3 और 5 घण्टे बाद फिर कीजिए और यदि सुविधाजनक हो, तो 12 व 24 घण्टे बाद भी कीजिए। करीब 3 घण्टे तक गतिशीलता में कोई कमी नहीं आनी चाहिए परन्तु इसके बाद गतिशीलता में लगातार कमी आती है और कमरे के तापमान पर 12 घण्टे में गतिशीलता लगभग पूरी तरह समाप्त हो जाती है।

शुक्राणुओं की घटी हुई गतिशीलता वंध्यापन का एक कारक हो सकता है।

शुक्राणुओं की संख्या

1. तरलीकरण हो जाने के बाद नमूने को धीरे-धीरे हिलाकर मिलाइए।
2. साहली पिपेट में 0.5 माइक्रोलीटर के निशान तक शुक्राणु खींच लीजिए। इसके बाद तनुकारक घोल को 11 माइक्रोलीटर के निशान तक खींचिए। अब इन पदार्थों को मिलाने के लिए पिपेट को रोटेटर पर रख दें।
3. एक उन्नत न्यूबौर काउण्टिंग चेम्बर लोड कीजिए (देखें चित्र 9.40)। शुक्राणु को नीचे बैठने दीजिए और फिर ल्यूकोसाइट संख्या की ही तरह चार कोने वाले वर्गों में शुक्राणुओं की गिनती कीजिए (देखें खण्ड 9.6.3)। गणना का सूत्र वैसा ही है जैसा ल्यूकोसाइट संख्या के लिए था । अंतर सिर्फ इतना है कि प्रति घन मि.मी. के स्थान पर शुक्राणु संख्या प्रति मि.ली. निकाली जाती है। इसलिए 1000 से गुणा करना होता है।

$$\text{शुक्राणु संख्या/मि.ली.} = \frac{n \times 10 \times 20 \times 1000}{4}$$

n=गिने गए शुक्राणुओं की संख्या।

सामान्य शुक्राणु संख्या 6 करोड़ से 15 करोड़ प्रति मि.ली. (कुछ स्रोतों के अनुसार 10-50 करोड़ प्रति मि.ली.) होती है। 6करोड़ प्रति मि.ली. से कम शुक्राणु संख्या वाले मरीज़ों में निश्चित तौर पर संख्या कम है, हालांकि वे इसके बावजूद उर्वर हो सकते हैं।

v/;k; & 12
;kfu lko dh tkp

योनि स्राव की सूक्ष्मदर्शीय जांच की जाती है ताकि गोनोकोकाई, *कैण्डिडा एल्बिकैन्स* और *ट्राइकोमोनास वेजाइनेलिस* की उपस्थिति को खारिज किया जा सके। ये सूक्ष्मजीव वल्वो-वेजाइनल कैण्डाइडिएसिस और ट्राइकोमोनिएसिस पैदा करते हैं।

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- स्लाइड्स
- कवर स्लिप्स
- सोडियम क्लोराइड, 0.85 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 53)

विधि

नमूना प्राप्त करना

नमूना किसी चिकित्सक या विशेषज्ञ नर्स द्वारा प्राप्त किया जाना चाहिए।

स्लाइड बनाना

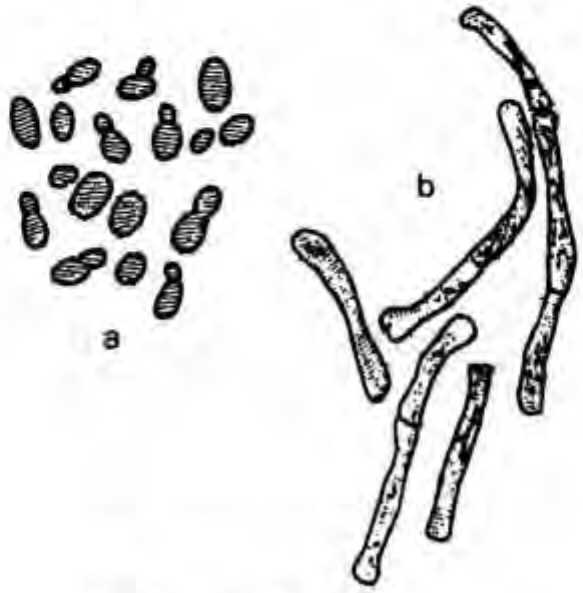
1. एक स्लाइड़ पर स्राव का स्मीयर बनाकर हवा में सूखने दें। स्मीयर को ग्राम स्टेन से अभिरंजित करें (देखे खण्ड ....) और *कैण्डिडा एल्बिकैन्स* हेतु जांचें।
2. स्राव का थोड़ा सा हिस्सा एक दूसरी स्लाइड पर रखें, उस पर एक बूंद सैलाइन घोल डालें और कवर स्लिप से ढंक दें। इस स्लाइड मे गोनोकोकाई और ट्राइकोमोनास के ट्रोफोज़ाइट देखें।

चित्र 12.1 ग्राम ऋणात्मक जीव

सूक्ष्मदर्शीय जांच

ग्राम अभिरंजित स्लाइड को X40 ऑब्जेक्टिव और X100 ऑइल इमर्शन ऑब्जेक्टिव की मदद से देखें। *कैण्डिडा एल्बिकैन्स* बड़ी-बड़ी ग्राम अभिरंजित खमीर कोशिका के रूप में दिखेंगे। इनमें अक्सर मुकुलन (बडिंग) मायसेलियम के छोटे टुकड़े भी दिखते हैं (देखें चित्र 12.2)।

जितनी जल्दी संभव हो, सैलाइन को X10और X40 ऑब्जेक्टिव की मदद से देखें। सूक्ष्मदर्शी का आइटिस डायफ्राम बंद करके देखे ताकि कॉन्ट्रास्ट बढिया रहे। नमूने को सूखने न दें। गौनोकाकाई ग्राम-ऋणात्मक होते हैं और छोटे बिन्दुओ के रूप मे दिखते हैं (देखे चित्र 12.1)। *ट्राइकोमोनास वेजाइनेलिस* के ट्रोफोज़ॉइट्स 8-20 माइक्रोमीटर के अत्यंत गतिशील फ्लेजिलेट्स के रूप में दिखते हैं इनकी झिल्ली लहरदार होती है और एक स्पष्ट केंद्रक होता है।



चित्र 12.2 कैण्डिडा एल्बिकैन्स

v/;k; & 13
cDVhfj;k foKku

स्मीयर की सीधे सूक्ष्मदर्शी जांच बैक्टीरिया प्रजातियों की पहचान का कारगर तरीका नहीं है। सही पहचान सिर्फ संवर्धन (कल्चर) के द्वारा संभव होती है। इसलिए नमूना प्राप्त करके रेफरल प्रयोगशाला को भेजना अत्यंत महत्वपूर्ण हो जाता है। बहरहाल आम तौर पर निर्जीवीकृत शारीरिक द्रवों और अन्य स्रोतों से प्राप्त नमूनो के अभिरंजित स्मीयर्स की सीधे सूक्ष्मदर्शीय जांच से बैक्टीरिया की उपस्थिति पता लगाने में मदद मिलती है। इससे बीमारी के निदान, तात्कालिक उपचार और रोकथाम में काफी मदद मिल सकती है जैसे:

शुरुआती अवस्था के यूरेथ्राइटिस से पीड़ित पुरूष मरीज़ों से प्राप्त नमूनो का उपयोग गोनोकोकल संक्रमण का निदान करने में काफी यकीन से किया जा सकता है (महिला मरीज़ों में यह कहीं अधिक कठिन होता है)।

खखार के स्मीयर की सूक्ष्मदर्शीय जांच टी.बी. के संक्रामक मरीज़ों की शिनाख्त करने का एक व्यावहारिक और कारगर तरीका है।

सेरेब्रो-स्पाइनल (मस्तिष्क-मेरु रज्जू) द्रव की सूक्ष्मदर्शीय जांच से मेनिजाइटिस पैदा करने वाले बैक्टीरिया या फंफूद की पहचान की जाती है ।

कई रोगो का निदान सिरोलॉजी से भी मुमकिन है। सिफलिस इसका उदाहरण है।

सिरोलॉजिकल तकनीको से ऐसी बीमारियो के फैलाव के अध्ययन और जल्दी निदान की भी संभावना होती है जो ऐसे बैक्टीरिया से पैदा होते है, जिनका संवघर्न मुश्किल होता है (जैसे *मायकोंबैक्टीरियम टयूबरकुलोसिस*)।

स्मीयर्स बनाना व फिक्स करना

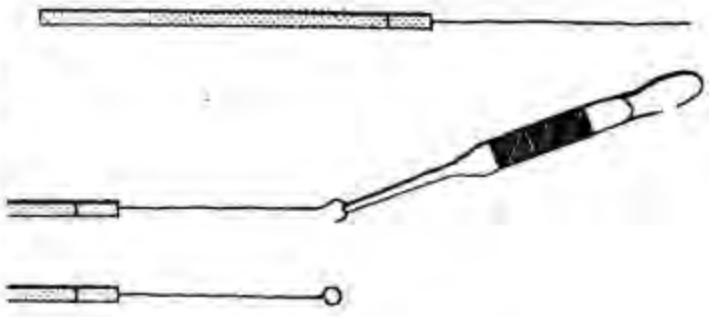
सिद्धांत

जिस नमूने (मवाद, खखार, पेशाब सेंट्रीफ्यूज, सेरेब्रो-स्पाइनल द्रव) की जांच करना हो उसे निम्नानुसार तैयार करते हैं:

- कांच की एक स्लाइड पर नमूने को एक पतली परत के रूप में फैलाते हैं।
- इसे पूरी तरह सूखने देते हैं।
- इसे 70 प्रतिशत मिथेनॉल से या गर्म करके फिक्स करते है, फिर अभिरंजित करते हैं।

सामग्री व अभिकारक

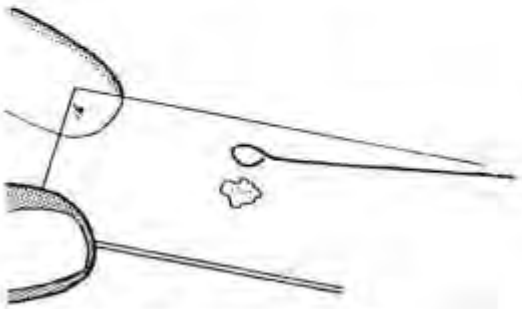
- इनॉक्यूलेटिंग लूपः यह एक तार (आम तौर पर निकल- क्रोमियम मिश्र धातु से बना) होता है जिसे एक हत्थे में फिट कर देते हैं। इस तार को एक छल्ले के रूप में मोड़ा जाता हैं। चिमटी की मदद से छल्ला बना लीजिए। यह ध्यान रखिए कि छल्ला एकदम गोल हो (चित्र 13.1)। छल्ले का व्यास करीब 2 मि.मी. होना चाहिए।
- सूक्ष्मदर्शी
- स्लाइड्स
- कवर स्लिप्स
- बुंसन बर्नर या स्पिरिट लैम्प
- 70 प्रतिशत मिथेनॉल



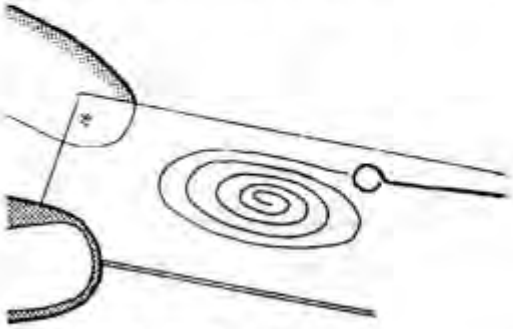
चित्र 13.1 इनॉक्यूलेटिंग लूप बनाना

चित्र 13.2 इनॉक्युलेटिंग लूप को आंच में तपाना

चित्र 13.3 इनॉक्यूलेटिंग लूप से नमूना लेना



चित्र 13.4 नमूने को स्लाइड पर रखना



चित्र 13.5 स्मीयर बनानाचित्र

स्मीयर बनाना

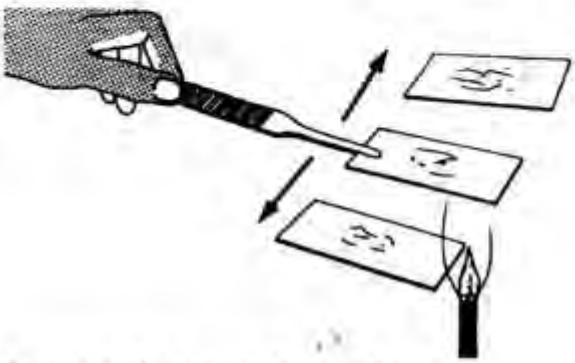
1. लूप को लाल होने तक गर्म कीजिए: इसे लौ के नीले भाग के ऊपर और यथासंभव सीधा खड़ा रखिए (चित्र 13.2)। इसे ठण्डा होने दें (20 तक गिनती गिनें)।
2. छल्ले को तरल की सतह पर रखकर जांच हेतु नमूने की थोड़ी सी मात्रा लीजिए (चित्र 13.3)।
3. एक स्लाइड पर नम्बर डालें और छल्ले को उसके बीचोंबीच दबाइए (चित्र 13.4)।
4. छल्ले को स्लाइड पर रखते हुए उसे एक अण्डाकार कुण्डली में घुमाइए (चित्र 13.5)।

   नमूने और स्लाइड के चारों कोनों के बीच जगह खाली छोडें। स्लाइड को पूरी तरह सूख जाने दें।
5. चरण 1 दोहराएं।

   कई बार बाहरी स्रोतो से अचिन्हित नमूने प्रयोगशाला को प्राप्त होते हैं।

यह जानने के लिए कि स्लाइड के किस ओर स्मीयर बनाया गया है, स्लाइड को इस तरह घुमाइए कि वह खिडकी से आ रही रोशनी को परावर्तित करे।

- स्मीयर वाली तरफ स्लाइड चमकेगी।
- स्मीयर वाली तरफ से स्लाइड प्रकाश को परावर्तित नहीं करेगी।



चित्र 13.6 लौ के ऊपर स्मीयर को फिक्स करना

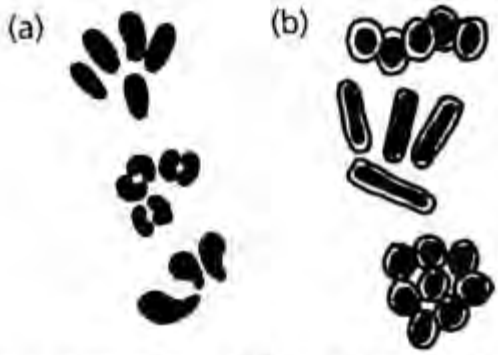
स्मीयर को फिक्स करना

जब स्मीयर पूरी तरह सूख जाए, तब इस पर 70 प्रतिशत मिथेनॉल की चार बूंदें डालकर 2 मिनट तक रखकर फिक्स करें। या स्लाइड के पिछले भाग को तीन बार तेजी से लौ से गुजारकर भी फिक्स कर सकते हैं (चित्र 13.6)।

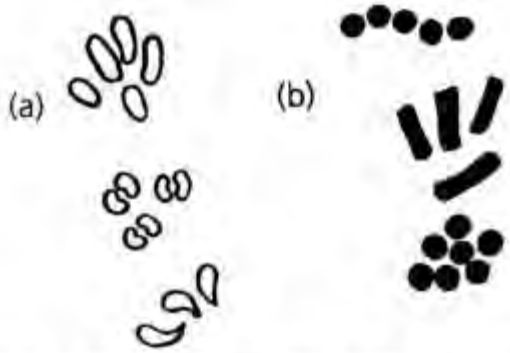
फिक्स किए गए स्मीयर को खण्ड 5.3 में बताए अनुसार अभिरंजित कर सकते हैं।

स्मीयर के आसपास ग्रीस पेंसिल से एक घेरा बना देना उपयोगी रहता है। इससे स्मीयर को आसानी से देखा जा सकता है।

चित्र 13.7 ग्राम अभिरंजन प्रतिक्रिया : क्रिस्टल वायलेट से अभिरंजन
क. ग्राम ऋणात्मक बैक्टीरिया ख. ग्राम धनात्मक बैक्टीरिया



चित्र 13.8 ग्राम अभिरंजन प्रतिक्रिया : आयोडीन घोल से अभिरंजन
क. ग्राम ऋणात्मक बैक्टीरिया ख. ग्राम धनात्मक बैक्टीरिया



चित्र 13.9 ग्राम अभिरंजन प्रतिक्रिया : इथेनॉल से विरंजन
क. ग्राम ऋणात्मक बैक्टीरिया ख. ग्राम धनात्मक बैक्टीरिया

चित्र 13.10 ग्राम अभिरंजन प्रतिक्रिया : कार्बोल फुकसिन या न्यूट्रल रेड या सेफ्रेनीन घोल से पुनः अभिरंजन
क. ग्राम ऋणात्मक बैक्टीरिया ख. ग्राम धनात्मक बैक्टीरिया

अभिरंजन की तकनीकें

1. ग्राम अभिरंजन

ग्राम अभिरंजन के बाद स्मीयर की जांच बैक्टीरिया, मवाद कोशिका, *विन्सेन्ट्स बेसिली* और *कैण्डिडा एल्बिकेन्स* की उपस्थिति हेतु की जा सकती है। परोपजीवी बैक्टीरिया सदैव उपस्थित होते है मगर इनका कोई महत्व नही है। आगे जांच या रिपोर्टिंग की दृष्टि से इन पर ध्यान देने की ज़रूरत नहीं है।

सिद्धांत

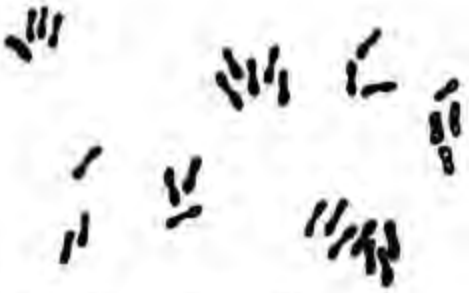
- क्रिस्टल वायलेट अभिरंजक सारे बैक्टीरिया को गहरा जामुनी अभिरंजित कर देता है (चित्र 13.7)
- आयोडीन का घोल इस जामुनी रंग को बैक्टीरिया पर कमोवेश मज़बूती से फिक्स कर देता है (चित्र 13.8)

- 95 प्रतिशत इथेनॉल -

- कुछ बैक्टीरिया को रंगहीन बना देता है, बशर्ते कि आयोडीन द्वारा जामुनी रंग मज़बूती से फिक्स न हुआ हो (चित्र 13.9 क)।
- अन्य बैक्टीरिया को रंगहीन नहीं करता, बशर्ते कि आयोडीन घोल द्वारा जामुनी रंग मजबूती से फिक्स हो गया हो (चित्र 13.9 ख)।

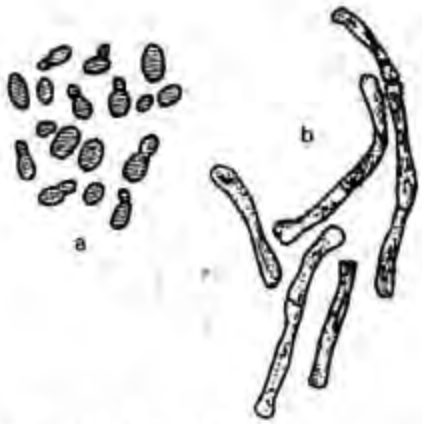
- कार्बोल फुकसिन, न्यूट्रल रेड या सेफ्रेनिन घोल (गुलाबी):

- इथेनॉल द्वारा विरंजित बैक्टीरिया को पुनः अभिरंजित (गुलाबी) कर देते हैं (चित्र 13.10 क)
- अन्य बैक्टीरिया पर कोई असर नहीं करते, ये गहरे जामुनी बने रहते हैं (चित्र 13.10 ख)।

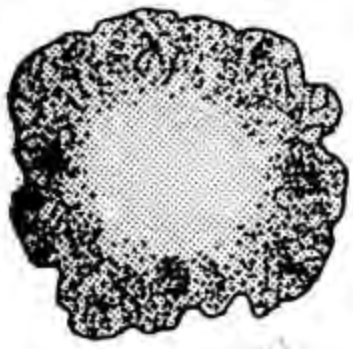


चित्र 13.11 ग्राम धनात्मक जीव

चित्र 13.12 ग्राम ऋणात्मक जीव



चित्र 13.13 कैण्डिडा एल्बिकेन्स



चित्र 13.14 एक्टिनोमायसीट्स

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- क्रिस्टल वायलेट, संशोधित हकर (अभिकारक क्र. 18)
- एसिटोन-इथेनॉल विरंजक (अभिकारक क्र. 4)
- जिएल-नीलसन अभिरंजन हेतु कार्बोल फुकसिन घोल (अभिकारक क्र. 16) (95 प्रतिशत इथेनॉल से 10 गुना तनु किया गया), न्यूट्रल रेड, 0.1 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 40) या सेफ्रेनिन घोल (अभिकारक क्र. 17)।

विधि

1. खण्ड 5.2.4 में बताए तरीके से स्मीयर को फिक्स करें।
2. स्मीयर को 60 सेकंड के लिए क्रिस्टल वायलेट अभिरंजक में डुबोकर रखें।
3. साफ पानी से अभिरंजक को धो डालें। स्लाइड से पानी को बहा दें और फिर स्मीयर पर आयोडीन डालकर 60 सेकंड के लिए रख दें।
4. आयोडीन घोल को साफ पानी से धो डालें। तुरंत एसिटोन-इथेनॉल से विरंजित कर दें। मात्र 2-3 सेकंड के लिए रख दें।
5. स्मीयर पर कार्बोल फुकसिन डालकर 2 मिनट तक रखें।
6. अभिरंजक को साफ पानी से धो डालें और स्लाइड को रैक में खड़ी रखें ताकि पानी निथर जाए और स्लाइड हवा में सूख जाए।

सूक्ष्मदर्शीय जांच

पहले X40 आब्जेक्टिव की मदद से देखिए कि स्मीयर का वितरण कैसा है। फिर X100 ऑइल इमर्शन ऑब्जेक्टिव से देखें।

ग्राम धनात्मक जीव

ग्राम धनात्मक जीव गहरे जामुनी दिखते हैं (चित्र 13.11) (जैसे, स्टेफिलोकोकाई, स्ट्रेप्टोकोकाई, माइक्रोकोकाई, न्यूमोकोकाई, एन्टरोकोकाई, डिप्थीरिया बेसिली, एन्थ्रेक्स बेसिली)।

ग्राम ऋणात्मक जीव

ग्राम ऋणात्मक जीव लाल नज़र आते हैं (चित्र 13.12) (जैसे, गोनोकाई, मेनिंगोकोकाई, शिगेली, साल्मोनेला, कॉलेरा विब्रियो)।

चित्र 13.15 विन्सेन्ट्स बैसिली

अलग-अलग जीवों की पहचान

कैण्डिडा एल्बिकेन्स बड़े (व्यास 2-5 माइक्रोमीटर) अण्डाकार या गोल ग्राम धनात्मक बीजाणु के रूप में दिखाई पडतें हैं (चित्र 13.13क)। इनमे कवक जाल (मायसेलियम) नुमा तंतु होते है। तंतु विभिन्न लंबाइयों के होते हैं और इनके सिरे गोल होते है (चित्र 13.13ख)।

एक्टिनोमायसीट्स बड़े दानों के रूप में दिखते हैं, ये कभी-कभी नंगी आंखों से भी दिखते हैं (सफेद या पीला रंग)। इनका केंद्र ग्राम ऋणात्मक और परिधि ग्राम धनात्मक होती हैं (चित्र 13.14)। ये चमडी, खखार के मवाद में पाए जाते हैं।

विन्सेन्ट्स बैसिली ग्राम ऋणात्मक स्पाइरोकीट्स और तकली जैसे दिखते हैं (चित्र 13.15)।

किसी अन्य बैक्टीरिया को रिपोर्ट नही करना चाहिए क्योंकि वे परोपजीवी हैं और उन्हे रोगकारी मानने की भूल हो सकती है।

गलती के स्त्रोत

मिथ्या ग्राम धनात्मक प्रतिक्रिया निम्नलिखित कारणो से नज़र आ सकती है:

- सूखने से पहले ही स्मीयर को फिक्स कर दिया गया हो।
- स्मीयर बहुत मोटा हो।
- क्रिस्टल वायलेट की शीशी में पेंदें में तलछट जमा रही हो (उपयोग से पहले छान लेना चाहिए)।
- आयोडीन घोल को स्लाइड पर से अच्छी तरह धोकर हटाया न गया हो।
- एसिटोन-इथेनॉल को स्लाइड पर पर्याप्त समय के लिए न रखा गया हो।
- कार्बोल फुकसिन (या सेफ्रेनिन या न्यूट्रल रेड) घोल बहुत गाढ़ा रहा हो अथवा स्लाइड पर बहुत देर तक रखा गया हो।

मिथ्या ग्राम ऋणात्मक प्रतिक्रिया निम्न कारणों से आ सकती है:

- आयोडीन घोल को स्लाइड पर पर्याप्त समय के लिए न रखा गया हो।
- एसिटोन-इथेनॉल को या तो बहुत ज़्यादा समय के लिए रखा गया हो या ठीक से धोया न गया हो।

2. ज़िएल-नीलसन अभिरंजक से अभिरंजन (एसिड-फास्ट बैक्टीरिया की पहचान हेतु)

जिएल-नीलसन अभिरंजक का उपयोग मायकोबैक्टीरिया और क्रिप्टोस्पोरिडियम प्रजातियों के ऊसाइट्स की पहचान के लिए किया जाता है (देखें खण्ड 4.3.2, पृष्ठ...)।

सिद्धांत

जब मायकोबैक्टीरिया और क्रिप्टोस्पोरिडियम प्रजातियो के ऊसाइट्स को कार्बोल फुकसिन के गर्म सांद्र घोल से अभिरंजित किया जाता है, तो वे अम्ल अथवा एसिड-इथेनॉल के घोल से विरंजित नहीं होते और लाल अभिरंजित हो जाते हैं। ऊतक व अन्य जीव एसिड-इथेनॉल के घोल से रंगहीन हो जाते हैं और इन्हें किसी प्रति-अभिरंजक (जैसे मिथायलीन ब्लू) से अभिरंजित किया जा सकता है। मिथायलीन ब्लू से ये नीले अभिरंजित हो जाते है।

मायकोबैक्टीरियम लेप्रे और *क्रिप्टोस्पोरिडियम* प्रजातियों के ऊसाइट्स अम्ल या एसिड-इथेनॉल के मात्र तनु घोल से विरंजन का ही प्रतिरोध कर पाते हैं। इन्हे संशोधित ज़िएल-नीलसन तकनीक (तालिका 13.1) के उपयोग से देखा जा सकता है।

चूंकि ये अम्ल या एसिड-इथेनॉल से विरंजन का प्रतिरोध करते हैं, इसलिए *मायकोबैक्टीरियम* प्रजातियो और *क्रिप्टोस्पोरिडियम* प्रजातियों के ऊसाइट्स को एसिड-फास्ट कहते हैं। ये ग्राम अभिरंजकों या मिथायलीन ब्लू जैसे सरल अभिरंजकों से अभिरंजित नही होते।

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- स्पिरिट लैम्प या बुन्सन बर्नर
- स्लाइड रैक
- चिमटी
- जिएल-नीलसन अभिरंजन हेतु कार्बोल फुकसिन घोल (अभिकारक क्र. 16) (उपयोग से पहले छान लें)
- जिएल-नीलसन अभिरंजन हेतु एसिड-इथेनॉल (अभिकारक क्र. 5)
- मेलेकाइट ग्रीन, 1 प्रतिशत घोल (देखें अभिकारक क्र. 31), आसुत पानी से 1:1 तनुकृत या मिथायलीन ब्लू घोल (अभिकारक क्र. 39)।

विधि

1. खण्ड 5.2.4 में दिए गए तरीके से स्मीयर को फिक्स करें।
2. स्मीयर पर छना हुआ कार्बोल फुकसिन डालें। चिमटी से पकडकर स्लाइड को स्पिरिट लैम्प या बुन्सन बर्नर पर हल्का गर्म करें। गर्म तब तक करें जब तक कि अभिरंजक का वाष्पन शुरू न हो जाए (करीब 60 डिग्री पर, बहुत गर्म न करें)।
3. अभिरंजक को स्लाइड पर 5 मिनट तक रहने दें।
4. साफ पानी से अभिरंजक को धो डालें और स्मीयर पर एसिड-इथेनॉल डालकर रख दें। इसे 5 मिनट या स्मीयर के हल्का गुलाबी होने तक रखा रहने दें।
5. स्लाइड को साफ पानी में अच्छी तरह धोएं और फिर स्मीयर पर मेलेकाइट ग्रीन या मिथायलीन ब्लू डालकर 2 मिनट तक रखा रहने दें।
6. अभिरंजक को साफ पानी से धो डालें और स्लाइड को निथरने व सूखने के लिए स्लाइड रैक में खड़ी रखें। स्मीयर को पोंछने की कोशिश न करें।

सूक्ष्मदर्शीय जांच

स्लाइड को सूक्ष्मदर्शी में देखिए। पहले X40 ऑब्जेक्टिव की मदद से देखिए कि स्मीयर का वितरण कैसा है। इसके बाद X100 ऑइल इमर्शन ऑब्जेक्टिव की मदद से सिलसिलेवार एसिड-फास्ट बैसिली (लाल बैसिली) की खोज कीजिए। स्लाइड को एक छोर से दूसरे छोर तक क्रमशः देखते हुए पूरे स्मीयर की जांच कीजिए। प्रति सूक्ष्मदर्शी क्षेत्र में एसिड-फास्ट बैसिली की संख्या गिनिए (यदि बहुत ही कम एसिड-फास्ट बैसिली उपस्थित हो, तो प्रति 100 सूक्ष्मदर्शी क्षेत्र में संख्या गिनें)।

अगली स्लाइड की जांच करने से पहले ऑब्जेक्टिव को लेंस टिशू कागज़ से पोंछकर साफ कर लें ताकि पिछली स्लाइड के एसिड-फास्ट बैसिली इस स्लाइड पर आने की आशंका न रहें।

यदि लाल बैसिली नज़र आएं, तो रिर्पोट कीजिएः "एसिड-फास्ट बैसिली उपस्थित"। तालिका 13.2 में दर्शाए अनुसार एसिड-फास्ट बैसिली की संख्या रिर्पोट करें।

यदि कोई एसिड-फास्ट बैसिली नज़र न आए तो रिर्पोट कीजिएः "कोई एसिड-फास्ट बैसिली नहीं दिखें"।

तालिका 13.1 जिएल-नीलसन अभिरंजक से अभिरंजित जीव

नमूना	जीव
खखार	मायकोबैक्टीरियम ट्यूबरकुलोसिस
	मायकोबैक्टीरियम बोविस
चमड़ी	मायकोबैक्टीरियम लेप्रे
	मायकोबैक्टीरियम अल्सरेन्स
पेशाब	मायकोबैक्टीरियम ट्यूबरकुलोसिस
	मायकोबैक्टीरियम बोविस
मल	क्रिप्टोस्पोरिडियम प्रजातियां
उदर प्रक्षालन सामग्री	मायकोबैक्टीरियम ट्यूबरकुलोसिस
(गेस्ट्रिक लेवेज)	मायकोबैक्टीरियम बोविस

तालिका 13.2 एसिड-फास्ट बैसिली की उपस्थित संख्या की रिर्पोट

प्रति सूक्ष्मदर्शी क्षेत्र में उपस्थित	परिणाम
एसिड-फास्ट बेसिली	
0.1 से कम (प्रति 100 क्षेत्र में 10 से कम)	प्रति 100 क्षेत्र में उपस्थित संख्या दर्शाएं
0.1-1 (10-100 प्रति 100 क्षेत्र)	+
1-10	+ +
10 से अधिक	+ + +

1. खखार की जांच

विधि

नमूना प्राप्त करना

खखार का नमूना

खखार के नमूने सुबह-सुबह प्राप्त करना चाहिए।

1. मरीज़ से कहें कि वह गहरी सांस ले और फिर जमकर खांसे और जो कुछ भी मुंह में आए उसे एक पात्र में थूक दें (चित्र 13.16)। ढक्कन लगा दे और पात्र पर मरीज़ का नाम व क्रमांक लिख दें।
2. यदि नमूने को *मायकोबैक्टीरियम ट्यूबरकुलोसिस* के कल्चर (देखें खण्ड 5.44) हेतु किसी प्रयोगशाला में भेजा जाना है, तो मरीज़ से कहिए कि वह सीधे एक चौड़े मुंह वाले, चूड़ीदार ढक्कन वाले जार में खखार थूकें जिसमें 25 मि.ली. निम्नलिखित घोल रखा हो:

एन-एसिटाइलपायरीडिनियम क्लोराइड	5 ग्राम
सोडियम क्लोराइड	10 ग्राम
आसुत पानी	q.s.1000 मि.ली.

ढक्कन कसकर लगो दें और जार पर मरीज़ का नाम और नमूना संग्रह करने की तारीख डाल दें (देखें खण्ड 3.7.1)।

ज़रूरी बात: तरल झागवाली लार और नाक व गले से प्राप्त स्राव बैक्टीरिया जॉच के लिए उपयुक्त

चित्र 13.16 खखार का नमूना प्राप्त करना

नही होते। ऐसी स्थिति में मरीज़ से फिर से कोशिश करने को कहें।

खखार की सूक्ष्मदर्शीय जांच

खखार की जांच पहले नंगी आंख से और फिर सूक्ष्मदर्शी से करें।

बैक्टीरिया संक्रमण से ग्रस्त व्यक्ति की खखार में आम तौर पर निम्नलिखित चीज़ें पाई जाती हैं:

- हवा के बुलबुले युक्त गाढ़ा श्लेष्मा
- फाइब्रिन के रेशे
- मवाद के थक्के
- कभी-कभार रक्त की धारियां

आंखो से देखकर जांच करने के बाद परिणाम निम्नानुसार रिर्पोट करें:

- मवाद युक्त: हरा-सा मवाद उपस्थित
- श्लेष्मा व मवाद युक्त: हरा-सा, मवाद और श्लेष्मा दोनों उपस्थित
- श्लेष्मी: प्रायः श्लेष्मा युक्त
- श्लेष्मा-लार युक्त: श्लेष्मा व थोड़ी मात्रा में लार युक्त

यदि रक्त उपस्थित हो, तो रिर्पोट किया जाना चाहिए।

यदि खखार का नमूना अधिकाशंतः लारवाला है तो यह कल्चर या प्रत्यक्ष जांच के लिए उपयुक्त नहीं होता।

अल्बर्ट अभिरंजक से अभिरंजित स्मीयर की जांच ~~खण्ड 5.3.2 में बताए अनुसार करें।~~ यदि हरे-काले वाल्यूटिन दानों से युक्त हरी छड़ें (~~देखे चित्र 5.16~~) नज़र आएं, तो रिर्पोट करें: "कोराइनबैक्टीरियम डिप्थेरी उपस्थित"।

~~खण्ड 5 में बताए तरीके से~~ जिएल-नीलसन अभिरंजक से अभिरंजित स्मीयर की जांच कीजिए। यदि लाल बैसिली नज़र आए, तो रिर्पोट करें: "एसिड-फास्ट बैसिली उपस्थित"। तालिका 5.2 में बताए अनुसार एसिड-फास्ट बैसिली की संख्या रिर्पोट करें। यदि कोई एसिड-फास्ट बैसिली न दिखे तो रिर्पोट करें: "कोई एसिड-फास्ट बैसिली नहीं दिखा"।

कल्चर के लिए नमूना भेजना

खखार का नमूना

खखार के नमूने बैक्टीरिया विज्ञान प्रयोगशाला में *मायकोबैक्टीरियम टयूबरकुलोसिस* के कल्चर, एण्टीमाइक्रोबियल प्रभाविता की जांच और गिनी पिग (एक किस्म का चूहा) में संक्रमण करने हेतु भेजे जाते हैं। नमूने ~~खण्ड 5.4.2 में बताए गए माध्यम में~~ संग्रहित करके तत्काल प्रयोगशाला में भेज देना चाहिए।

संरक्षित रहने की अधिकतम अवधि: 10 दिन।

2. चमड़ी के स्मीयर और नाक की खुरचन में *मायकोबैक्टीरियम लेप्रे* की जांच

कुष्ठ या हेन्सन रोग *मायकोबैक्टीरियम लेप्रे* द्वारा परिधीय तंत्रिका ऊतकों के संक्रमण का परिणाम होता है।

लेप्रोमेटस घावों (बहुबैक्टीरिया कुष्ठ) में बैसिली बड़ी तादाद में उपस्थित हो सकते हैं जबकि टयूबरकुलाइड घावों (पौसीबेसिलरी) में ये बहुत थोड़ी तादाद में या अनुपस्थित होते हैं।

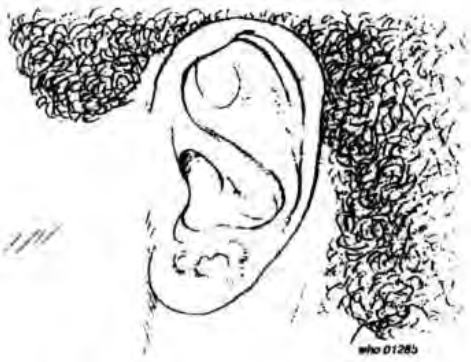
निदान हेतु शरीर के विभिन्न स्थानों से कटी हुई चमडी या नाक की अंदर वाली दीवार की खुरचन की

जांच की जाती है। फिक्स करने के बाद स्मीयर को संशोधित जिएल-नीलसन विधि से अभिरंजित किया जाता है।

कटी चमड़ी (स्लिट स्किन) स्मीयर आम तौर पर शरीर के छः हिस्सों से प्राप्त किए जाते हैं। इन स्थानों का चयन उस भाग में किया जाता है जहां तंत्रिकाएं चमड़ी की सतह के नज़दीक होती हैं। चेहरे या शरीर पर कोई गांठ या चकता हो, तो उसे स्मीयर के लिए जरूर चुना जाना चाहिए।

सामग्री व अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- स्लाइड्स
- छुरी
- गोल सिरों और बगैर दांत वाली चिमटी अथवा बगैर दांत वाली कर्व्ड क्लैम्प चिमटी अथवा ऊतक चिमटी
- हीरक पेंसिल
- पट्टी
- प्लास्टिक की छोटी पन्नियां या दस्ताने
- निर्जीवीकृत रूई के फोहे (देखे खण्ड 5.4.1)
- स्पिरिट लैम्प या बुन्सन बर्नर
- ज़िएल-नीलसन अभिरंजन के लिए अभिकारक (देखे खण्ड 5.3.3)
- 95 प्रतिशत इथेनॉल
- सोडियम क्लोराइड, 0.85 प्रतिशत घोल (अभिकारक क्र. 53)



चित्र 13.17 कान पर कुष्ठ का घाव

विधि

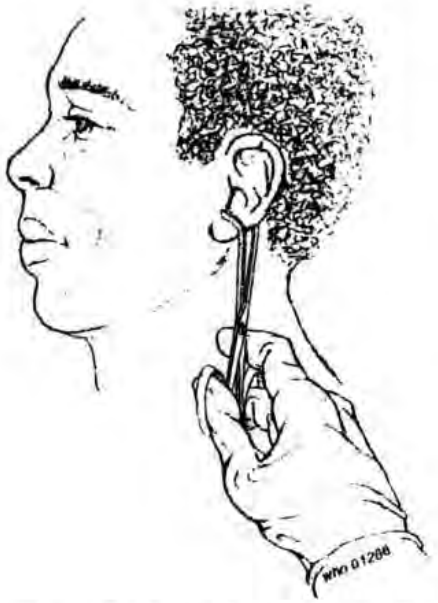
नमूना प्राप्त करना

कान और चमड़ी के घावों से नमूने

1. कान व चमड़ी को अच्छी रोशनी में देखिए। यह ध्यान दीजिए कि कहीं कोई घाव या चमकदार सतह वाली सूजन तो नहीं है (चित्र 13.17)।

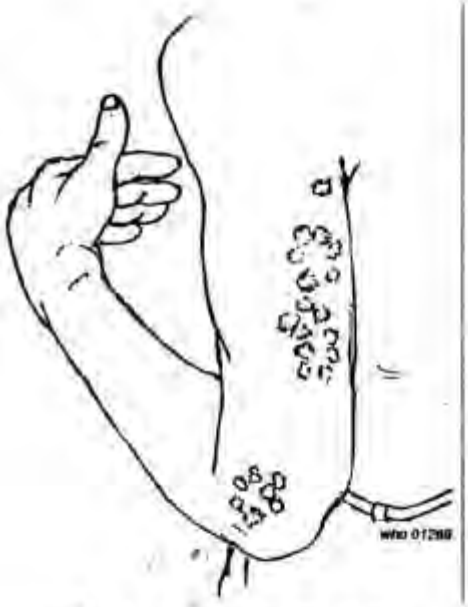
   प्रत्येक कान में सबसे अधिक सघन घाव या गांठ चुनिए। यदि कोई घाव न दिखे, तो कान के लटकते भाग के सिरे से नमूना लीजिए।

   चमड़ी के घाव में एक ऐसा क्षेत्र चुनिए जो बेरंग क्षेत्र के किनारे के थोड़ा ही अंदर हो।
2. इथेनॉल में भीगी पट्टी के फोहे से चुने गए क्षेत्र को संक्रमणमुक्त कीजिए। चिमटी व छुरी को लौ में रखिए।
3. चिमटी की मदद से कान के लोब या चमड़ी के क्षेत्र को दबाइए (चित्र 13.18)। यदि चिमटी उपलब्ध न हो, तो रक्त का बहाव रोकने के लिए तर्जनी और



चित्र 13.18 कान के लटकते भाग को दबाकर खून का बहाव रोकना

चित्र 13.19 कान के घाव से नमूना प्राप्त करना



चित्र 13.20 भुजा पर कुष्ठ के घाव

चित्र 13.21 चेहरे पर कुष्ठ के घाव

अंगूठे से कसकर दबाइए।

4. छुरी की मदद से 0.5 से.मी. लंबा और 2-3 मि.मी. गहरा सतही चीरा लगाइए। यह चीरा घाव के बीच में हो।

   चिमटी से दबाए रखते हुए, छुरी को उसकी चपटी सतह पर घुमा लें और छुरी की नोक से चीरे के आधार को खुरच लीजिए (चित्र 13.19)। सीरस ऊतक द्रव और थोड़ा-सा कोशिकीय पदार्थ एकत्रित कीजिए मगर रक्त न आने दें।

शरीर व चेहरे से नमूना

1. शरीर व चेहरे का अवलोकन करके निम्नलिखित चीज़ें देखिए:
   - कान पर पाए गए घाव जैसे घाव, मगर प्रायः थोड़े बड़े (चित्र 13.20)
   - फुंसियां, सपाट चकत्ते (दाग), या ददारे (चित्र 13.21)। ये चमड़ी के संक्रमित क्षेत्र होते हैं जो हल्के रंग के या मोटे और देखने में संतरे के छिल्के जैसे दिखते हैं।

   सबसे अधिक संक्रमित दाग-छब्बे को चुनिए और उसमें नमूना इकट्ठा करने का स्थान तय कीजिए। यह स्थान उस दाग के किनारे के अंदर, किनारे के समीप ही होना चाहिए, जहां चमड़ी सबसे तेज़ी से बदलती नज़र आए (बैसिली की उपस्थिति सुनिश्चित करने के लिए यह ज़रूरी है।)

   चमड़ी के ऐसे स्थान से भी नमूना लिया जा सकता जहां कुष्ठ संक्रमण के प्रथम लक्षण दिख रहे हों।

2. इथेनॉल में भीगी पट्टी के फोहे से स्थान को संक्रमणयुक्त कीजिए। चिमटी और छुरी को लौ दिखाइए।
3. चिमटी की मदद से चुने गए स्थान को कसकर दबाइए और छुरी की नोक से 0.5 से.मी. लम्बा, 2-3 चीरा लगाइए (चित्र 13.22)।
4. चिमटी से दबाए रखते हुए छुरी की नोक से चीरे के अंदरूनी निचले भाग और किनारे को खुरचिए। थोड़ा सा लुगदी पदार्थ और सीरस पदार्थ एकत्रित कीजिए। इथेनॉल से चीरे को संक्रमणयुक्त कीजिए और यदि रक्त बह रहा हो, तो पटटी बांध दीजिए।

नाक से नमूना

अल् सुबह की छिनकी हुई नाक से सर्वोत्तम नमूना बनता है। मरीज़ अपनी नाक सेलोफेन या प्लास्टिक की एक छोटी साफ, सूखी शीट में छिनक दे।

स्लाइड बनाना

कान व चमड़ी के घावों के नमूने

1. छुरी के फलक की नोक पर एकत्रित सीरस पदार्थ को एक स्लाइड पर फैलाइए ताकि 5-7 मि.मी.व्यास का एक वृत बन जाए (चित्र 13.23)। नमूना फैलाने के लिए नोक को गोल-गोल घुमाइए। स्लाइड पर हीरक पेंसिल से लेबल अंकित कर दें। एक ही मरीज के दो-चार स्मीयर एक ही स्लाइड पर बनाए जा सकते

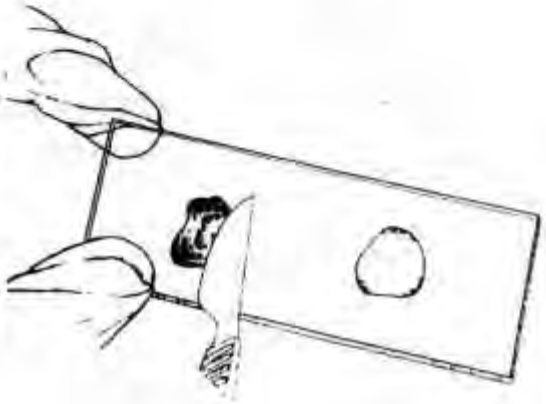
हैं।

2. स्लाइड को किसी धूलमुक्त जगह पर सुखाएं और फिर स्पिरिट लैम्प या बुन्सन बर्नर की लौ में से कई बार गुज़ारकर फिक्स कर लें।
3. संशोधित ज़िएल-नीलसन तकनीक से स्मीयर्स को अभिरंजित कर लें (खण्ड 5.3.3देखें)।

चित्र 13.22 चमड़ी के घाव से नमूना लेना

शरीर व चेहरे के नमूने

1. छुरी की मदद से गोल-गोल घुमाते हुए एक स्लाइड पर नमूने को 5-7 मि.मी. व्यास के क्षेत्र में फैला लें। स्लाइड को हीरक पेंसिल से लेबल करें। एक ही मरीज़ के 3-6 नमूने एक ही स्लाइड पर रखे जा सकते हैं।
2. जैसे कान व चमडी के घावों के नमूने के साथ किया था, इन नमूनों को भी सुखाकर फिक्स कर लें।
3. संशोधित ज़िएल-नीलसन तकनीक से स्मीयर्स को अभिरंजित कर लें (देखें खण्ड 5.3.3)।



चित्र 13.23 नमूने को स्लाइड पर लगाना

नाक के नमूने

1. प्लास्टिक शीट पर रखी थोड़ी सी नाक की श्लेष्मा को सोडियम क्लोराइड घोल में हल्के से भीगे कपास के फोहे से एक लेबलयुक्त स्लाइड पर लगा दीजिए।
2. सामग्री को स्लाइड पर एकसार फैलाकर सूखने दीजिए।
3. पूरी तरह सूख जाने पर स्लाइड को स्पिरिट लैम्प या बुन्सन बर्नर की लौ में से गुज़ारकर फिक्स कर लें।
4. संशोधित ज़िएल-नीलसन तकनीक से स्लाइड को अभिरंजित कर लें (खण्ड 5.3.3 देखें)।

सूक्ष्मदर्शीय जांच

स्लाइड को देखने के लिए X100 ऑइल इमर्शन ऑब्जेक्टिव का उपयोग करें।

मायकोबैक्टीरियम लेप्रे एसिड-फास्ट बैसिली है। संशोधित ज़िएल-नीलसन तकनीक से अभिरंजन करने पर ये नीली पृष्ठभूमि में लाल नज़र आते हैं।

साइज़: 1-8 माइक्रोमीटर।

आकृति: थोड़ी बड़ी छड़ें, सीधी या थोड़ी घुमी हुई, सिरे गोल। अक्सर ये दानेदार नज़र आते हैं जिनकी छड़ें कई हिस्सों मे बंटी होती हैं।

जमावट: छड़ें या तो 2-5 के समूह में परस्पर समांतर जमी होती हैं (चित्र 13.24 क) या बड़े समूह या झुण्ड में (चित्र 13.24 ख)। कभी-कभी ये बड़ी संख्या में वृत्ताकार पिण्ड के रूप में जमा होते हैं जिन्हे ग्लोबी कहते हैं (चित्र 13.24 ग)।

टीप: नाक की श्लेष्मा में कभी-कभी गैर-रोगकारी एसिड-फास्ट

चित्र 13.24 क मायकोबैक्टिरियम लेप्रे
मा. लेप्रे छड़ें जमी हुई
क. 2-5 के समूह में समांतर जमावट
ख. बड़े समूह या झुंड में
ग. बड़ी संख्या में वृत्ताकार पिण्ड (ग्लोबी) के रूप में

बैसिली पाए जाते हैं जो *मायकोबैक्टीरियम लेप्रे* नहीं हैं।

परिणामों का रिकार्डिंग

परिणाम निम्नानुसार रिकॉर्ड करें:

- एसिड-फास्ट बैसिली उपस्थित या
- कोई एसिड-फास्ट बैसिली नही दिखा।

जांच के परिणामों को तालिका 13.3 में बताए अनुसार श्रेणी-बद्ध भी किया जा सकता है।

तालिका 13.3 *मायकोबैक्टीरियम लेप्रे* की जांच के परिणामों की रिपोर्टिंग

प्रति सूक्ष्मदर्शी क्षेत्र में बैसिली की संख्या	परिणाम
कुछ नही (100 क्षेत्रों में 1 से कम)	0
0.01-0.1 (100 क्षेत्रों में 1-10)	1+
0.1-1 (10 क्षेत्रों में 1-10)	2+
1-10	3+
10-100	4+
100-1000	5+
1000 से ज़्यादा	6+

बैक्टीरिया सूचकांक

बैक्टीरिया सूचकांक (BI) बैक्टीरिया बोझ दर्शाता है। इसकी गणना के लिए शरीर के सारे हिस्सों से लिए गए नमूनो के सकारात्मक परिणामों की संख्या जोड़कर उसमें नमूनो की कुल संख्या का भाग दे देते हैं। उदाहरण के लिए:

- दायां कान 3+
- बायां कान 2+
- बाईं भुजा 2+
- पीठ 1+

कुल सकारात्मक नमूनो की संख्या हुई 8 और BI हुआ 8/4 = 2।

संरचना सूचकांक (मॉर्फोलॉजिकल इन्डेक्स)

संरचना सूचकांक बैसिली की जीवन क्षमता दर्शाता है। इसकी गणना निम्नानुसार की जाती है: तैयार की गई स्लाइड में X100 ऑब्जेक्टिव की मदद से 100 बैसिली का अवलोकन कीजिए। उन बैक्टीरिया को गिन लीजिए जो एकरूप लाल अभिरंजित हुए हैं यानी जिनकी छड़ में कहीं दरार नहीं हैं। इन्हे जीवनक्षम बैसिली माना जाता है और उदाहरण के लिए यदि जीवनक्षम बैसिली की संख्या 8 है तो मार्फोलॉजिकल इन्डेक्स 8 प्रतिशत है।

कल्चर (संवर्धन)

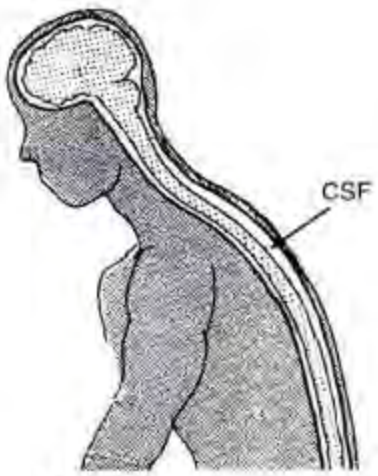
मायकोबैक्टीरियम लेप्रे को शरीर से बाहर (उपकरणों में, *इन विट्रो*) संवर्धित करने की कोई विधि उपलब्ध नहीं है। वैसे इसका संवर्धन चूहे के पैर की गद्दी में या आर्मेडिलो के शरीर में किया जा सकता है।

v/;k; & 14
efLr"d & e:jTt no dh tkp

मस्तिष्क-मेरुरज्जु द्रव (सेरेब्रो-स्पाइनल फ्लूइड, सी.एस.एफ.) उस गुहा में पाया जाता है जो खोपड़ी में मस्तिष्क को और मेरुदण्ड में मेरुरज्जु को घेरे रहती है (चित्र 14.1)। यह केंद्रीय तंत्रिका तंत्र को पोषण उपलब्ध कराता है और मस्तिष्क व मेरुरज्जु को चोट से बचाता है।

वयस्कों में सी.एस.एफ. की मात्रा 100-150 मि.ली. होती है।

बच्चों में इसकी मात्रा कम होती है और यह शरीर के वज़न के अनुसार कम ज़्यादा होती है।



चित्र 14.1 मस्तिष्क-मेरुरज्जु द्रव का स्थान

सी.एस.एफ. की जांच के आम कारण

सी.एस.एफ. की जांच के सबसे आम कारण निम्नलिखित रोगों की आशंका को निरस्त करना होता है:

- मेनिंजाइटिस
- केंद्रीय तंत्रिका तंत्र में रक्त स्राव
- कतिपय कैंसर

मेनिंजाइटिस यानी मेनिंजेस की सूजन। मेनिंजेस वह झिल्ली है जो खोपड़ी के अंदर एक अस्तर के रूप में होती है और मस्तिष्क व मेरुरज्जु पर एक आवरण बनाती है। मेनिंजाइटिस अक्सर संक्रमण की वजह से होता है (देखें तालिका 8.1)।

तालिका 14.1 मेनिंजाइटिस के आम कारण

संक्रमण का प्रकार	सम्बंधित जीव
बैक्टीरिया	*नाइसेरिया मेनिंजाइटिस*
	स्ट्रेप्टोकोकस प्रजातियां विशेष रूप से एस.न्यूमोनिए
	स्टैफ़िलोकॉकस प्रजातियां
	हीमोफिलस इन्फ्लुएन्ज़ा
	एश्रीशिया कोली
	लिस्टेरिया मोनोसायटोजेन्स
	लेप्टोस्पाइरा प्रजातियां
	मायकोबैक्टीरियम ट्यूबरकुलोसिस
	ट्रेपोनेमा पैलिडम
	स्यूडोमोनास प्रजातियां
प्रोटोज़ोआ	*प्लाज़्मोडियम* प्रजातियां
वायरस	कॉक्सेकी वायरस
	आर्बो वायरस
	इको वायरस
	पोलियो वायरस
	मम्स वायरस
	एरीना वायरस
	मानव हर्पेक्स वायरस
	हिपेटाइटिस वायरस
फफूंद	*कैण्डिडा एल्बिकेन्स*
	क्रिप्टोकोकस नियोफोरमन्स

चित्र 14.2 सी.एस.एफ. नमूना प्राप्त करना

सी.एस.एफ. नमूना प्राप्त करना

सी.एस.एफ. के नमूने किसी चिकित्सक या विशेष तौर से प्रशिक्षित नर्स द्वारा लिए जाने चाहिए।

1. निर्जीवीकृत लम्बर पंक्चर सुई को चौथी व पांचवी लम्बर कशेरुक के बीच 4-5 से.मी. की गहराई तक प्रविष्ट कराया जाता है। स्टाइलेट को हटा देने पर द्रव मुक्त रूप से सुई में से बहने लगता है (चित्र 14.2)।
2. दो परखनलियों में से प्रत्येक में 6-7 मि.ली. सी.एस.एफ. एकत्रित कर लिया जाता है। परखनलियों पर क्र. 1 व 2 डाल देते हैं।

परखनली 1 का उपयोग देखकर जांच के लिए और सूक्ष्मदर्शीय व रासायनिक जांच हेतु किया जाता है।

परखनली 2 का उपयोग बैक्टीरिया संवर्धन हेतु करते हैं।

सी.एस.एफ. नमूने की जांच

सावधानियां

सी.एस.एफ. की जांच में देरी न करें। सी.एस.एफ. नमूने में कोशिकाएं व ट्रिपेनोसोम्स बहुत तेज़ी से नष्ट हो जाते हैं। यदि —— आक्ज़लेट अभिकारक (~~अभिकारक क्र. 26, खण्ड 10.1~~) से संरक्षित न किया जाए तो ग्लूकोज़ भी तेज़ी से नष्ट हो जाता है।

- सावधानी और किफायत से काम करें। जांच के लिए अक्सर बहुत थोड़ा सा सी.एस.एफ. उपलब्ध होता है। नमूना प्राप्त करना मुश्किल होता है, अतः इसे थोड़ा भी फालतू न जाने दें।
- सी.एस.एफ. में संक्रामक जीव हो सकते हैं। गैर-अवशोषी रूई के फोहे लगे पिपेट का उपयोग करें अथवा पिपेट में द्रव खींचने के लिए रबर बल्ब का उपयोग करें। सी.एस.एफ. को कदापि मुंह से न खींचे।

प्रत्यक्ष जांच

प्रयोगशाला रिपोर्ट में बताएं कि सी.एस.एफ. देखने में कैसा था।

साफ सी.एस.एफ.

सामान्य सी.एस.एफ. साफ और पारदर्शी होता है (चित्र 14.3क)।

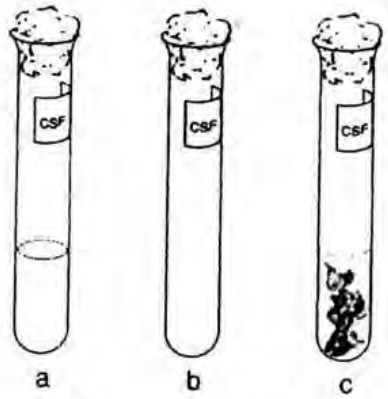
धुंधला सी.एस.एफ.

मवाद उपस्थित होने पर सी.एस.एफ. थोड़ा धुंधला या भूरा सफेद हो सकता है (चित्र 14.3ख)।

रक्तरंजित सी.एस.एफ.

यदि रक्त उपस्थित हो, तो सी.एस.एफ. धुंधला और गुलाबी या लाल-सा दिखता है (चित्र 14.3ग)। दरअसल सी.एस.एफ. में रक्त निम्नलिखित दो में से एक कारण से पाया जाता है:

- लंबर पंक्चर के दौरान कोई रक्त वाहिनी फट जाने के कारण (इस मामले में नली 2 की अपेक्षा नली 1 में ज़्यादा रक्त होता है)।
- सबएरेकनॉइड रक्तस्राव के कारण (इस मामले में दोनों नलियों में बराबर रक्त होगा)।



चित्र 14.3 सी.एस.एफ. की देखकर जांच
क. साफ (सामान्य)
ख. धुंधला
ग. खून से रंगा

चित्र 14.4 रक्त वाहिनी की क्षति से ग्रस्त मरीज़ का सी.एस.एफ.

चित्र 14.5 सबएरेक्नॉइड रक्तस्राव वाले मरीज़ का सी.एस.एफ.

चित्र 14.6 ज़ेन्थोक्रोमिया वाले मरीज़ का सी.एस.एफचित्र

यदि सी.एस.एफ. की मात्र एक ही परखनली उपलब्ध हो, तो एरिथ्रोसाइट्स के पेंदे में बैठ जाने का इंतज़ार करें (अथवा 5 मिनट के लिए 2000 गुरुत्व पर सेंट्रीफ्यूज कर लें) और ऊपर के द्रव की जांच करें।

यदि ऊपर का द्रव साफ है (चित्र 14.4) तो रक्त की उपस्थिति रक्त वाहिनी की दुर्घटनावश हुई क्षति के कारण है।

यदि ऊपर का द्रव रक्त रंजित है (चित्र 14.5) तो यह रक्त सबएरेक्नॉइड रक्त स्राव के कारण है।

ज़ेन्थोक्रोमिया

सी.एस.एफ. में पीलापन (ज़ेन्थोक्रोमिया, चित्र 14.6) निम्न कारणों से हो सकता है:

- कोई पुराना रक्तस्राव
- गंभीर पीलिया
- मेरुरज्जु में अवरोध, सी.एस.एफ. का पूरा थक्का बन जाता है।

यदि थक्के मौजूद हों, तो यह बात रिपोर्ट में बताना चाहिए।

सूक्ष्मदर्शीय जांच

सी.एस.एफ. की सूक्ष्मदर्शीय जांच में निम्नलिखित चीज़ें शामिल होती हैं:

- रक्त कोशिकाओं की गीली स्लाइड की जांच
- अफ्रीकन ट्रिपेनोसोमिएसिस वाले इलाकों में एक गीली स्लाइड में ट्रिपेनोसोमा खोजना
- मेनिंजाइटिस पैदा करने वाले जीवों (जैसे *नाइसेरिया मेनिंजाइटिस*, *स्ट्रेप्टोकोकस न्यूमोनिए* और *हीमोफिलस इंफ्लूएंज़े*) हेतु ग्राम अभिरंजित स्मीयर की जांच (देखें तालिका 8.1)
- यदि ट्यूबरकुलस मेनिंजाइटिस की शंका हो, तो ज़िएल-नीलसन अभिरंजित स्मीयर की जांच
- शंका होने पर *क्रिप्टोकोकस नियोफोरमन्स* और *कैण्डिडा एल्बिकेन्स* जैसी फफूंद की जांच।

उपरोक्त जांच सेंट्रीफ्यूज किए गए सी.एस.एफ. में जमी तलछट के साथ की जाती हैं।

सी.एस.एफ. में रक्त कोशिकाएं

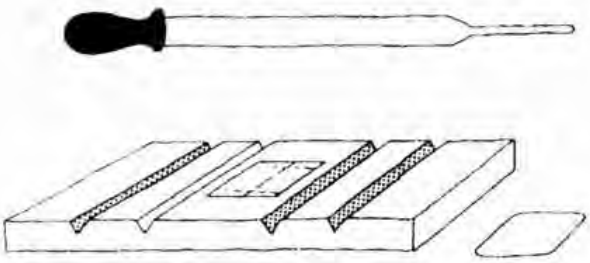
कतिपय बीमारियों में सी.एस.एफ. में अलग-अलग मात्रा में रक्त कोशिकाएं पाई जा सकती हैं। सी.एस.एफ. की जांच निम्नानुसार की जाती है:

- एरिथ्रोसाइट्स की उपस्थिति पता करना
- ल्यूकोसाइट की कुल संख्या (ल्यूकोसाइट संख्या सांद्रता) पता करना
- विभिन्न किस्म के ल्यूकोसाइट्स पता करना (विभेदित ल्यूकोसाइट संख्या)

ज़रूरी बात: नमूने प्राप्त करने के बाद जल्दी से जल्दी एरिथ्रोसाइट की जांच कर लेनी चाहिए क्योंकि ये जल्दी ही नष्ट होने लगते हैं।

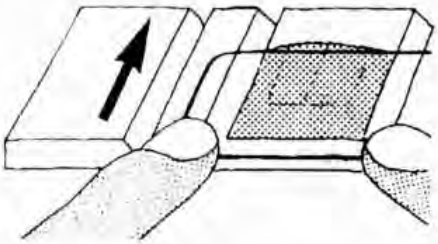
ल्यूकोसाइट संख्या सांद्रता पता करना

सामग्री और अभिकारक (चित्र 14.7)

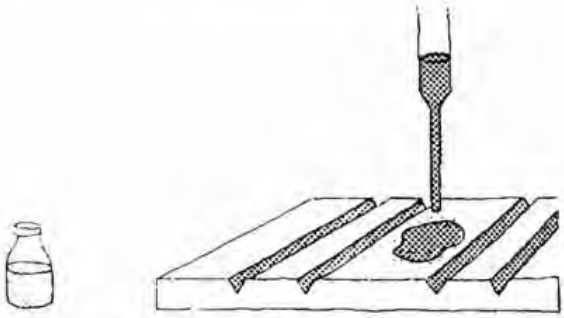


चित्र 14.7 ल्यूकोसाइट संख्या के लिए सामग्री व अभिकारक

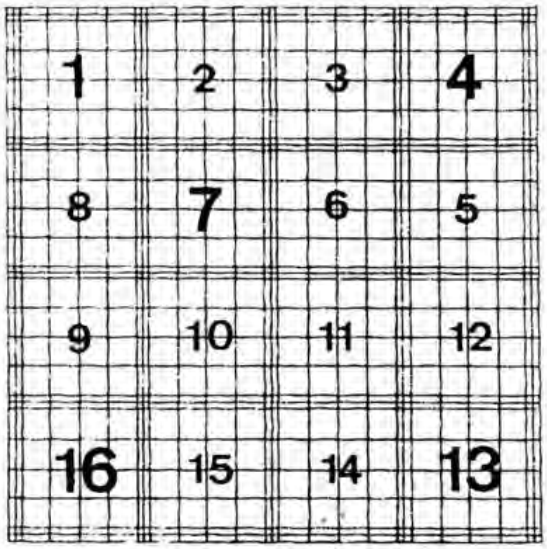
- सूक्ष्मदर्शी
- फुक्स-रोज़ेन्थाल गणना प्रकोष्ठ (यदि यह उपलब्ध न हो, तो उन्नत न्यूबौर गणना प्रकोष्ठ से काम चल सकता है)
- रबर की घुण्डी वाला पाश्चर पिपेट
- कवर स्लिप्स (गणना प्रकोष्ठ के साथ प्रदत्त)
- बोतल, 2-5 मि.ली.
- टुर्क घोल (~~अभिकारक क्र. 51~~)



चित्र 14.8 गणना प्रकोष्ठ को कवर स्लिप से ढंकना



चित्र 14.9 गणना प्रकोष्ठ में सी.एस.एफ. द्रव भरना



चित्र 14.10 फुक्स-रोज़ेन्थाल गणना प्रकोष्ठ का उपयोग

विधि

1. गणना प्रकोष्ठ को प्रदत्त कवर स्लिप से ढंक दें (चित्र 14.8)।
2. सी.एस.एफ. को धीरे-धीरे हिलाएं और प्रकोष्ठ में द्रव भर दें (चित्र 14.9):
   - यदि सी.एस.एफ. साफ हो, तो बगैर तनु किए
   - यदि सी.एस.एफ. धुंधला हो, तो तनु करके।

   0.05 मि.ली. सी.एस.एफ. और 0.95 मि.ली. टुर्क घोल लेकर मिला लें। पिपेट की मदद से एक शीशी में डालकर मिलाएं।
3. गणना प्रकोष्ठ को 5 मिनट के लिए बेंच पर रखा रहने दें ताकि कोशिकाएं बैठ जाएं। प्रकोष्ठ को सूक्ष्मदर्शी के मंच पर रखें।
4. X10 ऑब्जेक्टिव की मदद से 1 मि.मी.^{3} सी.एस.एफ. में कोशिकाओं की संख्या गिनिए। जब अंतर्राष्ट्रीय मानक इकाई में रिपोर्ट करना हो, तो 'संख्या X10^6 प्रति लीटर' के रूप में लिखें, संख्या का मान नहीं बदलेगा।

उदाहरण: 150 कोशिकाएं प्रति मि.मी.^{3} को '150X10^6 प्रति लीटर' रिपोर्ट किया जाता है।

ज़रूरी बात: यदि तनु किए बगैर सी.एस.एफ. का उपयोग करें, तो कोशिकाएं देखने के लिए X40 ऑब्जेक्टिव का उपयोग करें और ध्यान से देखें कि कोशिकाएं ल्यूकोसाइट्स ही हैं। यदि एरिथ्रोसाइट्स उपस्थित हों, तो उनकी गिनती X40 ऑब्जेक्टिव की मदद से कीजिए।

फुक्स-रोज़ेन्थाल गणना प्रकोष्ठ का उपयोग

फुक्स-रोजेन्थाल गणना प्रकोष्ठ का क्षेत्रफल 1 मि.मी.^{2} (संशोधित प्रकोष्ठ) या 16 मि.मी.^{2} होता है और प्रकोष्ठ की गहराई 0.2 मि.मी. होती है।

1, 4, 7, 13 और 16 नंबर के वर्गों (चित्र 14.10) का उपयोग करते हुए 5 मि.मी.^{3} में कोशिकाएं गिनिए।

यदि बगैर तनु किए सी.एस.एफ. का उपयोग करते हैं, तो किसी गणना की ज़रूरत नहीं है, गिनी गई कोशिकाओं की संख्या ही प्रति मि.मी.^{3} में कोशिका संख्या होती है।

यदि 20 में 1 तनुता का सी.एस.एफ. लेते हैं, तो गिनी गई कोशिकाओं की संख्या में 20 का गुणा करके प्रति मि.मी.^{3} सी.एस.एफ. में कोशिकाओं की संख्या निकाली जाती है।

उन्नत न्यूबौर गणना प्रकोष्ठ का उपयोग

यदि आप उन्नत न्यूबौर गणना प्रकोष्ठ का उपयोग कर रहे हों, तो पूरे रूल्ड क्षेत्र के अंदर की कोशिकाएं गिनें। इस क्षेत्र का क्षेत्रफल 1 मि.मी.^{2} होता है।

यदि तनु किए बगैर सी.एस.एफ. का उपयोग कर रहे हैं, तो गिनी गई कोशिकाओं की संख्या में 10 का गुणा करके 9 से भाग देने पर प्रति मि.मी.^{3} सी.एस.एफ. में कोशिकाओं की संख्या प्राप्त होगी।

यदि सीएससफ को 20 में 1 तनु करके उपयोग कर रहे हैं तो गिनी गई कोशिकाओं की संख्या में 20 गुणा करके 9 से भाग देने पर प्रति मि.मी.^{3} सी.एस.एफ. में कोशिकाओं की संख्या प्राप्त होगी।

परिणाम

सामान्य सी.एस.एफ. में प्रति लीटर $5X10^6$ से कम (5 प्रति मि.मी.^{3} से कम) ल्यूकोसाइट्स पाए जाते हैं। ल्यूकोसाइट्स की बढ़ी हुई संख्या निम्न परिस्थितियों में पाई जाती है:

- बैक्टीरिया जनित मेनिंजाइटिस (*मेनिंगोकोकल, हीमोफिलस इंफ्लुएंज़े, न्यूमोकोकल*): अधिकतर न्यूट्रोफिल्स।
- ट्यूबरकुलर या वायरल मेनिंजाइटिस: अधिकतर लिम्फोसाइट्स।
- अफ्रीकन ट्रिपेनोसोमिएसिस: अधिकतर लिम्फोसाइट्स मगर ट्रिपेनोसोमा और मॉट कोशिकाएं भी दिख सकती हैं।

ल्यूकोसाइट की किस्मों की संख्याएं पता करना

(विभेदित ल्यूकोसाइट संख्या)

सामग्री और अभिकारक

- सूक्ष्मदर्शी
- स्लाइड्स
- सेंट्रीफ्यूज नलियां
- पिपेट्स
- रोमानोव्स्की अभिरंजक (देखें खण्ड 9.10.1)
- मिथेनॉल

विधि

यदि सी.एस.एफ. में बहुत अधिक कोशिकाएं न हों ($200X10^6$ प्रति लीटर से कम) -

1. सी.एस.एफ. को 10 मिनट तक 2000 गुरुत्व पर सेंट्रीफ्यूज कीजिए। ऊपर के द्रव को एक अन्य परखनली में निथार दीजिए (इसका उपयोग अन्य परीक्षणों के लिए किया जाएगा)।
2. नली के सिरे को ठोंक-ठोंककर तलछट को मिला लीजिए। एक साफ स्लाइड पर फैलाकर सूखने के लिए छोड़ दें।
3. मिथेनॉल से फिक्स करके रोमानोव्स्की अभिरंजक से अभिरंजित कर लें (जैसा कि खण्ड 9.10.3 में बताया गया है)। X40 ऑब्जेक्टिव की मदद से कोशिकाओं को देखें।

चित्र 14.11 रोमानोव्स्की अभिरंजक से अभिरंजित गीली स्लाइड में ट्रिपेनोसोम्स
लिम्फोसाइट्स (L)
मॉट कोशिकाएं (M)
ट्रिपेनोसोम्स (T)

चित्र 14.12 नाइसेरिया मेनिंजाइटिडिस

चित्र 14.13 स्ट्रेप्टोकोकस न्यूमोनिए

यदि सी.एस.एफ. में बहुत अधिक कोशिकाएं हों -

1. पिपेट की मदद से एक बूंद सी.एस.एफ. (अच्छी तरह मिलाकर) एक स्लाइड पर डालें।
2. एक पतला स्मीयर बनाकर सूखने दें।
3. मिथेनॉल से फिक्स करके रोमानोव्स्की अभिरंजक से अभिरंजित करें (जैसा कि खण्ड 9.10.3 में बताया गया है)।

ट्रिपेनोसोमा के लिए गीली स्लाइड

विधि

सी.एस.एफ. तलछट की एक बूंद स्लाइड पर रखकर कवर स्लिप से ढंक दें। X40 ऑब्जेक्टिव की मदद से स्लाइड को सूक्ष्मदर्शी में देखें।

सी.एस.एफ. में गतिशील *ट्रिपेनोसोमा* पाए जाने का मतलब है कि ट्रिपेनोसोमिएसिस काफी आगे बढ़ चुका है, जब केंद्रीय तंत्रिका तंत्र संक्रमित हो जाता है (देखें खण्ड 4.7.3)। सी.एस.एफ. में प्रोटीन की सांद्रता बढ़ जाती है और पैण्डी परीक्षण सकारात्मक आता है (देखें खण्ड 8.3.5)। द्रव में बढ़ी हुई संख्या में सफेद रक्त कोशिकाएं भी पाई जाती हैं।

रोमानोव्स्की अभिरंजक से अभिरंजित गीली स्लाइड में ल्यूकोसाइट्स को लिम्फोसाइट्स (L) के रूप में पहचाना जा सकता है और प्राय: मॉट कोशिकाएं (M) भी नज़र आती हैं (चित्र 14.11)। ये बड़ी कोशिकाएं होती हैं जिनमें रिक्तिकाएं होती हैं और बड़ी मात्रा में इम्यूनोग्लोबुलिन एम (IgM) पाया जाता है जो रोमानोव्स्की अभिरंजक के ईओसिन अंश से गहरा अभिरंजित होता है (देखें खण्ड 9.10.4)।

1. मेनिंजाइटिस हेतु ग्राम अभिरंजित स्मीयर

विधि

सी.एस.एफ. तलछट का एक स्मीयर बनाकर उसे हवा में सूखने दें। खण्ड 5.3.1 में बताए अनुसार स्मीयर को ग्राम अभिरंजित करें।

ग्राम अभिरंजित स्मीयर में पाए गए जीवों की रिपोर्टिंग निम्न रूप में करें:

- ग्राम प्रतिक्रिया: नकारात्मक या सकारात्मक।
- संरचना: कोकाई, डिप्लोकोकाई, बैसिली वगैरह।
- पाई गई संख्या।

मात्र ग्राम अभिरंजित स्लाइड से प्रजातियां की पहचान करना मुश्किल होता है। इसके लिए जीवों का संवर्धन करना ज़रूरी होता है।

मेनिंजाइटिस पैदा करने वाले आम जीवों का विवरण आगे के पृष्ठों पर दिया गया है।

नाइसेरिया मेनिंजाइटिडिस (मेनिंगोकोकाई) (चित्र 14.12)

- ग्राम-ऋणात्मक
- डिप्लोकोकाई, आजू-बाजू में रखे हुए
- कोशिका के अंदर, न्यूट्रोफिल्स के अंदर

टीप: कभी-कभार डिप्लोकोकाई कोशिका के बाहर भी दिखते हैं और संख्या में कम होते हैं।

स्ट्रेप्टोकोकस न्यूयोनिए (न्यूमोकोकाई) (चित्र 14.13)

- ग्राम-धनात्मक
- डिप्लोकोकाई, सिरे से सिरे पर जमे हुए
- एक कैप्सूल से घिरे होते हैं, कैप्सूल ग्राम अभिरंजन पर नहीं दिखता।
- कोशिका के अंदर नहीं।
- आम तौर पर बड़ी संख्या में।

चित्र 14.14 हीमोफिलस इंफ्लुएंज़े

हीमोफिलस इंफ्लुएंज़े (खासकर छोटे बच्चों में) (चित्र 14.14)

- ग्राम-ऋणात्मक
- छोटे बैसिली (कॉकोबेसिली)
- कोशिका के अंदर नहीं
- अक्सर बेशुमार

मेनिंजाइटिस के उपरोक्त सारे रूपों में उपस्थित ल्यूकोसाइट्स न्यूट्रोफिल्स होते हैं।

ग्राम धनात्मक बैसिली

बहुत कम बार मिलते हैं। लिस्टेरिया समूह के हो सकते हैं। संवर्धन ज़रूरी होता है।

चित्र 14.15 एसिड फास्ट बैसिली

2. ट्यूबरकुलस मेनिंजाइटिस हेतु ज़िएल-नीलसन स्मीयर

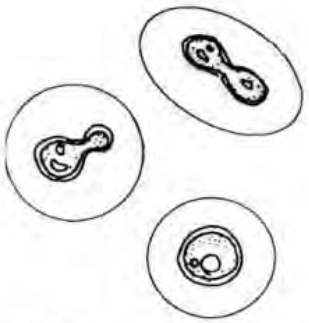
यदि ट्यूबरकुलस मेनिंजाइटिस की आशंका हो, तो सी.एस.एफ. को रखा रहने देना चाहिए। यदि कोई थक्का बने तो उसे निकाल कर एक स्लाइड पर फैलाकर खण्ड 5.3.3 में बताए अनुसार ज़िएल-नीलसन अभिरंजक से अभिरंजित करें।

यदि कोई जीव दिखें (चित्र 14.15) तो 'एसिड-फास्ट बैसिली उपस्थित' रिपोर्ट करें।

3. सी.एस.एफ. में फफूंद

बहुत ही बिरली स्थिति में ग्राम अभिरंजक से अभिरंजित स्मीयर में फफूंद (*क्रिप्टोकोकस नियोफॉरमेन्स* और *कैण्डिडा एल्बिकेन्स*) देखी जाती है।

लिम्फोसाइट्स युक्त धुंधले सी.एस.एफ. में *क्रिप्टोकोकस नियोफॉरमेन्स* पाए जा सकते हैं।



चित्र 14.16 क्रिप्टोकोकस नियोफॉरमेन्स

विधि

एक सूक्ष्मदर्शी स्लाइड पर निम्नलिखित चीज़ें मिलाएं -

- एक बूंद सी.एस.एफ. तलछट और
- एक बूंद इण्डियन इन्क

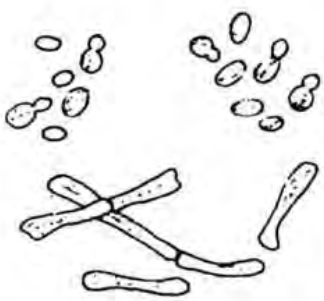
स्लाइड व कवर स्लिप के बीच इस मिश्रण का अवलोकन करें।

क्रिप्टोकोकस नियोफॉरमेन्स निम्नानुसार दिखता है (चित्र 14.16):

- गोल मुकुलित होते बीजाणु जिनमें भूरे दाने होते हैं
- 1-3 बीजाणु का प्रत्येक समूह रंगहीन केप्सूल से घिरा होता है।

कैण्डिडा एल्बिकेन्स गैर-अभिरंजित सी.एस.एफ. तलछट की गीली स्लाइड में देखे जा सकते हैं। यह निम्नानुसार दिखता है (चित्र 14.17) :

- अण्डाकार मुकुलित होते बीजाण्ड
- छोटे कवक तन्तु (मायसेलियम फिलामेन्ट्स)



चित्र 14.17 कैण्डिडा एल्बिकेन्स

v/;k; & 15

ty e ekuo vif'k"V dh tkp H_2S fLVi VLV

iLrkouk %& ;g fof/k ikuh e ekuo vif'k"V inkFkk dh ek=k dk irk yxku e lgk;d gA ;g fof/k Mk- d-, l- ekUtk vkj mud lkfFk;k }kjk lu 1982 e fMQUl fjlp M0yieUV lLFkk] Xokfy;j }kjk btkn dh xb FkhA tu LokLF; lg;kx u bl fof/k ij fiNy rhu o"k l dke dj bl vkj l lfVo cuk;k gA

eyHkr fl)kr %& ekuo vif'k"Bk }kjk nf"kr ty e fofHkUu ek=k e thok.k ik, tkr g] tk gkbMkt u lYQkbM (H_2S) ink djr gA ckry e ,d fVL; iij dk fLVi j[kk tkrk g tk fd dYpj ehfM;k ¼thok.k d fy, Hkk tu½] ,d fMVjtUV vkj jklk;fud inkFk Qfjd vekfu;e flVVj l lflDr gkrk g vkj ; lHkh lf[kr :i e gkrk gA tc ckry e ikuh Hkjk tkrk g rc dYpj ehfM;k ?kyu yxrk g vkj thok.kvk dk of) gkuk ikjHk gk tkrk gA mifLFkr fMVjtUV vU; lHkh fcuk udlku igpku okyh thok.k tk fd feVVh vkj ikuh e mifLFkr gkr g d of) dk jkd nrk g vkj ;g lfuf'pr djkrk g fd flQ eu"; dh vkrk e ik, tku oky thok.k gh of) djA mlh le; mue l dN thok.k H_2S xl fudkyr g tk fd Qfjd vekfu;e flVV d lkFk fj,DV gkrh g vkj Qjl lYQkbM ink djrk g] tk fd dky jx dh gkrk gA Hkj&lugj jx dk dky dyj e :ikrfjr gkuk ikuh e ekuo vof'k"Vk e mifLFkr gku dk fl) djrk gA

mi;kx djus dh fof/k %& ckry dh LØ&di gVk, vkj ml fdlh lkQ vkj l[kh txg ij j[kA ckry dk mle xy rd lEiy ikuh] ft ldh tkp djuk pkgr g l HkjA ckry d vn:uh Hkkx dk gkFk l u N; vkj dkf'k'k dj fd ikuh ckry l ckgj u vk, vkj u gh vkid gkFk dk xhyk djA

ckry e <Ddu dk dldj mle yxk nA nk feuV d ckn ckry dk db ckj mYVk dj] ft l l fd fVL; iij e yx inkFk ijh rjg l ckry e vnj ?ky tk,A ckry dk mYVk djd pd dj fd dgh ikuh yhd rk ugh gk jgk gA vxj ,lk g rk rjr nljh ckry dk mi;kx djA

tl lk fd VLV thok.k dh of) ij fuHkj djrk g blfy, db ckj ;g lgh fjtYV crku d fy, dN le; yrk gA VLV dju d fy, 20^{0c} l 40^{0c} lcl mfpr rkieku gA ;g VLV 20^{0c} l uhp rFkk 40^{0c} l Åij dke ugh djrk gA

ckry dk 12 ?kV d ckn pd dj vxj mld dVUV ,dne dkyk] Vkj d tl k gk tkrk g eryc ikuh ekuo vof'k"Vk l nf"kr gA vxj jx ugh cnyrk g ckry dk mlh rkieku ij 24&48 ?kV j[k rFkk iuh dyj pd djA vxj 48 ?kV d vnj ikuh dk jx cnyrk g rk ikuh nf"kr gA T;knk nf"kr ikuh T;knk tYnh dkyk gkxkA vxj jx ugh cnyk g rk ikuh ihu ;kX; LoPN gA

/;ku j[k jx dk Hkj e ifjofrr gkuk(pkg og fdruk Hkh xgjk D;k u gk] ikuh d nf"kr gku dk fl) ugh djrk gA

dYpj ehfM;e dh jpuk %

H_2S fLVi VLV ehfM;e fuEu inkFkk l cuk gkrk g %

- ;hLV [kjl
- L&flLVkbu
- lkfM;e ik; :oV
- lkfM;e lYQkbV

v/;k; & 16

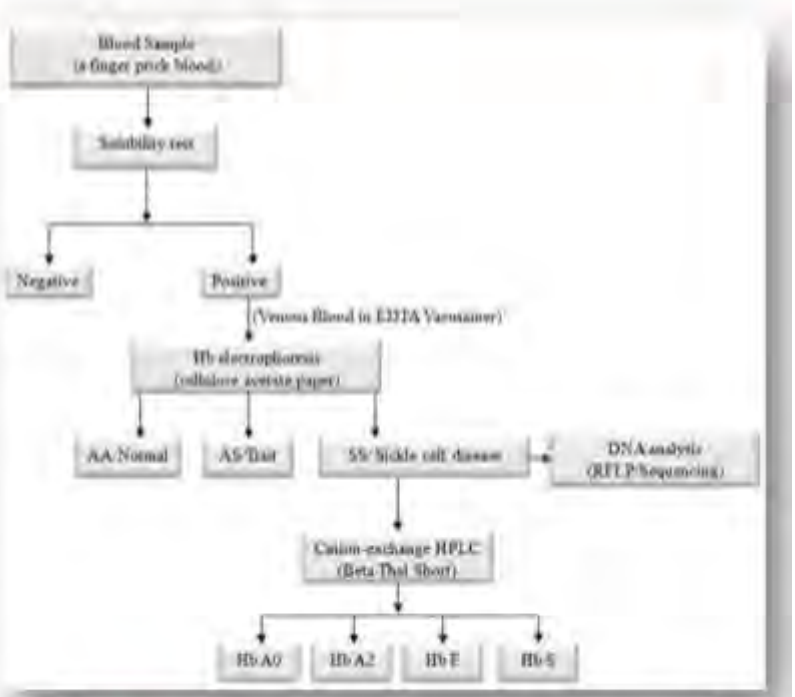
fldyly ghekXykchu dk Rofjr ijh{k.k

सिकल हीमोग्लोबीन का त्वरित परीक्षण

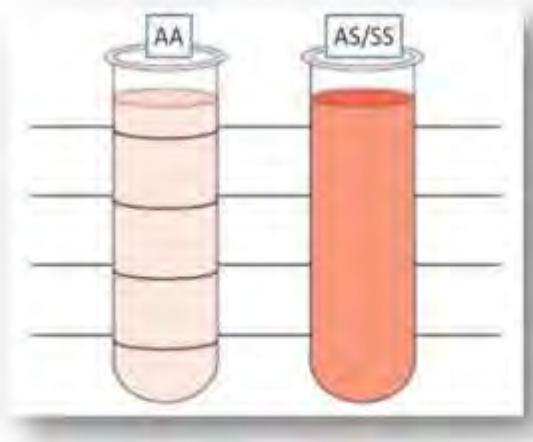
सिकल हीमोग्लोबिन की त्वरित पहचान करने के लिये सिकलिंग तथा सॉल्यूबिलिटी जांच की जाती है।

सॉल्यूबिलिटी टेस्ट

सॉल्यूबिलिटी जांच अनॉक्सीकृत हीमोग्लोबिन एस की हाई–फास्फेट बफर में कम घुलनशीलता पर आधारित है। हाई फास्फेट बफर में एक अनाक्सीकरण एजेंट मेटाबाईसल्फाइट होता है। जब रक्त को अनाक्सीकरण एजेंट के साथ मिलाया जाता है, हीमोग्लोबिन एस लिक्विड क्रिस्टल बना लेता है जो फास्फेट बफर को धुंधला कर देता है। अन्य हीमोग्लोबिन जो अनाक्सीकरण एजेंट में ज्यादा घुलनशील है, फॉस्फेट बफर को पारदर्शी बनाये रखते हैं। धुंधला सॉल्यूशन सकारात्मक परीक्षण प्रदर्शित करता है तथा इसे इसके आर–पार कागज पर खींची गई लाइनों को देख



चित्र 3: सिकल सेल रोग के परीक्षण के लिए



चित्र 4: स्क्रीनिंग परियोजनाओं में इस्तेमाल सिकल सेल घुलनशीलता परीक्षण (सॉल्युबिलिटी टेस्ट)

कर पता लगाते हैं। सकारात्मक परीक्षण में लाइनें धुंधले सॉल्यूशन के कारण दिखाई नहीं देती हैं। यदि कागज पर खींची गई लाइनें सॉल्यूशन के आर–पार दिखाई देती है तो यह नकारात्मक परिणाम को इंगित करता है (चित्र 4)।

जांच के लिये एन्टीकांगुलेंट (रक्त का थक्का जमने से रोकने वाले पदार्थ) जैसे EDTA, हिपेरिन या सोडियम सिट्रेट को रक्त के साथ मिलाया जाता है। रक्त सैम्पल को 4°C पर तीन सप्ताह तक जांच के लिये सुरक्षित रखा जा सकता है। एक पॉजिटिव कन्ट्रोल (AS) जिसमें 30–45% हीमोग्लोबिन एस होता है तथा एक निगेटिव कन्ट्रोल (AA) को प्रत्येक सैम्पल के साथ जांच करना चाहिये। सॉल्यूबिलिटी जांच एक क्वालिटेटिव टेस्ट है तथा हीमोग्लोबिन एस रोग (SS) तथा हीमोग्लोबिन–S ट्रेट (AS) के बीच अंतर नहीं बता सकता है।

बॉक्स1 – रिएजेन्ट्स बनाने एवं सॉल्युबिलिटी टेस्ट की विधि

रीएजेंट्स–

- स्टॉक 2.58 M फॉस्फेट बफर - 239.66 ग्राम K_2HPO_4 तथा 164 ग्राम KH_2PO_4 को डिस्टिल्ड वाटर में घोलें। इसके बाद कुल आयतन को डिस्टिल्ड वाटर मिला कर 1 लिटर कर लें। बफर का pH 6.5 होना चाहिये।
- सोडियम मेटाबाइसल्फाइट / सोडियम डाइथायोनाइट।
- बफर को सामान्य कमरे के तापमान पर रखा जा सकता है और जब तक उसमें कोई गदलापन या गंदगी न हो, उपयोग किया जा सकता है।

विधि–

- एक ठीक से नामांकित ट्यूब में पिपेट से 1 मिली लीटर बफर लें।
- एक डिस्पोजेबल पाश्चर पिपेट से रक्त की दो बूंदें इसमें डालें तथा ठीक से मिलायें।
- ट्यूब में एक चुटकी (10–20 मिली ग्राम) सोडियम डाइथायोनेट या सोडियम मेटाबाइसल्फाईट पाउडर लें।
- ठीक से मिलायें तथा रीडिंग लें।
- इन्हीं निर्देशों का पालन करते हुये पॉजिटिव व निगेटिव कन्ट्रोल सैम्पल की भी जांच करें।

एक अन्य हीमोग्लोबिन प्रकार हीमोग्लोबिन सी (HbC) भी सिकलिंग करता है तथा सॉल्यूबिलिटी टेस्ट में सकारात्मक परिणाम देता है। कुछ फिजियोलॉजिक कारण भी हैं जो गलत सकारात्मक या नकारात्मक परिणाम दे सकते हैं। एरिथ्रोसाइटोसिस, हाइपरग्लोबुलिनीमिया, अत्यधिक ल्यूकोसाइटोसिस तथा हाइपरलिपिडीमिया गलत सकारात्मक परिणाम दे सकते हैं। इसके अतिरिक्त ऐसा व्यक्ति जिसमें हीमोग्लोबिन की मात्रा 7.0 ग्राम/डेसी लिटर से कम हो, गलत नकारात्मक परिणाम दे सकता है। ऐसे व्यक्ति में पैक्ड एरिथ्रोसाइट्स (0.01 मिली लिटर) का सॉल्यूबिलिटी टेस्ट के लिये उपयोग इस त्रुटि को ठीक कर सकता है। छः माह से कम आयु के शिशुओं में तथा ऐसे व्यक्तियों में जिन्हें हाल में ब्लड ट्रांसफ्यूजन दिया गया हो, सॉल्यूबिलिटी टेस्ट, हीमोग्लोबिन एस की कम मात्रा के कारण नकारात्मक परिणाम दे सकता है। इसलिये HbS की उपस्थिति की पुष्टि तथा दो अवस्थाओं (AS तथा SS) के बीच अन्तर करने के लिये एल्कलाइन pH पर हीमोग्लोबिन इलेक्ट्रोफोरेसिस करना चाहिये।

2.3.2 सिकलिंग टेस्ट

सिकलिंग टेस्ट में ऐसी स्थितियां पैदा की जाती हैं कि ऑक्सीजन का स्तर कम हो जाये जो कि लाल रक्त कणिकाओं में सिकलिंग को प्रेरित करता है। इस टेस्ट में रक्त की एक बूंद को सोडियम मेटाबाइसल्फाइट के साथ मिश्रित करके एक स्लाइड पर कवर स्लिप द्वारा सील किया जाता है। सोडियम मेटाबाइसल्फाइट ऑक्सीहीमोग्लोबिन को अपचयित करके सिकलिंग प्रक्रिया को बढ़ाता है। सकारात्मक टेस्ट में हंसिये के आकार की लाल रक्त कणिकाएं दिखाई देती है। कभी–कभी इस प्रक्रिया में 24 घंटे तक लगते हैं। ऐसी परिस्थिति में स्लाइड को एक नम पेट्रीडिश में रखते हैं जिससे तापमान सही बना रहे। यदि सोडियम मेटाबाइसल्फाइट खराब हो गया हो या कवर स्लिप द्वारा स्लाइड को ठीक से सील न किया गया हो तो गलत नकारात्मक परिणाम मिल सकते हैं। एक सकारात्मक परिणाम सिकल सेल रोग तथा ट्रेट में अंतर नहीं कर सकता है। स्लाइड को ठीक से देखना चाहिये तथा कवर स्लिप के किनारों पर विशेष ध्यान देना चाहिये।

बॉक्स 2 – रिएजेन्ट्स बनाने एवं सिकलिंग टेस्ट की विधि

रीएजेंट्स–

- 2% मेटाबाइसल्फाइट : 0.2 ग्राम सोडियम मेटा बाइ सल्फाइट को 10 मिली लिटर डिस्टिल्ड वाटर में ठीक से मिलाइये।
- हर बार नया रीजेन्ट बनायें।

विधि–

- ताजा रक्त सैम्पल को किसी एन्टीकागुलेन्ट के साथ मिलायें।
- एक स्लाइड पर रक्त सैम्पल की एक बूंद को 2% सोडियम मेटा बाइ सल्फाइट के साथ मिलायें।
- मिश्रण को कवर स्लिप से ढक दें तथा किनारों को मोम–वेसलीन मिश्रण से या नेल वार्निश से सील करें।
- तत्पश्चात् स्लाइड को कमरे के सामान्य तापमान पर 1–4 घंटे तक रखें।
- स्लाइड का निरीक्षण माइक्रोस्कोप द्वारा करें।

चित्र 5: सिकलिंग टेस्ट का चित्रांकन

2.4 सामान्य तथा असामान्य हीमोग्लोबिन की पहचान

सामान्य तथा असामान्य हीमोग्लोबिन के प्रकारों तथा मात्रा का मूल्यांकन करने की कई विधियां है। इन विधियों द्वारा रक्त में उपस्थित विभिन्न हीमोग्लोबिन प्रकारों को अलग–अलग किया जा सकता है, जिससे उनकी पहचान की जा सके तथा मात्रा को नापा जा सके। हीमोग्लोबिन इलेक्ट्रोफोरेसिस पारंपरिक रूप से विभिन्न प्रकार के हीमोग्लोबिन की पहचान करने के लिये उपयोग किया जाता है। HPLC, HbS सहित विभिन्न हीमोग्लोबिन प्रकारों को पहचानने के लिये सबसे ज्यादा उपयोग किये जाने वाली विधि है। आइसोइलेक्ट्रिक फोकसिंग बड़ी प्रयोगशालाओं में उपयोग की जाने वाली एक बेहद संवेदनशील विधि है। इन विधियों के द्वारा हीमोग्लोबिन के विभिन्न प्रकारों का उनके भौतिक व रसायनिक गुणों के आधार पर मूल्यांकन किया जाता है।

2.4.1 इलेक्ट्रोफोरेसिस

इलेक्ट्रोफोरेसिस का सिद्धान्त इस तथ्य पर आधारित है कि विभिन्न प्रकार के हीमोग्लोबिन का विद्युत आवेश अलग–अलग होता है तथा विद्युत क्षेत्र में भिन्न प्रकार से गति करते हैं। कई प्रोटीन जिन पर कुल ऋणात्मक आवेश होता है, विद्युत क्षेत्र में कैथोड ('काला; 'ऋणात्मक') अंत से एनोड ('लाल धनात्मक') अंत की ओर गति करती हैं। विभिन्न प्रोटीनों की स्थिति स्टेनिंग या एंजाइमेटिक रिएक्शन द्वारा पता लगाई जाती है।

बॉक्स 3 – रिएजेन्ट्स बनाने एवं इलेक्ट्रोफोरेसिस टेस्ट की विधि

रीजेंट्स तथा उपकरणः

- इलेक्ट्रोफोरेसिस बफरः ट्रिस हाइड्राक्सी मिथाइल अमीनोमीथेन (ट्रिस) 10.2 ग्राम, EDTA (डाइसोडियम सॉल्ट) 0.6 ग्राम, बोरिक एसिड 3.2 ग्राम, डिस्टिल्ड वाटर 1 लिटर। बफर 4°C तापमान पर संग्रहित किया जाना चाहिये और इसे बिना खराब हुये दस बार तक इस्तेमाल किया जा सकता है।
- फिक्सेटिव/स्टेन सॉल्यूशनः पांस्यू एस 5 ग्राम, ट्राइक्लोरोएसिटिक एसिड 7.5 ग्राम, डिस्टिल्ड एसिड 30ml, डिस्टिल्ड वाटर 1 लिटर।
- डीस्टेनिंग सॉल्यूशन 3% (V/V): एसिटिक एसिड 30 मिली लिटर, डिस्टिल्ड वाटर 1 लिटर।
- हीमोलाइजिंग रीजेन्ट 0.5% (V/V) ट्राइटन एक्सः 100 मिली ग्राम/लिटर पोटेशियम साइनाइट में।
- एक बिजली सप्लाई जो लगातार 0.80 मिली एम्पियर तथा 400 वोल्ट तक करंट देने में सक्षम हो।
- एक क्षैतिज इलेक्ट्रोफोरेसिस टैंक जिसमें ब्रिज गेप को आवश्यकतानुसार बदला जा सके तथा कैथोड व एनोड सिरे चिन्हांकित हों।

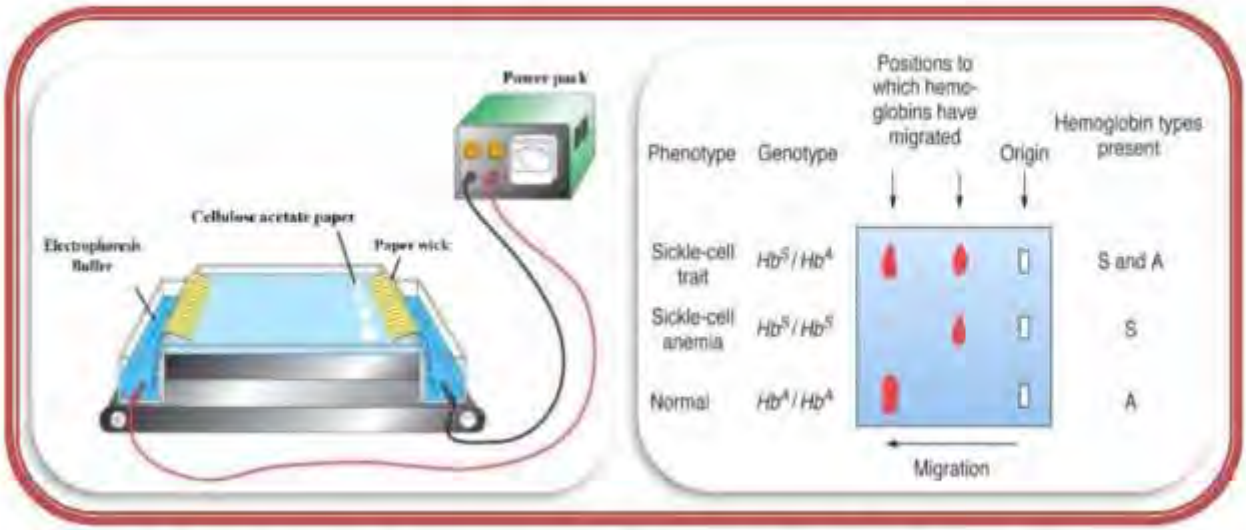
विधिः

- सैम्पल को 1200g पर 5 मिनट तक सेंट्रीफ्यूज करें। 20 माइक्रोलिटर पैक्ड रैड सेल्स को 150 माइक्रोलिटर हीमोलाइजिंग रीजेन्ट के साथ मिलायें। धीरे–धीरे मिलायें तथा 5 मिनट के लिये रख दें।
- यदि आप हीमोलाइसेट उपयोग कर रहे हैं तो 40 माइक्रोलिटर 10gm/डेसीलिटर हीमोलाइसेट को 150 माइक्रोलिटर लाइजिंग रीजेन्ट में मिलायें।
- इलेक्ट्रोफोरेसिस टैंक के दोनों बाहरी बफर कम्पार्टमेंट में TEB बफर की समान मात्रा डालें। अभी बिजली सप्लाई शुरू न करें।
- दो चैम्बर विक्स को बफर में भिगोयें तथा प्रत्येक विक को एक–एक ब्रिज पर इस प्रकार रखें कि विक्स बफर के सम्पर्क में रहें।
- सेल्यूलोज एसीटेट को धीरे से बफर में भिगोएं। बफर रिजर्वायर में सेल्यूलोज एसीटेट पेपर को उपयोग से पहले 5 मिनट तक भीगने दें।
- सेल्यूलोज एसीटेट को बफर से बाहर निकालें तथा दो ब्लॉटिंग पेपर्स के बीच रखें। ध्यान रखें

कि सेल्यूलोज एसीटेट पूरी तरह सूखने न पाये।

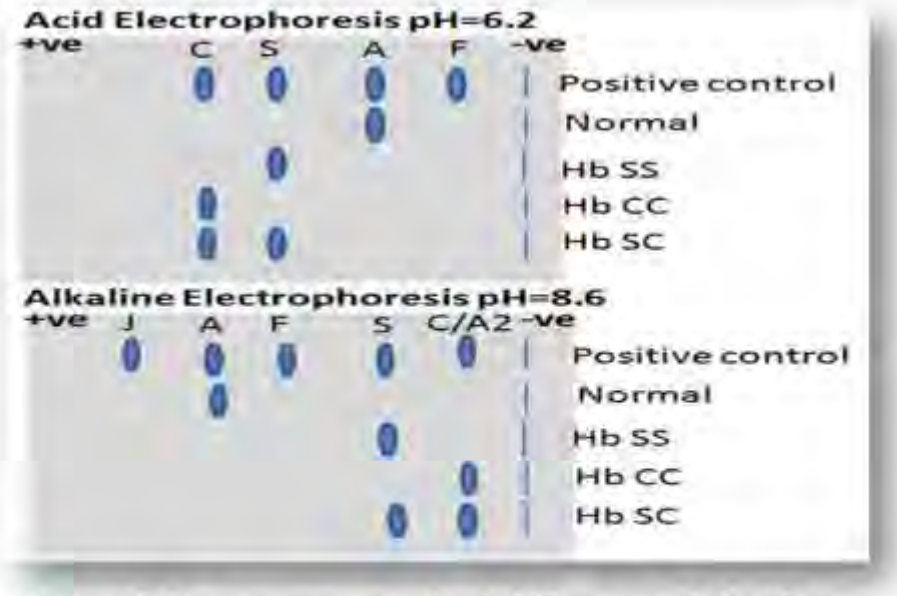
- एप्लीकेटर का उपयोग करते हुये सैम्पल को सेल्यूलोज एसीटेट पर लोड करें।
- सेल्यूलोज एसीटेट स्ट्रिप को ब्रिजों के बीच ठीक से रखें जिससे विक्स के साथ सही स्पर्श बना रहे।
- इलेक्ट्रोफोरेसिस मशीन चलायें तथा 350 volt का करंट 25 मिनट तक दें।
- 25 मिनट बाद तुरंत सेल्यूलोज एसीटेट को पांस्यू एस स्टेन में फिक्स तथा 5 मिनट तक स्टेन करें।
- अतिरिक्त स्टेन को हटाने के लिये क्रमशः तीन एसीटिक एसिड रिजर्वायर में सेल्यूलोज एसीटेट को 5 मिनट, 10 मिनट तथा 10 मिनट के लिये रखें। तत्पश्चात् साफ ब्लॉटिंग पेपर द्वारा सेल्यूलोज एसीटेट को ठीक से सुखायें।
- सूखने के बाद मैम्ब्रेन स्ट्रिप को ठीक से नामांकित करें तथा एक प्लास्टिक के लिफाफे में सुरक्षित रखें।

म्यूटेशन के कारण यदि कोई अमीनों एसिड दूसरे अमीनो एसिड से विस्थापित हो जाता है, जिस पर एक भिन्न विद्युत आवेश हो तो पूरी प्रोटीन के आवेश में भी कुछ अन्तर आ जाता है। HbS में ऋणात्मक आवेश वाले अमीनो एसिड ग्लूटामिक एसिड के स्थान पर बिना किसी आवेश वाला वेलीन पाया जाता है। इस कारण HbS पर HbA की तुलना में कुछ कम ऋणात्मक आवेश होता है। इस कारण से होमोजाइगस AA तथा SS व्यक्ति अलग–अलग बेंडिंग पैटर्न देते हैं जबकि हेटरोजाइगस AS व्यक्ति में दोनों प्रकार के बैंड मिलते हैं (चित्र 7)



चित्र 6: इलेक्ट्रोफोरेसिस यंत्र तथा SS, AA, AS व्यक्तियों के बेंडिंग पैटर्न का रेखांकन

इलेक्ट्रोफोरेसिस द्वारा हीमोग्लोबिन के विभिन्न प्रकारों की पहचान करने की भी कुछ सीमायें हैं। इसकी क्षमता कई कारकों पर निर्भर करती है जैसे– हीमोग्लोबिन की सांद्रता, विद्युत करंट, इलेक्ट्रोफोरेसिस के पथ की लम्बाई तथा तापमान आदि। ये सभी कारक हीमोग्लोबिन के विभिन्न प्रकारों के बेंड के रूप में अलग होने तथा बैंड की सापेक्ष स्थिति को प्रभावित करते हैं। हीमोग्लोबिन के ऐसे प्रकारों जो एक ही तरह गति करते हैं, की पहचान करना कठिन है तथा इसके लिये पहले से ही पता हीमोग्लोबिन प्रकारों के मिश्रण या सैम्पल का इलेक्ट्रोफोरेसिस में कंट्रोल के रूप में उपयोग किया जाना चाहिये। एल्कलाइन तथा एसिड हीमोग्लोबिन इलेक्ट्रोफोरेसिस इस प्रक्रिया के लिये उपयोग की जाने वाली दो मुख्य विधियां हैं (चित्र 4)। एल्कलाइन या क्षारीय pH पर कुछ हीमोग्लोबिन प्रकार HbA2 के समान गति करते हैं (जैसे HbC, HbE, HbO अरब) तथा कुछ HbS के समान गति करते हैं (जैसे HbD पंजाब, HbD ईरान, HbG)। एसिडिक या अम्लीय pH पर हीमोग्लोबिन प्रकारों जैसे HbC का HbE से, HbO अरब तथा HbS को HbD और HbG से अलग करना संभव है।



चित्र 7: **एसिडिक व एल्कलाइन इलेक्ट्रोफोरेसिस द्वारा हीमोग्लोबिन प्रकारों के विस्थापन का चित्रांकन**

एसिडिक pH पर मुख्य असामान्य हीमोग्लोबिन प्रकार जैसे HbS और HbC प्रभावी ढंग से HbA से अलग विस्थापित होते हैं। एल्कलाइन pH पर जैल में विस्थापन हीमोग्लोबिन अणुओं पर कुल आवेश पर निर्भर करता है। इस विधि से हीमोग्लोबिन के विभिन्न प्रकारों को सामान्य HbA से अलग किया जा सकता है, यद्यपि कई असामान्य हीमोग्लोबिन समान रूप से विस्थापित हो सकते हैं।

2.4.2 आइसोइलेक्ट्रिक फोकसिंग

इन कमियों को दूर करने के लिये तथा विस्थापन की गुणवत्ता बढ़ाने के लिये, आइसोइलेक्ट्रिक फोकसिंग का उपयोग किया जा सकता है, जिसमें विद्युत करंट को एक सहायक माध्यम जैसे एम्फोलाइट युक्त प्रीकास्ट अगरोज या पॉलीएक्राइल एमाइड जैल में बहाया जाता है। ये एम्फोलाइट माध्यम में गति करके एनोड पर pH 6.0 से ले कर कैथौड पर pH 8.0 तक एक स्थिर pH क्रम बनाते हैं। हीमोलाइसेट को माध्यम पर कैथोड सिरे पर डाला जाता है तथा हीमोग्लोबिन के विभिन्न प्रकार pH क्रम में तब तक गति करते हैं जब तक कि वे निरावेशित हो कर अपने आइसोइलेक्ट्रिक पॉइंट (pI) के बराबर pH पर एक अलग बैंड न बना लें। यह विधि अन्य इलेक्ट्रोफोरेसिस विधियों से अधिक

बेहतर है क्योंकि यह विभिन्न हीमोग्लोबिन प्रकारों को उनके आइसोइलेक्ट्रिक पॉइंट में छोटे अंतर के आधार पर भी अलग कर सकती हैं। यद्यपि HbO अरब HbE से तथा HbD पंजाब HbG फिलाडेल्फिया से ठीक से अलग नहीं हो पाते हैं। आइसोइलेक्ट्रिक फोकसिंग में विशिष्ट रीजेंट्स का उपयोग होता है तथा यह एक लम्बी प्रक्रिया है। अत: आजकल इसकी तुलना में HPLC तकनीक का उपयोग ज्यादा होने लगा है।

2.4.3 कैपिलरी इलेक्ट्रोफोरेसिस

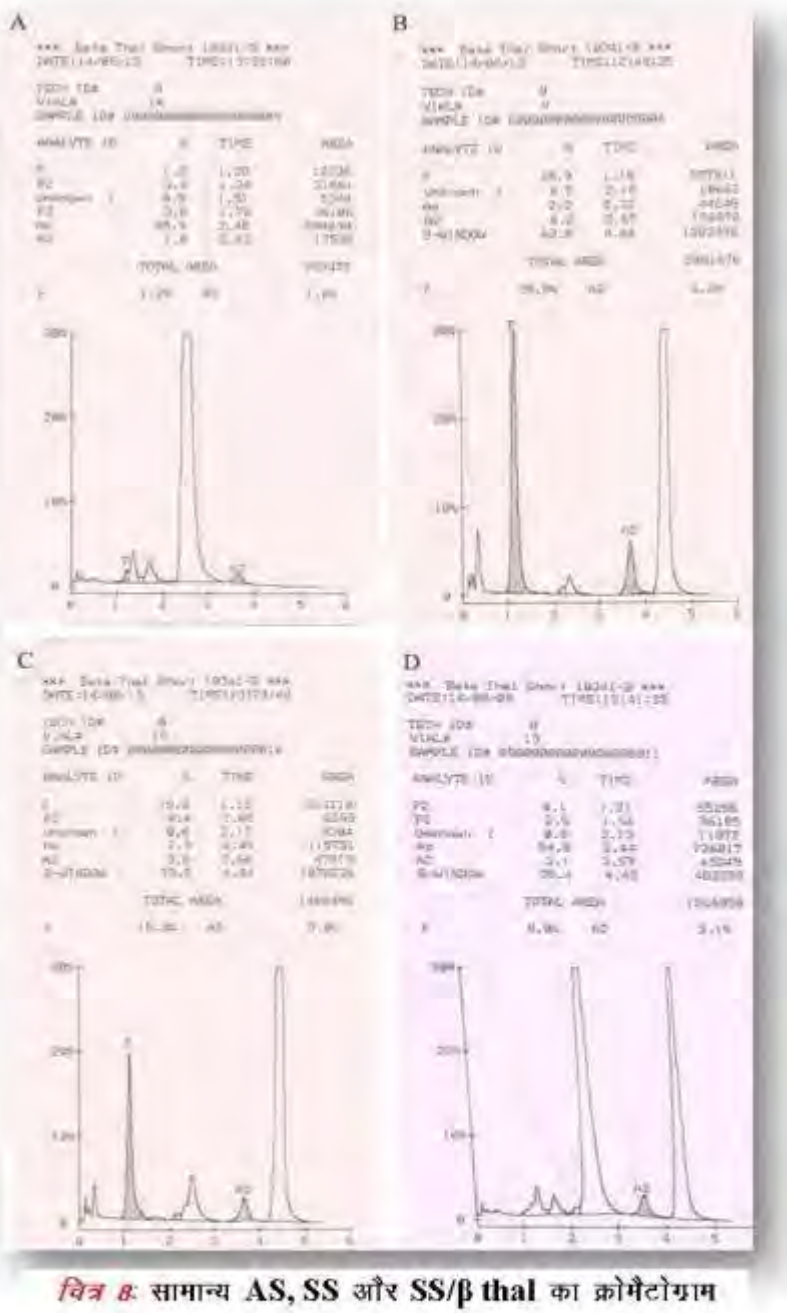
आजकल कैपिलरी इलेक्ट्रोफोरेसिस विधि भी हीमोग्लोबिन के प्रकारों के विश्लेषण के लिये प्रयोगशालाओं में प्रयोग की जा रही है। इस विधि में रोगी के सैम्पल को एक पतली कैपिलरी ट्यूब में डाला जाता है जिससे ज्यादातर एल्कलाइन बफर (pH 9.4) का उपयोग होता है। सामान्य इलेक्ट्रोफोरेसिस की तरह ही हीमोग्लोबिन के प्रकारों को अलग करने के लिये करंट बहाया जाता है। बहुत से सैम्पल 08 मिनट तक कैपिलरी ट्यूबों में गति करते हैं। यह विधि आइसोइलेक्ट्रिक फोकसिंग के समान ही, हीमोग्लोबिन के विभिन्न प्रकारों को अच्छी तरह से अलग करती है। इस विधि में हीमोग्लोबिन की पहचान के लिये 415 नैनोमीटर तरंगदैर्ध्य के प्रकाश का उपयोग किया जाता है। इस विधि के परिणाम के रूप में एक इलेक्ट्रोफेरोग्राम प्राप्त होता है जो लगातार 300 रीडिंग से मिल कर बना होता है तथा 15 जोन में बांटा जाता है। पहचान की सुविधा के लिये परिणामों को HbA तथा HbA2 के सापेक्ष लगाया जाता है। विभिन्न हीमोग्लोबिन (सामान्य तथा असामान्य) पीक्स के रूप में प्रदर्शित किये जाते हैं तथा विभिन्न हीमोग्लोबिन पीक्स किस क्षेत्र में होंगे यह सिस्टम द्वारा स्वयं निश्चित किया जाता है। सिस्टम में एक ड्रॉप डाउन लिस्ट के रूप में एक हीमोग्लोबिन लाइब्रेरी होती है, जिसमें सभी प्रकार के सामान्य तथा असामान्य हीमोग्लोबिन सम्मिलित होते हैं। यह विधि HPLC से बेहतर है क्योंकि इसके द्वारा HbE की उपस्थिति में भी HbA2 को पहचाना जा सकता है। पैक्ड रेड सेल्स सेम्पल के रूप में उपयोग की जा सकती हैं। सेम्पल से प्लाज्मा को अलग करने के बाद बार–कोडेड ट्यूब यंत्र में लगाई जा सकती है। इसके बाद की सभी कियाएं सिस्टम के द्वारा स्वयं की जाती है।

2.4.4 हाई परफॉर्मेंस लिक्विड क्रोमेटोग्रॉफी

सामान्य एवं असामान्य हीमोग्लोबिन की प्रत्यक्ष और उच्च परिशुद्धता से पहचान के लिये केटायन–एक्सचेन्ज HPLC एक उत्कृष्ट उपाय है। केटायन–एक्सचेन्ज HPLC में हीमोलाइसेट को क्रोमैटोग्राफी स्तंभ में इंजेक्ट किया जाता है। क्रोमैटोग्राफी स्तंभ में ऋणात्मक आवेशित रेजिन्स होती है जिस पर धनावेशित हीमोग्लोबिन अणु बंध जाते हैं। इसके बाद स्तंभ से इल्यूटिंग बफर को प्रवाहित किया जाता है। जैसे–जैसे इल्यूटिंग बफर की आयनिक शक्ति बढ़ती जाती है, ये अपने साथ विभिन्न आवेशित प्रोटीन (हीमोग्लोबिन) को उसके विशिष्ट अवधारण समय में स्तंभ से बाहर ले आता है। विभिन्न प्रकार के हीमोग्लोबिन का समग्र आवेश भिन्न होता है। अत: उनका विशिष्ट अवधारण समय भी एक–दूसरे से अलग होता है। हालांकि विशिष्ट अवधारण समय, इस्तेमाल किये गये स्तंभ और इल्यूटिंग बफर पर भी निर्भर करता है। विभिन्न अवधारण समय में क्रोमैटोग्राफी स्तंभ से बाहर आने वाले भाग को एक ऑप्टिकल डिटेक्टर द्वारा लगातार प्रेक्षित किया जाता है और क्रोमैटोग्राम (रिजल्ट) का कम्प्यूटर की

मदद से विश्लेषण किया जाता है। इस प्रकार HPLC विभिन्न प्रकार के हीमोग्लोबिन की पहचान में सहायता करता है। सामान्य शब्दों में, जब एमिनो एसिड के प्रतिस्थापन से प्रोटीन का सम्पूर्ण ऋण आवेश बढ़ जाता है, तब प्रोटीन HPLC स्तंभ पर तेजी से आगे बढ़ता है और उसका विशिष्ट अवधारण समय कम हो जाता है। इस विधि का एक फायदा यह है कि एल्केलाइन इलेक्ट्रोफोरेसिस के विपरीत, इस विधि में HbC और HbA2 साथ–साथ आगे नहीं बढ़ता है HbA2 और HbC के मापन में सहायता करता है। हालांकि HPLC, HbA2 और HbE में भिन्नता को मापने में अक्षम होता है, क्योंकि HbA2 और HbE साथ–साथ आगे बढ़ता है। HPLC द्वारा प्राप्त AS, SS और SS/β thal रिजल्ट को चित्र 8 में दिखाया गया है।

(अ) सामान्य
(ब) SS/β thal
(स) Hb SS
(द) Hb AS



चित्र 8: सामान्य **AS, SS** और **SS/β thal** का क्रोमैटोग्राम

चित्रों में विशिष्ट अवधारण समय इस प्रकार है–

HbF	–	1.12 - 1.20 मिनट
HbA	–	2.33 - 2.49 मिनट
HbA2	–	3.57 - 3.69 मिनट
HbS	–	4.40 - 4.44 मिनट

चित्र 8 में यह स्पष्ट है कि HbSS रोगी में S क्षेत्र में प्रबल पीक है जबकि पता लगाने योग्य HbA नहीं है।

v/;k; & 17
e/keg ¼Mk;fcVht½

इस अध्याय में आप सीखेंगे:

- मधुमेह के विभिन्न प्रकार जैसे टाइप-1, टाइप-2 एवं गर्भावस्था का मधुमेह।
- टाइप-2 मधुमेह के जोखिम के कारक।
- टाइप-2 मधुमेह के सामान्य संकेत एवं लक्षण।
- ग्लूकोमीटर द्वारा रक्त शर्करा का आकलन।
- मधुमेह का प्रबन्धन/रोकथाम एवं नियन्त्रण।

मधुमेह क्या है?

जो भी भोजन हम खाते हैं उससे शरीर में मिलकर शर्करा बनती है, जिसे हम ग्लूकोज कहते हैं। ग्लूकोज रक्त के माध्यम से शरीर के सभी हिस्सों में प्रवाहित होती है, जिससे ऊर्जा मिलती है। वह हार्मोन जो ग्लूकोज को रक्त की कोशिकाओं में जाने में मदद करता है, उसे इन्सुलिन कहते हैं। इन्सुलिन शरीर के रक्त शर्करा के स्तर को सामान्य रखता है। मधुमेह में शरीर इन्सुलिन उत्पन्न नहीं करता या इन्सुलिन का सही तरीके से इस्तेमाल नहीं कर पाता है, जिससे ग्लूकोज रक्त में मिल जाता है और फलस्वरूप रक्त में शर्करा का स्तर बढ़ जाता है।

मधुमेह को तीन तरह के नामों से जाना जाता है–टाइप–1, टाइप–2 एवं गर्भावस्था का मधुमेह।

मधुमेह के प्रकार	यह क्या है?	यह किसको होता है?
टाइप–1 मधुमेह	शरीर में इन्सुलिन नहीं बनता है। इस स्थिति के लोगों को रोज इन्सुलिन का इंजेक्शन लेना पड़ता है, जिससे रक्त में ग्लूकोज के स्तर को नियंत्रित किया जाता है।	यह बीमारी किसी भी उम्र के लोगों को प्रभावित कर सकती है किन्तु सामान्यतः यह बचपन से शुरू होती है या युवा वयस्कों में होती है।

मधुमेह के प्रकार	यह क्या है?	यह किसको होता है?
टाइप–2 मधुमेह	मधुमेह का सबसे सामान्य प्रकार होता है, जिसमें शरीर में इन्सुलिन बनता तो है परन्तु पर्याप्त मात्रा में नहीं बनता है।	इस तरीके का मधुमेह ज्यादातर बढ़ती उम्र के लोगों (वयस्कों) में देखने को मिलता है परन्तु आजकल यह बच्चों एवं किशोरों में भी हो रहा है। इस का खतरा उन लोगों में अधिक होता है जिनके परिवार में पहले से ही किसी को मधुमेह की शिकायत रही हो, या ऐसे लोग जिनका अत्यधिक वज़न हो। यह नियमित व्यायाम के अभाव और बढ़ती हुई उम्र के साथ भी देखने को मिलता है
गर्भावस्था का मधुमेह	यह महिलाओं को गर्भावस्था के दौरान होता है। इसे गर्भावस्था का मधुमेह कहते हैं।	इस स्थिति में गर्भावस्था एवं प्रसव के दौरान खतरा होता है। जिन महिलाओं को गर्भावस्था के दौरान मधुमेह की समस्या होती है, उनके बच्चों को भविष्य में टाइप–2 का मधुमेह होने का खतरा रहता है।

इस सत्र में हम केवल टाइप–2 मधुमेह की चर्चा करेंगे, क्योंकि यह लोगों में सबसे ज्यादा पाया जाता है।

टाइप–2 मधुमेह के जोखिम के कारक

- परिवार में पहले से ही किसी को मधुमेह की शिकायत रही हो।
- इसकी शिकायत ज्यादातर बढ़ती उम्र के लोगों (वयस्कों) में देखने को मिलती है, परन्तु यह किशोर/किशोरियों में भी देखा जा रहा है।
- अत्यधिक वज़न होना (ओवरवेट)।
- अस्वस्थ आहार की आदतें विशेष रूप से अधिक नमक, वसा का प्रयोग एवं सब्ज़ियों, एवं फल का कम सेवन।
- शारीरिक गतिविधि/व्यायाम का कम होना (बैठे रहने वाली जीवन शैली)।
- उच्च रक्तचाप।
- ज्यादा मात्रा में हानिकारक रक्त वसा (कोलेस्ट्रॉल की अधिक मात्रा)
- आदतें जैसे–धूमपान या नशे की दवाओं या शराब का सेवन
- यदि महिला को गर्भावस्था के दौरान मधुमेह हुआ हो या गर्भावस्था के दौरान शर्करा का स्तर थोड़ा भी बढ़ा हुआ हो।

टाइप–2 मधुमेह के सामान्य लक्षण एवं संकेत

- बार–बार पेशाब आना
- बहुत भूख लगना
- अत्यधिक प्यास लगना
- बिना किसी कारण के वज़न का गिरना
- ऊर्जा की कमी, अत्यधिक थकावट
- बार–बार या गंभीर संक्रमण का होना जैसे योनि में संक्रमण
- आंखों से धुंधला दिखाई देना
- घाव का बहुत धीरे–धीरे भरना

यदि शरीर में रक्त शर्करा बहुत अधिक है तो यह शरीर में निम्नलिखित नुकसान का कारक बन सकता है:

- गुर्दे (किडनी) – गुर्दे का फेल होना
- हृदय एवं रक्त वाहिकाओं संबंधी रोग – दिल का दौरा एवं लकवा
- नसों की क्षति – सुन्न पड़ना, हाथ या पैरों में झनझनाहट होना, पैरों में घाव (नासूर) और संक्रमण (इन्फेक्शन) होना
- आंखों में अंधापन।
- मुख गुहा (ओरल कैविटी) – मसूढ़े संबंधी रोग

आपके समुदाय में ए.एन.एम. आपकी मदद से 30 वर्ष और उससे अधिक उम्र के सभी व्यक्तियों की रक्त में शर्करा (मधुमेह) के स्तर की प्रारंभिक जांच करेगी। जिसके लिए एक निश्चित दिन सुनिश्चित किया जाएगा। जिन लोगों का रक्त में शर्करा का स्तर सामान्य पाया जाएगा उनकी साल में पुनः एक बार रक्त शर्करा की जांच की जानी चाहिए। यदि किसी व्यक्ति में जांच के दौरान रक्त में शर्करा का स्तर बढ़ा हुआ पाया जाता है तो उसे उच्च स्तर के स्वास्थ्य संस्थान पर रोग की पहचान एवं उपचार के लिए भेजा जाना चाहिए।

यह चिकित्सा अधिकारी की जिम्मेदारी होगी कि मरीज के रक्त में शर्करा का स्तर बढ़ा हुआ पाया जाता है तो उस व्यक्ति की स्थिति के अनुसार उसकी चिकित्सा योजना, रक्त में शर्करा के स्तर के आधार पर और उसके वज़न के आधार पर बनाई जाए। चिकित्सा योजना में दवा के साथ–साथ जोखिम के कारकों को कम करने हेतु उपाय भी शामिल होने चाहिए। आशा के रूप में आपकी जिम्मेदारी यह सुनिश्चित करना है कि मरीज उपचार का पालन करे और साथ–साथ अपने जीवन शैली में बदलाव करें, जिससे जोखिम के कारकों को कम किया जा सके।

रक्त शर्करा का माप करना

ग्लूकोमीटर एक ऐसा उपकरण है जिससे रक्त में शर्करा के स्तर का पता लगाया जाता है। इसके माध्यम से एक बूंद रक्त से रक्त में शर्करा के स्तर (मधुमेह) का पता किसी भी समय लगाया जा सकता है। यदि रक्त शर्करा का स्तर 140 mg/dl से अधिक हो तो तुरन्त उसे चिकित्सा अधिकारी के पास आगे की अन्य जांचों हेतु भेजा जाना चाहिए।

सामान (टूल)

- रूई (सूखी हुई या स्प्रिट लगी हुई)/रूई का फोहा
- लैंसेट (नीडल)
- लैंसेट डिवाइस (प्रिकर)
- टेस्ट स्ट्रिप (जांच पट्टी)
- ग्लूकोमीटर

- शॉप बिन (हॅब–कटर या कटर बॉक्स)
- उपकरण साफ करने के लिए स्प्रिट युक्त टिशू
- ग्लूकोमीटर एक ऐसा उपकरण है जिसका इस्तेमाल रक्त में शर्करा (ग्लूकोज) के स्तर की जांच करने के लिए होता है।

प्रक्रिया के चरण

1. संक्रमण से बचाव हेतु हाथों को अच्छे से धोएं।
2. प्रतिभागियों से अच्छी तरह से हाथ धोकर सुखाने को कहें।
3. ग्लूकोमीटर को समतल स्थान पर रखें।
4. ग्लूकोमीटर के साथ प्रदान की गयी लैंसेट डिवाइस को बाहर निकालें।
5. लैंसेट को उसके खांचे में लगाएं। सील बंद नीडिल से कैप को हटाएं। नीडिल को हाथ से छूना नहीं है। डिवाइस को बंद करें। डिवाइस की स्प्रिंग को सेट करें जिससे यह लैंसेट डिवाइस लोड बटन को दबाकर या खींचकर इस्तेमाल करने के लिए पूरी तरह तैयार हो जाये।
6. जहां पर नीडिल को चुभोना (प्रिक) है उस उंगली को रूई से साफ करें।
7. ग्लूकोमीटर चालू करें और जब उपकरण तैयार हो जाये, टेस्ट स्ट्रिप (जांच पट्टी) को उपकरण पर रखें। एक सिरा ग्लूकोमीटर की तरफ हो। सामान्यतः वहां पर एक गाढ़े रंग की रेखा (लाइन) होती है। यह वही स्थान है जहां पर जांच हेतु रक्त को डाला जाता है। सूचक (इन्डीकेटर) को देखें जहां पर रक्त की बूंद को स्ट्रिप पर डाला जा रहा है।
8. लैंसेट का उपयोग उंगली या अंगूठे से रक्त निकालने हेतु करें। रक्त को आराम से बाहर आने दें। उंगली को दबाने की आवश्यकता नहीं है। दबाव देने से सही माप में अंतर आ सकता है। रक्त निकालने के पहले हाथ को अच्छी तरह से रगड़ने से रक्त के बाहर आने में आसानी होती है। रक्त की पहली बूंद को पोंछ दें, क्योंकि, यह प्रदूषित हो सकता है।
9. रक्त को टेस्ट स्ट्रिप (जांच पट्टी) पर रखें। रक्त के बूंद को स्ट्रिप के एक सिरे पर रखें।
10. रूई को व्यक्ति की उंगली पर तब तक रखें जब तक रक्त बाहर आना न बंद हो जाए।
11. ग्लूकोमीटर की स्क्रीन को देखें। वेटिंग या प्रोसेसिंग का चिन्ह दिखाई देगा और जांच होने के बाद बीप की आवाज आयेगी तो समझ लें कि जांच हो गयी। जांच का रिजल्ट स्क्रीन पर आ जायेगा।
12. मशीन की रीडिंग को नोटबुक में या उसके पारिवारिक फोल्डर (फैमिली फोल्डर) में दर्ज करें। रिकॉर्ड रखने का फायदा यह होता है कि किसी समय यदि व्यक्ति को रेफरल या उच्च स्वास्थ्य संस्थान पर जाने की आवश्यकता है तो उसके आधार पर उसकी सही उपचार योजना बनायी जा सकेगी।
13. ग्लूकोमीटर को बंद (स्विच आफ) करें।
14. इस्तेमाल की गयी नीडिल को तुरन्त शॉप बिन (हॅब–कटर या कटर बॉक्स) में फेंक दें।
15. दस्ताने निकालने के पहले टेस्ट स्ट्रिप (जांच पट्टी) को नैदानिक अपशिष्ट बिन (क्लीनिकल वेस्ट बिन) में फेंक दें।
16. यदि वहां पर इनमें से कोई भी बिन उपलब्ध नहीं है तो दो अलग–अलग बॉक्स बनाकर उसमें इनका निस्तारण (डिस्पोज) करें। रक्त शर्करा की जांच के पश्चात् बॉक्स को जैवनिवारक (बायोहेजार्ड) कन्टेनर में डालकर निस्तारित कर दें। यह सुनिश्चित करें कि यह करने से पहले दस्ताने ज़रूर पहने गये हों। (निडिल के चुभने से बचाव करें)
17. उपकरण साफ करने के लिए स्प्रिट युक्त टिशू का इस्तेमाल करके मीटर को साफ करें और यह सुनिश्चित करें कि उसकी बाहरी सतह पूरी तरह से साफ हो।
18. ली गयी रीडिंग यदि ज्यादा है तो उस व्यक्ति को आगे की जांच के लिए स्वास्थ्य प्रदाता के पास भेजा जाना चाहिए।

हाइपोग्लाइसीमिया क्या है (रक्त में शर्करा की मात्रा बहुत कम होना)?

यह मधुमेह के रोगियों में एक खतरनाक स्थिति है जिसमें रक्त में शर्करा का स्तर सामान्य से बहुत कम हो जाता है। यदि रक्त में शर्करा का स्तर 70 mg/dl या उससे कम होता है तो इसे हाइपोग्लाइसीमिया (रक्त में शर्करा की मात्रा का बहुत कम होना) कहते हैं।

हाइपोग्लाइसीमिया के सामान्य लक्षण, अस्थिरता, उदासीनता, पसीना आना, चिड़चिड़ापन, उलझन, तेज हृदय गति, उल्टी आना, धुंधला दिखाई देना, सिरदर्द, कमजोरी या थकान, संतुलन में कमी, अचेतावस्था आदि हो सकते हैं।

हाइपोग्लाइसीमिया होने के कई कारण हो सकते हैं। जैसे बहुत देर तक कुछ न खाना एक अहम कारण है या मधुमेह के लिए ली गयी कुछ अन्य दवाओं के खाने के बाद उसका दुष्प्रभाव।

हाइपोग्लाइसीमिया के लक्षण दिखाई देने पर तुरंत चीनी युक्त खाद्य पदार्थ की थोड़ी सी मात्रा का सेवन करने से इस को काबू किया जा सकता है। आपात स्थिति में – मधुमेह के मरीजों को यह सलाह दी जानी चाहिए कि कुछ चीनी युक्त खाद्य पदार्थ जैसे– चीनी का टुकड़ा, मिसरी, कैंडी या टॉफी आदि अपने पास खाने के लिए अवश्य रखें।

हाइपोग्लाइसीमिया से प्रभावित लोगों को अपने रक्त शर्करा के स्तर को नियमित रूप से जांच के लिए प्रोत्साहित करना चाहिए। उन्हें समय से भोजन करना चाहिए एवं हाइपोग्लाइसीमिया के सम्बन्ध में जानकारी प्राप्त करना चाहिए। मरीजों को नियमित रूप से दवाईयों का सेवन करना चाहिए तथा हाइपोग्लाइसीमिया के लक्षण आने पर सम्पूर्ण उपचार प्राप्त करने के बारे में पता होना चाहिए।

मधुमेह की रोकथाम एवं नियन्त्रण

जीवन शैली में बदलाव करके टाइप–2 मधुमेह के प्रभाव और जटिलताओं को रोका जा सकता है। इनमें शामिल हैं:

- शरीर का वज़न संतुलित रखना अत्यधिक वज़न बढ़ने से रोकना
- सप्ताह में पांच दिन कम से कम 30 मिनट तक शारीरिक व्यायाम करना जिससे वज़न संतुलित रह सके। वज़न को कम करने के लिये ज्यादा शारीरिक गतिविधि करने की आवश्यकता है।
- थोड़े–थोड़े समय पर कम मात्रा में भोजन करना चाहिए। भोजन न करने या छोड़ देने से शरीर में रक्त शर्करा का स्तर कम हो सकता है। स्वस्थ और संतुलित आहार का सेवन करना चाहिये और चीनी, नमक और वसा की ज्यादा मात्रा भोजन में लेने से बचना चाहिए।
- ऐसे भोजन/खादय पदार्थ खाने चाहिए जिसमें रेशे (फाइबर) की मात्रा अधिक हो जैसे कि फल, हरी सब्जी, छिलके वाले अनाज, छिलके वाली दाल या उससे बने अन्य खादय पदार्थ।
- किसी भी प्रकार का धूम्रपान नहीं करना चाहिए
- शराब का सेवन नहीं करना चाहिए।
- रक्त शर्करा के स्तर की जांच नियमित कराते रहना चाहिए।
- चिकित्सक द्वारा दी गयी सलाह का पालन करना चाहिए।

चरण-2 मधुमेह का दवाओं के द्वारा उपचार करने के नियम

प्राथमिक स्वास्थ्य केन्द्र/सामुदायिक स्वास्थ्य केन्द्र (पी.एच.सी./सी.एच.सी.) का चिकित्सा अधिकारी मरीज के उपचार हेतु दवाओं के प्रयोग का निर्णय लेगा कि उस मरीज को उपचार की आवश्यकता है कि नहीं या कौन सी दवा उसके लिए बेहतर है। यह निम्न बिन्दुओं एवं मरीज के स्वास्थ्य अवस्थाओं पर निर्भर करेगा:

- रक्त में शर्करा के स्तर के जांच की रीडिंग
- क्या उच्च रक्त शर्करा के कारण शरीर के अंग जैसे ह्रदय, गुर्दे, आंख या रक्त वाहिकाओं को पहले से ही कोई नुकसान हो चुका है
- मौजूदा परिस्थितियां जैसे उच्च रक्तचाप, ह्रदय रोग, गुर्दे संबंधी रोग या अन्य जोखिम कारक जैसे अस्वास्थ्यकारी आहार की आदतें, शारीरिक गतिविधि की कमी या कम शारीरिक गतिविधि, तम्बाकू, शराब या ज्यादा वज़न एवं नुकसानदेह रक्त वसा की अधिक मात्रा (कोलेस्ट्रॉल की अधिक मात्रा) आदि
- अन्य कारक जैसे उम्र, लिंग (पुरुष/महिला) और शारीरिक वज़न आदि को भी ध्यान में रखा जाये

उच्च रक्तचाप, मधुमेह एवं सामान्य कैंसर के रोकथाम के लिए कई तरह की दवाओं का इस्तेमाल किया जाता है। सभी राज्यों के पास आवश्यक दवाओं की सूची (एसेन्शियल ड्रग लिस्ट) उपलब्ध होती है। मधुमेह हेतु आवश्यक दवाओं की उपलब्धता प्राथमिक स्वास्थ्य केन्द्र/सामुदायिक स्वास्थ्य केन्द्र या उच्च स्वास्थ्य संस्थान पर होनी चाहिए। इन आवश्यक दवाओं की सूची की राज्यों द्वारा लगातार समीक्षा होती है और उसमें आवश्यकतानुसार परिवर्तन किया जाता है। यह राज्यवार अलग–अलग भी होती है।

मधुमेह के लिए आवश्यक दवायें सभी सरकारी स्वास्थ्य केन्द्रों पर मुफ्त उपलब्ध हैं। चिकित्सा अधिकारी द्वारा लिखी गई दवाओं की एक महीने की खुराक (डोज) मरीज को उपलब्ध करानी चाहिए। मधुमेह हेतु खाने वाली दवाओं का या दिए जाने वाले इन्सुलिन इंजेक्शन का निर्णय चिकित्सा अधिकारी द्वारा दिये गये परामर्श पर निर्भर करता है।

मरीज अपने निकटतम स्वास्थ्य केन्द्र से प्रत्येक माह दवाओं को फिर से प्राप्त (रिफिल) करने में सक्षम होना चाहिए। ऐसा स्थान उपकेन्द्र या प्राथमिक स्वास्थ्य केन्द्र हो सकता है।

उच्च रक्त शर्करा के स्तर के रोकथाम और नियंत्रण में आशा की भूमिका (जिन लोगों को उच्च रक्तचाप है उन के साथ भी यह लागू होता है)

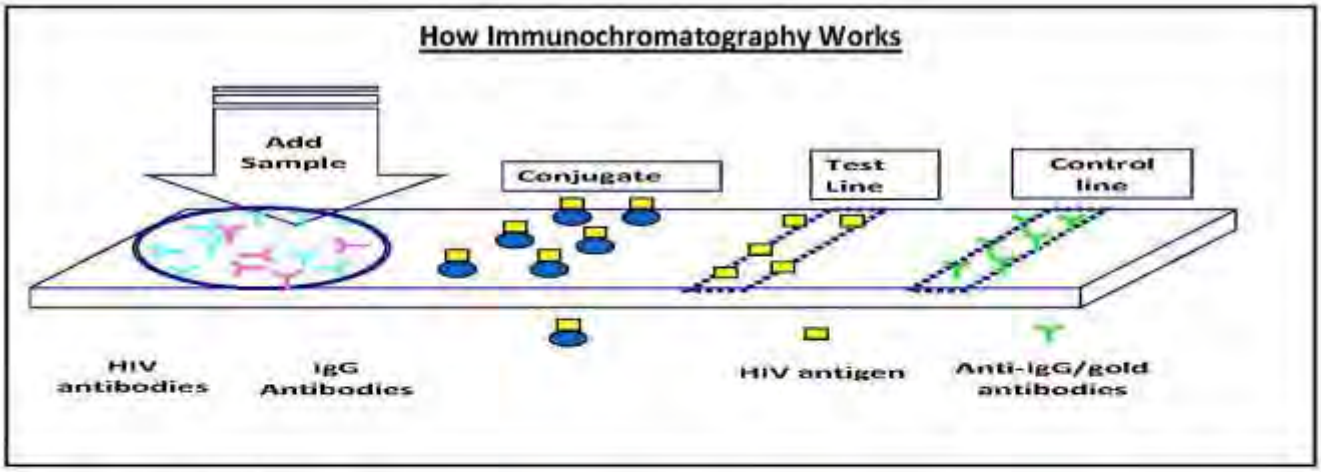
आशा को उच्च शर्करा वाले मरीजों को प्रोत्साहित करना चाहिए:

- खान–पान में रेशेदार खाद्य पदार्थ– जैसे–फल, सब्ज़ियां, साबुत अनाज खासकर छिलके वाले अनाज एवं दालें खाने की सलाह देनी चाहिए (हरी पत्तेदार सब्ज़ियों सहित)।
- परिष्कृत (पॉलिश वाला) अनाज एवं दालें, मीठा, नमक और वसा युक्त खाद्य पदार्थ का प्रयोग कम से कम करने की सलाह देनी चाहिए।
- नमक की मात्रा दिन भर में एक चम्मच (5gm) से ज्यादा न लेने हेतु प्रेरित करना चाहिए।
- जिन्हें मधुमेह है ऐसे मरीजों को चीनी अथवा मीठी चीज़ों के इस्तेमाल से बचना चाहिए।
- तम्बाकू उत्पादों के उपयोग (धूम्रपान या चबाने) को रोकने के लिए, चाहे वह किसी भी रूप में लिया जा रहा है एवं जो व्यक्ति तम्बाकू उत्पादों का प्रयोग करते हैं, उनसे दूर रहने की सलाह देनी चाहिए।

- शराब का कम सेवन करें।
- चाय, कॉफी, कोल्ड ड्रिंक (ऐसे पदार्थ जिसमें कैफीन की मात्रा अधिक होती है) के ज्यादा उपयोग से बचना चाहिए।
- वज़न को नियंत्रित रखना चाहिए। जिन व्यक्तियों का वज़न अधिक है, उन्हें वज़न कम करने हेतु प्रेरित करना चाहिए।
- नियमित रूप से पर्याप्त व्यायाम सुनिश्चित करना चाहिए।
- तनाव से मुक्त रहने हेतु प्रेरित करना चाहिए।
- रक्त शर्करा और रक्तचाप स्वस्थ और सामान्य बनाए रखने के लिए लोगों की मदद करें और रक्त शर्करा का स्तर एवं रक्तचाप बढ़ाने वाले जोखिम के कारकों को नियन्त्रित करने और उनकी रोकथाम के लिए इनकी नियमित रूप से निगरानी करनी होगी।
- स्वास्थ्य संस्थानों/रेफेरल केन्द्रों पर रेफर किये गये मरीजों से मिलते रहना (फॉलो–अप) और आवश्यकतानुसार उनको परामर्श देना या उपचार के माध्यम से उनकी मदद करना।
- यह सुनिश्चित करना कि चिकित्सक द्वारा दी गयी उपचार योजना की सलाह के आधार पर दवाईयों को लिया जा रहा हो और बिना चिकित्सक की सलाह के दवाओं में कोई बदलाव न किया जाए।
- नये संकेत और लक्षण के लिए सावधान रहें, यह दवाओं के दुष्प्रभाव के कारण भी हो सकता है।
- जांच के लिए प्राथमिक स्वास्थ्य केन्द्र या सामुदायिक स्वास्थ्य केन्द्र या उच्च स्तरीय स्वास्थ्य संस्थान के लिए सलाह देना।
- यह सुनिश्चित करना कि मरीज और उनके परिवार के सदस्यों को मधुमेह की रोकथाम और जीवन शैली में बदलाव की जानकारी मिले।
- नियमित रूप से घरों का दौरा करना विशेष रूप से दूरदराज, वंचित और उपेक्षित परिवारों में, जिनका उपचार बीच में ही छूट गया हो या जो लोग इन जटिलताओं का सामना कर रहे हों, इस तरह के मामलों को ए.एन.एम. या चिकित्सा अधिकारी की जानकारी में लाना चाहिए।
- आपके समुदाय में कई लोग घरेलू उपचार या दूसरी चिकित्सा पद्धतियों जैसे आयुर्वेद एवं होम्योपैथी के इलाज के बारे में पूछेंगे। आप उन्हें किसी भी दवा को लेने या इलाज में परिवर्तन करने से पहले ए.एन.एम. एवं चिकित्सा अधिकारी से सलाह लेने को कहें।

v/;k; & 18

,p-vkb-Ogh ,Mh dh tkp



Reagents Required:

1. Test device
2. Assay diluents (provided with kit)
3. Disposable dropper (provided with kit)
4. Package insert (provided with kit)
5. Freshly collected serum / Plasma / Whole blood
6. Disposable gloves
7. Sodium hypochlorite solution

Test Procedure:

Bring all the reagents & specimens to room temperature prior to testing

↓

Remove the test device from foil pouch & place on flat, dry surface.

↓

Label the test device with proper patient ID

↓

Add 10 µl (1 drop) of serum / plasma & allow to soak in
[20 µl (2 drops) of whole blood in sample well (S)]

↓

Add 2 drops of assay diluents into the sample well (S)

↓

Interpret test results in 20 minutes. Do not read result after 20 minutes.

↓

Record the result & discard the device in Sodium hypochlorite solution for 30 minutes.

Non-Reactive:

Only presence of control line (c) within result window → Non reactive for antibodies to HIV-1 & HIV-2

Reactive:

1. Presence of two line as control line (C) & test line 1 → Reactive for Antibodies to HIV 1
2. Presence of two line (C) & test line 2 → Reactive for Antibodies to HIV-2
3. Presence of three line (C), test line 1 & 2 within the result window → Reactive for antibodies to HIV 1 & HIV-2
4. No line at C, Test 1 & 2 → Invalid Result

NACO Guidelines for interpretation of HIV Testing

Strategy I (For Transfusion/ transplantation safety)

One test Kit required

A_1

A_1 +
Consider Positive[2]
(Destroy the unit of blood as per guidelines
Refer to ICTC for confirmation of status after consent)

A_1
Consider Negative

Strategy II A

(For Surveillance)
2 Test kits required
A_1

A_1 +

A_1 −
Report Negative

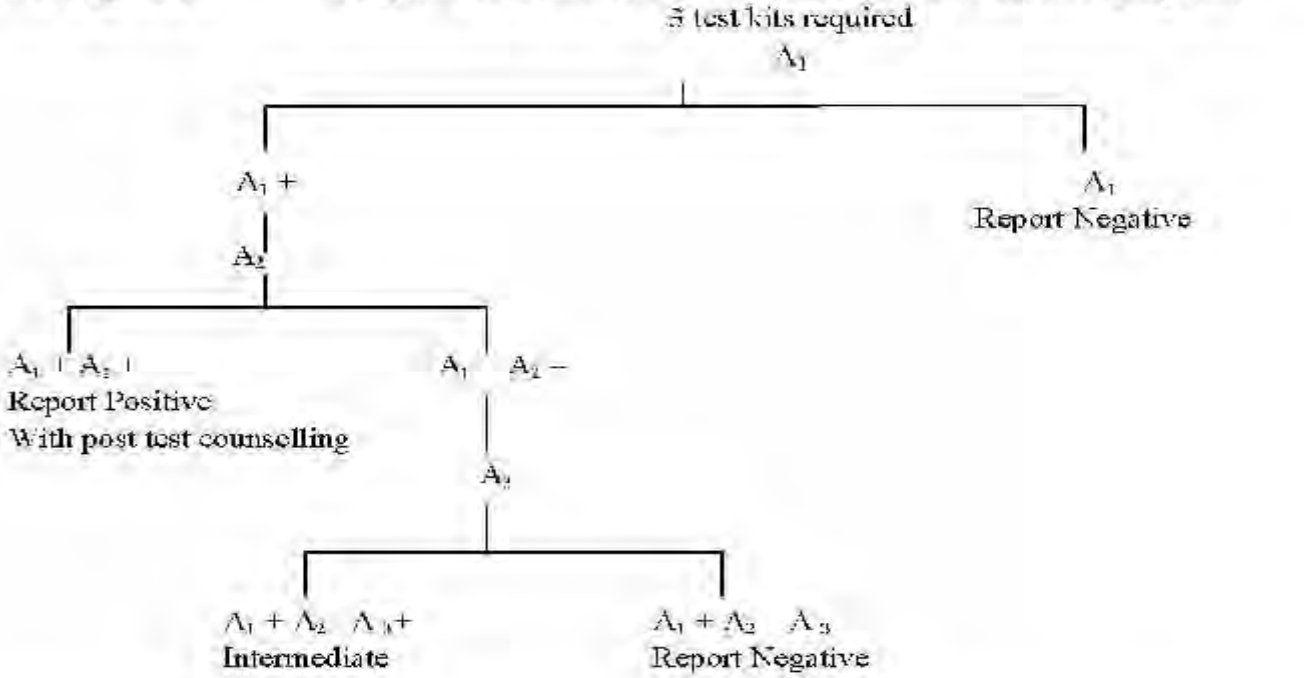
Department of Microbiology

A_2

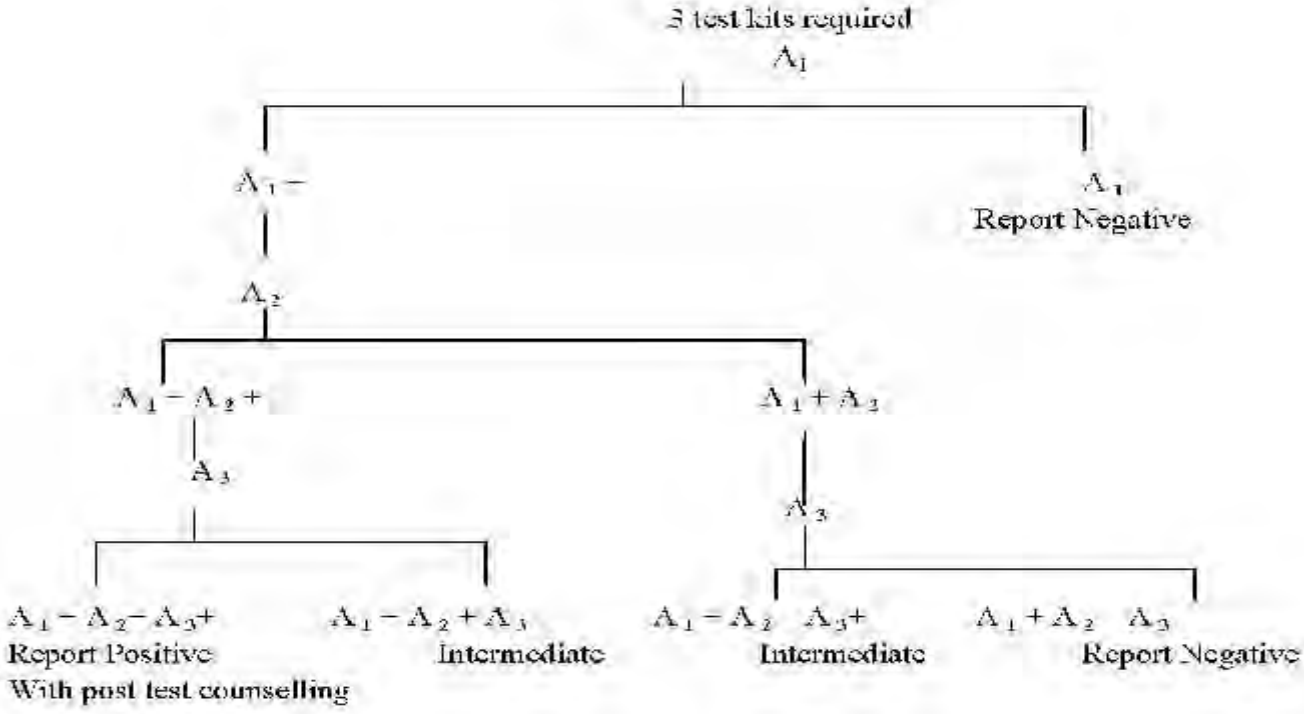
A_1 − A_2 +
Report Positive

A_1 − A_2
Report Negative

Strategy II B **Diagnosis of an individual with AIDS indicator disease symptoms**



Strategy III **To detect HIV infection in asymptomatic individuals (VCTCs, PPTCTs)**



v/;k; & 19
giVkbfVl ch- dh tkp

RAPID TEST FOR HBsAg

Reagents Required:

1. Test device
2. Disposable dropper (provided with kit)
3. Package insert (provided with kit)
4. Freshly collected serum / Plasma / Whole blood
5. Disposable gloves
6. Sodium hypochlorite solution

Test Procedure:

Bring all the reagents & specimens to room temperature prior to testing

↓

Remove the test device from foil pouch & place on flat, dry surface.

↓

Label the test device with proper patient ID

↓

Add 1 drop of serum / plasma in sample well (S) & allow to soak

↓

Interpret test results in 20 minutes. Do not read result after 20 minutes.

↓

Record the result & discard the device in Sodium hypochlorite solution.

Result Interpretation-

Only presence of control line (c) within result window → Negative for HBsAg

Presence of two lines as control line (C) & test line → Positive for HBsAg

No line at C & Test → Invalid Result

v/;k; & 20

Mx

RAPID TEST FOR Dengue NS1 & IgG- IgM

Test Procedure for NS1 Antigen detection:

Bring all the reagents & specimens to room temperature prior to testing

↓

Remove the test device from foil pouch & place on flat, dry surface.

↓

Label the test device with proper patient ID

↓

Add 80 µl (3 drop) of serum / plasma in sample well (S) & allow to soak

↓

Interpret test results in 15-30 minutes. Do not read result after 30 minutes.

↓

Record the result & discard the device in Sodium hypochlorite solution

Result Interpretation-

Only presence of control line (C) within result window	→	Negative for NS1 Ag
Presence of two lines as control line (C) & test line	→	Positive for NS1 Antigen of Dengue Virus
No line at C, Test 1 & 2	→	Invalid Result

Test Procedure for Dengue IgG & IgM antibodies detection

Add 5 µl (1 drop) of serum / plasma in sample well (S) & allow to soak

↓

Add 2-3 drops (60-80 µl) of test buffer to the sample well (S)

↓

Interpret test results in 15-30 minutes. Do not read result after 30 minutes.

↓

Record the result & discard the device in Sodium hypochlorite solution

Result Interpretation-

Only presence of control line (c) within result window → Negative for Dengue IgG & IgM antibodies

Presence of two lines as control line (C) & test line 1 → Positive for Dengue IgG antibody

Presence of two lines (C) & test line 2 → Positive for Dengue IgM antibody

Presence of three line (C), test line 1 & 2 within the result window → Positive for Dengue IgG & IgM antibodies

No line at C, Test 1 & 2 → Invalid Result

v/;k; & 21
flQfyl dh tkp

RPR TEST for syphilis

A. Qualitative Method

Bring reagent & samples to room temperature before testing and label the kit.

↓

Pipette 1 drop (50 µl) of the test specimen, positive control & negative control on to separate reaction circles of the disposable slide using a sample dispensing pipette.

↓

Add 50 µl of Carbogen to specimen, Positive & Negative Control.

↓

Using a mixing stick, mix the test specimen and the carbogen reagent throughly spreading uniformly over the entire reaction circle.

↓

Immediately start a stopwatch. Rotate the slide gently & continuously on a mechanical rotor at 180 r.p.m. for 8min

↓

Observe for flocculation macroscopically at 8 minutes.

INTERPRETATION OF RESULT:

Qualitative Method:-

Reactive	→	Large and medium black floccules against white background
Weakly reactive	→	Small black floccules against white background
Non Reactive	→	No floccules or grey background

If reactive proceed for semi- quantitative method.

B. Semi- Quantitative test :-

Clean the test slide properly & wipe it free of moisture and dust.

↓

Place 50 µl normal saline onto each of five circles of the slide.

↓

Add 50 µl serum sample to the drop of normal saline in 1st circle using a micropipette.

↓

Using the same micro pipette, mix the sample with normal saline by aspirating back & forth several times. Aspirate 50 µl from 1st circle and transfer to 2nd circle. Repeat the same operation up to 5th circle. Aspirate 50 µl from 5th circle and discard. Following dilutions obtained- 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 and 1:32.

↓

Add 50 µl of Carbogen to the above circles & mix thoroughly.

↓

Place it on a rotator for 8 minute, start the timer.

↓

Observe the flocculation under good source of light and record the reading.

(Note: do not examine beyond 8minute.)

INTERPRETATION OF RESULT:

Semi- Quantitative method:-

- The titre of anti- lipoidal antibodies is the highest dilution of the test sample giving the positive test result.
- Titres above 1:8 are taken as cut off to rule out biological false positive (BFP) reactions.
- It is advisable to confirm every positive result by RPR test by specific test for syphilis if available.

v/;k; & 22

Vk;QkbM dh tkp

WIDAL TEST

(SALMONELLA ANTIGEN ANTIBODY SLIDE AGGLUTINATION TEST)

Reagents Required:-

1. Stained antigens of
   a. Salmonella typhi - O and H antigens
   b. Salmonella Paratyphi A – H antigen
   c. Salmonella paratyphi B – H antigen
2. Positive Control serum
3. Patient's serum
4. Clean glass slide provided in the kit
5. Mixing Stick
6. Normal saline

Testing Procedures:

1. **Screening method:**

Take clean glass slide and place 1 drop of undiluted serum in first 4 circles

↓

Add O of S. Typhi and H antigens of S. Typhi, S. paratyphi A and B in circles 1,2,3,4 respectively and one drop of normal saline and positive control serum to 5th and 6th circle respectively

↓

Mix the content with stick

↓

Rock the Slide for 1 min

↓

Observe for agglutination within 1 min

↓

No agglutination → Report as negative

Agglutination seen → Proceed for quantitative estimation

↓

Semi quantitative method (using slide) Quantitative method (using tube)

2. Semi-quantitative method:

Take a clean glass slide & wipe it (separate slide for each antigen to be tested)

↓

Add 1 drop of appropriate antigen in all the circles

↓

Add the serum sample in decreasing proportion (as shown in table below) in first 5 circles

↓

add one drop of normal saline in sixth circle

↓

Mix the content of each circle with separate stick

↓

Rock the slide for one minute and observe for agglutination

↓

Look for titre which is the highest dilution showing agglutination.

↓

Report exact titre

Semi-quantitative method

Circle No	Serum volume	Appropriate Antigen		Estimated Titre
1.	0.08 ml	1 drop	Mix & rotate for 1 min & observe of agglutination	1:20
2.	0.04 ml	1 drop		1:40
3.	0.02 ml	1 drop		1:80
4.	0.01ml	1 drop		1:160
5.	0.005 ml	1 drop		1:320
6.	1 drop Normal saline	1 drop		-

3. Quantitative method:

- Take four sets (one set for each antigen suspension) of eight test tubes and number them
- Arrange them in four different rows in a widal test tube rack and mark them according to the name of the antigen being tested.
- Add serum and normal saline in each test tube as shown below in the table
- Transfer 1 ml diluted serum from tube no. 1 to tube no. 2 and repeat the procedure for rest of the tubes
- Add 1 drop of appropriate antigens in each row
- Incubate at 37 ^{0}C overnight and take readings next morning.

	Test tube number							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Final Dilution required	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	Saline control
Normal Saline, in ml	1.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Patient's serum (Undiluted) 0.1 ml	0.1mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	-	
Transfer Serum 1.0ml	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-
Appropriate Antigen, drop	1	1	1	1	1	1	1	1

Discard 1.0 ml

RESULT INTERPRETATION-

1. "O" antigen shows disc like pattern of agglutination.
2. "H" antigen shows the characteristic flocculer pattern.
3. In Negative Reactions and saline control, the appearance of suspension remains unchanged with a minute button of deposit at the bottom of the tube.

REPORTING-

- Report as "Widal test positive" with exact titres for each agglutinin.
- A diagnostic titre of 1:80 (for O agglutinins) and 1:160 (for H agglutinins) is suggestive of positive reaction.

  Note: Titre varies with different geographical regions.