



الجمهورية العربية السورية  
جامعة حماة  
المعهد التقني للطب البيطري

مقرر مادة علم الطفيليات ١  
لطلاب السنة الثانية  
اختصاص رعاية تناسلية  
الجزء العملي  
مدرسة المقرر: د. مها عرفة

العام الدراسي ٢٠١٨ / ٢٠١٩ م

## الفصل الأول

### أسس وطرائق تشخيص الأخماج الطفيلية

#### مخارج الطفيليات:

تطرح الطفيليات إلى الوسط الخارجى بعدة طرق وهى مرتبطة بمكان تطفلها فى الجسم أما بالنسبة للطفيليات الخارجية فلا تحتاج إلى منفذ يوصلها إلى الوسط الخارجى لوجودها فيه أما الطفيليات الداخلية فهى تحتاج إلى مسلك تسلكه لتخرج من الجسم إما بشكلها أو بأحد أطوار تطفلها وهذه المخارج :

١\_مفرغات القناة الهضمية :تخرج بواسطتها أغلب الطفيليات المعوية مثل الشريطيات و المثقوبات ،أو طفيليات فى أعضاء أخرى مثل المتورقة الكبدية التى تتطفل فى الكبد أ وجانبية المناسل الوسترمانية التى تتطفل على الجهاز التنفسى وتصل للجهاز الهضمى عن طريق البلعوم .

٢\_المفرغات البولية التناسلية:تسلكها المشعرة المهبلية والمثقوبات مثل المنشقات الدموية

٣\_القشع والمفرزات الأنفية:تخرج بواسطتها الطفيليات الرئوية والأنفية مثل بيوض جانبية المناسل الوسترمانية ويرقات النبر الأنفي

٤\_الجلد والأنسجة المصابة :تسلكه بعض الطفيليات فاعلة مثل التينينة المدينية ،أو تخرج عبره منفعله بواسطة مفصليات الأرجل الماصة للدم مثل المتصورات .

٥\_طفيليات عديمة الاخراج:الكيسة المذنبه البقرية ،الكيسة العدارية

العينات المأخوذة للفحص الطفيلي:

يجب مراعاة الأمور التالية عند أخذ العينات:

١\_اختيار العينة المناسبة للفحص المخبري .

٢\_اختيار الطريقة المناسبة.

٣\_وعى وخبرة القائم على اجراء الفحص بمكان وجود الطفيليات ومخارجها.

- ٤-يفضل أن يقوم بأخذ العينة اختصاصي بالعمل المخبري.
- ٥-اختيار الوقت المناسب لأخذ العينة خلال فترة سير المرض.
- ٦-أخذ العينات بهدف التشخيص الطفيلي يجب ان يكون قبل المعالجة.
- ٧-العمل على ارسال العينات بسرعة الى المخبر وذلك لسرعة تخرب العينات أو حصول تغيرات في أشكال الأتاريف الطفيلية
- ويجب اضافة مادة حافظة في الحالات التي يؤجل فيها الفحص لوقت طويل .
- ٨-يجب التعريف بالعينة المرسله إلى المخبر (نوع العينة،تاريخ أخذها،المراد المشبه المراد فحصه ،والعلاجات المستخدمه ).

أنواع العينات المأخوذه للفحص الطفيلي:

- ١\_البراز:للكشف عن طفيليات الجهاز الهضمي والأعضاء الملحقة مثل الديدان الكبدية....
- ٢\_الدم:للكشف عن الاصابة بالأوالي الدموية او بعض الديدان الخيطية مثل المتصورات.
- ٣-البول:للكشف عن بيوض المنشقات الدموية.
- ٤-القشع :للكشف عن الاصابة بديدان جانبية المناسل الوسترمانية.
- ٥-تحضير لطاخات:من التقرحات الجلدية للكشف عن الاصابة باللشمانية،او من الأحشاء الداخلية للكشف عن المقوسة القندية .
- ٦-الخزعات :يتم الحصول عليها من العضلات بهدف الكشف عن الاصابة بالمقوسة القندية.
- ٧-الماء:للكشف عن تلوث مياه الشرب ببيوض الديدان،والأوالي،والقشريات.

### طرائق تشخيص الأخماج الطفيلية:

يتم تشخيص الطفيليات وأمراضها سريرياً ومخبرياً :

1- التشخيص السريري ( الإكلينيكي ) :

ويتم ذلك بدراسة الأعراض المرضية التي تظهر على الثوى ولاسيما النمطية و النموذجية منها (إسهال وإسهال مع نزوفات دموية، إستسقاء تحت الجلد، وضيق التنفس.... وغيرها) .

2- التشخيص المخبري :

ويكون التشخيص المخبري عموماً مباشراً، أو غير مباشراً :

أ- التشخيص المباشر : ويتم ذلك بالبرهان على الطفيليات نفسها أو منتجاتها التناسلية وذلك وفق ما يلي :

1- الفحص العياني ( بالعين المجردة ) : وبذلك يمكن العثور على قطع الديدان الشريطية أو ديدان الصفر مثلاً .

2- الفحص المجهرى : ويثبت هذا النوع من التشخيص وجود البيوض أو كيسات البيض أو اليرقات أو الديدان والطفيليات الخارجية.

3- التشخيص الزرعى : إذ يمكن البرهان على الطفيليات بعد إكثارها مخبرياً فى المزارع

(المستنتجات) .

- 4- التشخيص التلقحي : ويعنى ذلك إكثار الطفيليات فى حيوانات التجربة كالفئران و الضفادع ثم كشفها.
- 5- التشخيص الثوائى : ويعتمد ذلك على كشف الطفيلي المسبب فى الكائن الحى الناقل بعد أن يتم خمجه تجريبياً .
- ب- التشخيص غير المباشر : ويتم ذلك بدراسة التغيرات والتفاعلات المختلفة الناتجة عن وجود الطفيلي وفعله فى الثوي ولاسيما النسيجية أو الخلطية:
  - 1- التشخيص النسيجي : مشاهدة تغيرات نسيجية معينة (أورام أو تقرحات وغيرها) .
  - 2- التشخيص الخلطى : وهو يستند على تأكيد التبدلات التى تحدث فى أخلاط وسوائل الجسم، ويمكن تقسيمها إلى :
    - 1- تغيرات خلوية : تغيرات فى الصيغة الكروية للدم كزيادة الكريات البيض، أو نقص الكريات الحمراء وغيرها .
    - 2- تغيرات فيزيائية: كاختلاف التوتر السطحي .
    - 3- تغيرات كيميائية: كارتفاع (شوارد) معينة فى السائل النخاعي .
    - 4- تغيرات مناعية : وذلك بتشكّل أضداد راصّة أو مرسّبة أو حالة أو مثبتّة للمتمم ، وتستخدم الاختبارات المصلوية المناعية فى تشخيص الأوالى والديدان، ومن هذه الاختبارات ( IFAT , ELISA) .

## الفصل الثاني

### فحص البراز

يجرى فحص البراز لتشخيص الطفيليات التى تصيب القناة الهضمية وملحقاتها والجهاز التنفسي حيث تخرج البيوض أو اليرقات او الأطوار الكيسية أو النشطة مع البراز. أ- طرق جمع العينات:

يفضل أن تكون العينة طازجة وخالية من الشوائب وتختلف طرق جمعها باختلاف الحيوان ففي:

الحيوانات الكبيرة: تؤخذ عينة البراز من المستقيم مباشرة أثناء الجس المستقيم، او تؤخذ العينة من الروث الحديث فور نزولة على الأرضية.

الحيوانات الصغيرة: يمكن اثاره الحيوان، وذلك بادخال الأصابع عبر فتحة الشرج أو اعطاء الحيوان حقنة شرجية من المحلول الفيزيولوجى أو الماء الدافئ، وغى اللواحم تؤخذ كمية البراز القليلة العالقة على ميزان الحرارة للفحص مباشرة.

الدواجن: يجمع الزرق الحديث من أرضية الحظيرة .

يجب أن يكون فحص العينة مبكراً او خلال نصف ساعة على الأكثر من وقت الحصول عليها

لسرعة تخريبها وحصول تغيرات فى أشكال النواشط وفى حال كان الوصول السريع للمخبر متعذر يجب اضافة أحد المحاليل الحافظة إلى العينة ومنها:

١- محلول 3% Barbagalao: يحضر بمزج لتر ماء + ٣٠ غ ملح طعام + ٣٠ مل فورمالين . ويحفظ هذا المحلول العينة لمدة لا تزيد عن أسبوعين .

٢- محلول ٢-٢,٥% ثانى كرومات البوتاسيوم :يستخدم لحفظ الكيسات البيضية (الاييميرية، البوغيات الخفية) عند الدرجة أربعة درجة مئوية لمدة ثلاثة أشهر.

٣- مزيج مؤلف من : ٥ مل فورمالين + ٥ مل غليسرين + ٢٥ مل ماء .

العينات المراد تشخيص الديدان الرئوية بها:

يجب عدم اضافة أى مادة حافظة لها ولكن يتوجب حفظها فى درجة حرارة بين صفر وأربعين درجة مئوية حتى يتم فحصها فى أقرب وقت ممكن.

ملاحظة :يجب اضافة المادة الحافظة لعينة البراز بنسبة (٤:١).

### ب- عنونة العينة:

يجب التعريف بكل عينة مرسلة إلى المخبر بكتابة الآتي:

نوع الحيوان وجنسه،رقمة اذا كان من مزرعة نموذجية،عمره،اسم المزرعة او اسم صاحب الحيوان،عنوانه،الأمراض المشتبه بها والمراد إجراء فحص لتشخيصها،معلومات عن المعالجات وتاريخها.

ت-فحص العينة:

١-الفحص بالعين المجردة:توضع العينة تحت مصدر ضوئى وتفحص من حيث اللون والقوام والرائحة وباستعمال قضيب زجاجى وعدسة يد ويبحث عن المكونات غير الطبيعية التى قد يكون لها دلالة مرضية اهمها الدم والمخاط وعند الفحص المجهرى تختار عينة البراز الملاصقة لهذه التغيرات لأنها تحوى أكبر عدد ممكن من الطفيليات إن وجدت ويجب الانتباه كذلك إلى وجود قطع الديدان الشريطية خاصة عند اللواحم والديدان الممسودة أو يرققات النغف عند الخيل.

### ٢-الفحص المجهرى للبراز:

١-طريقة اللطخة المباشرة:

تستخدم هذه الطريقة عندالحيوانات الصغيرة مثل اللواحم أو الدواجن وعند الإنسان أو عندما تكون كمية البراز قليلة ،وذلك للكشف عن الأشكال البيضية والأشكال النشطة او المتكيسه للأوالي.

١-توضع قطرة من المحلول الفيزيولوجي على شريحة زجاجية نظيفة.

٢-تؤخذ كمية قليلة من البراز بواسطة قضيب زجاجى من المنطقة التى تظهر عليها تغيرات ملحوظة بالعين المجردة،وتمزج جيداً بالمحلول الفيزيولوجى لتكون معلق شبه شفاف وتستبعد الأجزاء الكبيرة أو المواد غير المهضومة.

٣-تغطى العينة بساترة زجاجية نظيفة وتضغط جيداً حتى تلتصق بالعينة وتفحص مجهرياً.

لتشخيص الإصابة بالإيميرية عند الدواجن النافقة أو المذبوحة تؤخذ العينة من المعى بعد استبعاد المحتويات وإجراء كشطة من الغشاء المخاطى وتوضع على شريحة زجاجية فى نقطة من محلول فيزيولوجى وتمزج جيداً ثم تغطى بساتره زجاجية وتفحص مجهرياً، وفى مثل هذه الحالة يمكن البرهان على المتقدمات او الكيسات البيضية أو مولدات الأعراس . إن العيب الرئيسى فى هذه طريقة اللطخة المباشرة هو :أنه لا يمكن فحص الجزء بسيط من البراز وذلك لأن المعلق يجب أن يكون رقيق جداً لتكون دراسته ممكنه.

٢-طريقة التعويم:

تعتمد هذه الطريقة على تحضير معلق للبراز فى محلول يتوسط وزنه النوعى بين البيوض و البقايا البرازية، حيث تطفو البيوض وتترسب البقايا البرازية وتستخدم للكشف عن معظم بيوض الديدان الشريطية والممسودة وبعض الديدان الكبدية ومشوكات الرأس، وعن أكياس الحيوانات الأوالي .

محاليل التعويم المستخدمة فى تشخيص بيوض الديدان الممسودة والشريطية وكيسات الأوالي:

محلول ملح الطعام المشبع	وزنة النوعى ١،٢٠
محلول نترات الأمونيوم	١،٣
محلول نترات الصوديوم	١،٣٨-١،٤٠
محلول سلفات الزنك	١،٢٤
محلول السكر المركز	١،٢

محاليل التعويم المستخدمة فى تشخيص بيوض الديدان المثقوبة:

محلول كلوريد الزنك	١،٥٠
محلول يودور الزئبق	١،٤٤

طريقة العمل:

١-يؤخذ حوالى (٣) غ من براز الحيوانات الصغيرة أو (٥) غ من براز الحيوانات الكبيرة من اماكن مختلفة من البراز وتوضع فى هاون بورسلان بواسطة ملعقة.

٢-تضاف كمية قليلة فى البداية من محلول التعويم فى الهاون ،وتفتت كمية البراز بالمقبض وتزاد كمية المحلول تدريجياً ويتم المزج والتحرك واطافة المحلول حتى تصبح الكمية بحدود (٣٠) مل.

٣-تتم تصفية المعلق عبر المصفاة فى أنابيب التثفيل وتملأ الأنابيب حتى مسافة (٥،٠سم) من قمتها .

٤- يتم تثفيل الأنابيب (٢-٣) دقائق بسرعة ١٥٠٠-٢٠٠٠ دورة في الدقيقة .

٥- تؤخذ الغلالة السطحية فقط بواسطة لوب معدني وتوضع على شريحة وتغطى بساترة وتفحص مجهرياً.

٦- إذا لم تتوفر مثقلة يتم ملأ أنابيب التثفيل بالمغلق كاملة حتى تتشكل حبة صغيرة فوق قمة الأنابيب ثم توضع الساترات فوقها وتترك الأنابيب مستقرة في الحامل (٥-٦٠ دقيقة) ثم تؤخذ الساترات التي علق عليها البيوض وتفحص مجهرياً .

٣- طريقة التعويم السكري :

تستخدم للكشف عن الكيسات البيضية للبوغيات الخفية وذلك كما يلي:

١- تمزج عينة البراز أو القشع في محلول ثاني كرومات البوتاسيوم ٢,٥% بنسبة ٤:١

٢- يتم تصفية المعلق عبر مصفات دقيقة وذلك لاستبعاد الأجزاء الكبيرة من البراز.

٣- يمزج معلق البراز أو القشع مع محلول التعويم السكري المكون من ٥٠٠ غ سكر + ٣٢٠ مل ماء + ٦,٥ غ فينول بنسبة ١٠:١ في أنابيب التثفيل سعة ١٥ مل .

٤- يتم تثفيل الأنابيب لمدة عشر دقائق بسرعة ٥٠٠-١٠٠٠ دورة/دقيقة ثم تؤخذ الغلالة السطحية بواسطة لوب معدني وتنقل إلى شريحة زجاجية وتغطى بساتره وتفحص مجهرياً. ويمكن تمييز الكيسات من الخمائر بأن الكيسات تبدو كأجسام كروية مضيئة وفيها ١-٤ حويصلات مظلمة.

٤- طريقة الترسيب :

تعتمد هذه الطريقة على غسل البراز عدة مرات لغسل البيوض عن معلق البراز وذلك

باستخدام محاليل ذات وزن نوعي أقل من الوزن النوعي للبيوض وتستخدم لتشخيص الإصابة بالأمراض الطفيلية التي تطرح بيوض ذات وزن نوعي عالي مثل :

المتورقة الكبدية ،ديدان الكرش، منشقات الجسم، متفرعة المعى ،الكيسات البيضية للحيوانات الأوالي وخاصة الایمیریة عند الخيل.

١- يؤخذ ٥ غ براز من مناطق مختلفة من الكتلة البرازية بواسطة ملعقة وتوضع في هاون بورس لان .

٢- يفتت البراز بمقبض الهاون ثم يضاف الماء تدريجياً بكميات مناسبة حتى يصبح معلق البراز متجانس تقريباً.

٣- يتم تصفية المعلق بواسطة مصفاة في بيشر زجاجي ويضاف الماء حتى يصبح حتى يصبح الحجم ١٠٠ مل .

٤- يترك المعلق يرسب ويستقر في البيشر الزجاجي لمدة ٣ دقائق ثم يفرغ محتواه العلوي بحذر بحيث يبقى ارتفاع المعلق ٣-١ سم فوق القاع وبهذه العملية يتم التخلص من الشوائب ومن بقايا البراز بكميات كبيرة لأنها تترسب بسرعة أقل من سرعة ترسب البيوض نظراً لخفتها .

٥- يضاف الماء إلى الوعاء ثانية حتى ١٠٠ مل.

- ٦-تكرر العملية ٤-٥ مرتين إلى ثلاث مرات لغسل معلق البراز حتى يصبح صافي تقريبا.
- ٧-يفرغ محتوى الوعاء الزجاجى العلوى للمرة الأخيرة ثم يؤخذ الجزء السفلى ويوضع دفعة واحدة فيطبق بتري مخطط أو على دفعات .
- ٨-تضاف عدة قطرات من الحبر أو محلول أزرق الميثيلين فوق محتوى طبق بتري ويمزج جيداً حيث تتلون البقايا البرازية بلون أزرق بينما تحتفظ البيوض بلونها وبحدودها الواضحة المحددة ثم تفحص مجهرياً.
- ٥-طريقة بيرمان فيتسل :
- تستخدم هذه الطريقة للكشف عن اليرقات الأولى للديدان الرئوية أو اليرقات الثالثة المعدية للديدان الممسودة من البراز.
- مبدأ هذه الطريقة يعتمد على خاصية هجرة اليرقات نحو الرطوبة والجاذبية الأرضية.
- يتألف جهاز بيرمان من حامل معدنى ذو حلقة ،قمع بلاستيكى،مصفاة معدنية،انبوبة مطاطية بطول ١٠سم ،لاقط معدني ،قطعة من الشاش ٢٥×٢٥سم.
- طريقة العمل :
- ١-نأخذ ١٠غ روث وتوضع في قطعة من الشاش ثم تربط وتوضع في المصفاة .
  - ٢-نملاً القمع بالماء الدافئ بدرجة ٣٧ درجة مئوية بحيث تغمر نصف العينة السفلى فى المصفاة بعد وضع اللاقط.
  - ٣-تترك العينة لمدة ٦ ساعات ثم بعدها نأخذ القطرات الأولى من الأنبوب المطاطى بفتح اللاقط بحذر وتوضع في طبق بتري .
  - ٤-نفحص العينة تحت المجهر بتكبير ٤٠×.
- ملاحظة:يمكن تسخين وقتل اليرقات الحية بتسخينها بلطف على لهب ساخن.
- ٦-طريقة بيرمان المعدلة :
- ١-نأخذ ٣غ من عينة الروث ونضعها في قطعة من الشاش ثم تربط.
  - ٢-نضع العينة فى أنبوب اختبار يحوى ماء دافئ بدرجة ٣٧ درجة مئوية ونتركها لمدة ٣-٦ ساعات .
  - ٣-بعد مرور الزمن المراد يفحص الراسب مجهرياً.
- ٧-طريقة فايدا:
- طريقة سهلة وسريعة لكنها غير دقيقة النتائج وتستخدم عند المجترات الصغيرة لتشخيص وجود اليرقات الأولى لديدان الرئوية.
- طريقة العمل:
- ١-توضع بضع قطع من روث الأغنام ٤-٨قطع فى طبق بتري ثم يضاف كمية قليلة من الماء الدافئ.
  - ٢-بعد ٣٠ دقيقة تزال كتل الروث ويفحص السائل تحت المجهر لرؤية اليرقات .



## ٨-طريقة ثيلمان :

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن بيوض الديدان المثقوبة وبيوض ديدان أخرى وكيسات بيض الایمیرية.

١-يمزج (٢-١)غ براز في (١٠-٢٠)مل من المحلول المائي لحمض الخل ٥%.

٢-يترك المزيج لمدة نصف دقيقة حيث تترسب شوائب البراز الكبيرة .

٣-يسكب السائل العلوي في أنبوب مثقلة سعة(٤٥)مل ثم يضاف إلیة الايتر بنسبة ١:١.

٤-يرج الأنبوب جيداً ثم يثفل لمدة دقيقة واحدة بسرعة ١٥٠٠ دورة /دقيقة .

٥-يتشكل في الأنبوب أربع طبقات :الطبقة السطحية تحوى على الايتر والمواد الدهنية والأ صبغة المنحلة فيه ،الطبقة الثانية والتي تحوى على الفضلات والتي غالباً ماتترسب على جدار الأنبوب بشكل حلقة،الطبقة الثالثة السائلة التي انحلت فيها الأملاح البرازية والمواد المخاطية،الطبقة الرابعة الراسبة تحتوي على البيوض .

٦-تحرر الطبقة الثانية ثم يقلب الأنبوب بسرعة للتخلص من الطبقة الثالثة ثم يضاف نقطه من المحلول الفيزيولوجى للراسب ويمزج به جيداً ثم تؤخذ عينة من المزيج للفحص المجهرى .

## استنبات يرقات الديدان الممسودة :

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن الاصابة بالديدان الممسودة أو للتفريق بين أجناس وأنواع هذه الديدان ،حيث إن أغلبية بيوضها متشابهه تحت المجهر ولانستطيع تمييزها عن بعضها إ لا بتربية اليرقات إلى الطور اليرقى الثالث وتتطلب فترة تربيتها من يومين إلى خمسة عشر يوماً،بدرجة حرارة ٢٥ درجة مئوية .

## طريقة العمل :

١-نأخذ (٢٠)غ من عينة البراز وتوضع فى طبق بترى ،ثم ترطب بشكل خفيف بإضافة الماء ، يغلق الغطاء بدون احكام للتهوية.

٢-نضع العينة في مكان مظلم لمدة(٢-١٥)يوماً،بدرجة حرارة وسطية (٢٥)درجة مئوية

٣-نأخذ العينة ونضعها فى جهاز بيرمان فيتسل لمدة ٦ساعات ثم نأخذ القطرات الأولى منه وتفحص مجهرياً بتكبير×٤٠ لرؤية اليرقات الثالثة.

## الفحص الكمي للبراز :

تستخدم طريقة عد البيوض لتحديد شدة العدوى ومن أجل تقويم المعالجة المطبقة،لكنها قليلة الفائدة فى التشخيص المخبرى لأن عدد البيوض يختلف حسب نوع الديدان ،وعمرالا صابة ومقاومة الحيوان.

أ-طريقة ماك ماستر:

تستخدم هذه الطريقة عدديوض الديدان الممسودة واليرقات والأكياس البيضية وخاصة الا يميرية.

الأدوات اللازمة :

هاون بورسلان،خافض لسان خشبي،مصفاة ناعمة ،ماصة باستور،محلول ملح الطعام المشبع، شريحة ماك ماستر وتتألف من شريحتين بينهما مسافة (١٥،٠)سم ويقسم الفراغ بينهما إلى غرفتين،وعلى الشريحة العلوية مربعان مسطران مساحة كل منهما (١)سم<sup>٢</sup> وغالباً ماتكون الشريحة العليا أضيق من السفلى بحيث تكون هناك مسافة قصيرة على الطبقة السفلى يمكن وضع قمة الماصة عليها أثناء ملء الشريحة.

١-يمزج ٢غ براز في ٣٠ مل محلول ملح الطعام المشبع .

٢-يتم تصفية المعلق عبر مصفاة ناعمة ومع التحريك المستمر للمعلق تملأ ماصة باستور.

٣-يتم ملء غرفتي الشريحة بسرعة حتى لاتطفو البيوض داخل الماصة .

تحصى البيوض ضمن المربعين مجهريا ويضرب المجموع ب (١٠٠)لينتج عدد البيوض في غرام براز .

**ب- عداة نيو بور المعدلة**

تستخدم هذه الطريقة لتحديد عدد كيسات الحيوانات الأوالي في البراز.

1-يمزج 2 غ براز في 10 مل من محلول اليود المخفف بشكل جيد.

2-تنقل العينة بسرعة بواسطة ماصة باستور الى الشريحة المستخدمة في عد كريات الدم عداة نيو بور المعدلة .

3-يحصى عدد الكيسات الموجودة في الجزء المقسم من الشريحة بنفس طريقة عد الكريات البيض .

4-تكرر العملية في الفقرة الثالثة 3-4 مرات ويمثل المتوسط كمية الكيسات الموجودة في 10\1 ملغ من البراز ولحساب عدد الكيسات في الغرام يضرب الناتج ب ١٠٠ فينتج لدينا عدد الكيسات الموجودة في (١) غ روث.

الفصل الثالث

**طرائق فحص الدم**

يستخدم فحص الدم لتشخيص الاصابة بالاولى الطفيلية او بعض الديدان الخيطية اضافة الى دراسة الخواص الشكلية والفيزيائية والكيميائية للدم .

وتؤخذ انموذجات الدم من

١-الدم المحيطي

- ويتم تحضيره من الوريد الاذني او نهاية الذيل . ويمتاز الدم المحيطي بما يلي
- سهولة الحصول عليه .
- عدم الحاجة الى مهارة في اخذ العينة الدموية .
- المحافظة على الصفات الفيزيولوجية لعناصر الدم .

## ٢-الدم الوريدي

ويؤخذ عادة حسب نوع الحيوان من

- ١-الوريد الوداجي: عند الخيل والابقار والجمال والاعنام والمعز .
- ٢-الوريد اللبني: عند الابقار الحلوب .
- ٣-الوريد الصافن: عند الكلاب والقطط .
- ٤-الوريد الاذني: عن الارانب والخنزير.
- ٥-وريد الجناح :عند الطيور .

ولكن فى بعض الاحيان يلزم جمع كمية مناسبة من الدم لفحصها بعد فترة ولحفظ هذه الكمية من التحليل تستخدم المواد المانعة للتخثر.  
المواد المانعة للتخثر :

١-ملح : Dipotassium Ethylene Diamine Tetra Acetate (E.D.T.A)

٢-مزيج أو كسالات الأمونيوم والبوتاسيوم

٣-سيترات الصوديوم الثلاثية

٤-الهيبارين

## طرائق فحص الدم :

طريقة اللطاخة الرطبة :

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن خيبيطات الديدان الخيطية والمثقيات اذ توضع قطرة من الدم (وريدى او محيطى) والذى أضيف له مانع التخثر على شريحة زجاجية ، ثم تغطى بساترة وتفحص بالتكبير الضعيف والقوى وتكشف الطفيليات عن وجودها بتحريكها لكريات الدم الحمراء الموجودة بجوارها مباشرة ،وبعد فترة قصيرة تميل حركتها الشديدة إلى ابعاد الكريات الحمر عن المنطقة.وعندئذ يمكن رؤية الخيبيطات أو المثقيات نفسها وهى تتلوى وتتقلب.

طريقة اللطاخة الجافة الرقيقة:

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن طفيليات الدم مثل :البابيسية والثاليريا والمثقية.

١-تؤخذ قطرة دم بوخز رأس الذيل أو طرف الأذن بواسطة إبرة ،وتوضع مباشرة بجانب أحد طرفي الشريحة الزجاجية.

٢-توضع حافة شريحة زجاجية أخرى أمام قطرة الدم بزاوية ٤٥م وتسحب الشريحة قليلا الى الخلف حتى تلامس نقطة الدم التي تتوزع بانتظام تقريبا على حافتها الخلفية.

إلى الأمام  
فيلم

هذه الصورة توضح الطفيل الأولي الانبلازما



التالية:

نصف مل

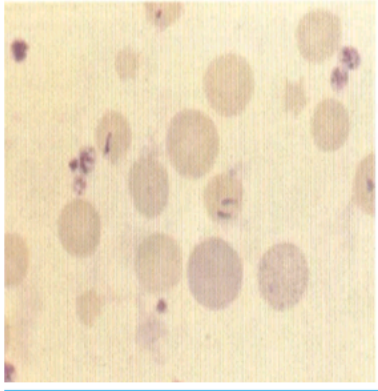
الدارئ  
خر مرات  
دقائق.

نصف مل

ويمزج

الزهر

هذه الصورة توضح طفيل التايبيريا



٣-تدفع الشريحة الزجاجية الثانية فوق الأولى بحركة منتظمة وثابته بحيث يتشكل بعدها رقيق من الدم .

ملاحظة :

يمكن تلوين اللطاخة الدموية بإحدى الصبغات  
١-صبغة رايت

١-تغلى لطاخة الدم المثبته بالميتانول بقرابة  
صبغة رايت لمدة دقيقو واحدة.

٢-يضاف إلى العينة مقدار مماثل من المحلول  
ويمزج مع الصبغة بإمالة الشريحة من جانب لآ  
عدة أو بطريقة النفخ في الفم ثم تترك لمدة ٦

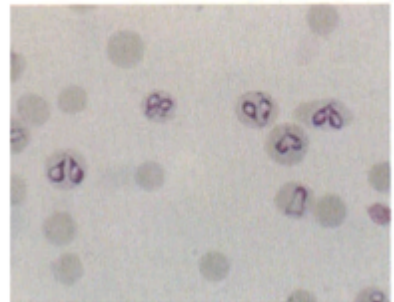
٣-تغسل الشريحة من المحلول الدارئ ثم تفحص مجهرياً.  
٢-صبغة ليشمان:

١-تغلى لطاخة الدم المثبته بالميتانول بقرابة  
صبغة ليشمان لمدة (١-٢)دقيقة .

٢-يضاف إلى العينة مقدار مماثل من الماء المقطر  
معه ويترك لمدة(٥-٨)دقائق.

٣-تغسل اللطاخة بالماء المقطر حتى تصبح بلون  
وتترك لتجف ثم تفحص مجهرياً.

هذه الصورة توضح بابيزيا بيجمنيا متطفلة في كل  
فراغ الخلايا الدموية الحمراء (صغ جيمسا)



طريقة اللطاخة الجافة السميكة:

تستخدم هذه الطريقة لتركيز طفيليات الدم فى بقعة صغيرة بعد تخريب كريات الدم وبقاء الطفيليات حرة.

1-توضع قطرة كبيرة من الدم فى وسط الشريحة الزجاجية وتحرك بقضيب زجاجى أو عود ثقاب مرات عدة على مساحة صغيرة.

2-تجفف العينة فى الهواء لمدة ١٥ دقيقة ثم تصبغ مباشرة بصبغة جميذا الممدة دون تثبيت فى الكحول لمدة نصف ساعة .

3-تغسل الشريحة بلطف بالماء العادى حتى يختفى اللون من العينة ثم تجفف وتفحص مجهرياً.

اختبار هلامة الفورمول:

يستخدم هذا الاختبار لتشخيص الاصابة بالمتقيبات والليشمانية الدونافية .

طريقة العمل :

1- تملأ أنبوبة اختبار رفيعة ب (2)مل مصلى , و تملأ أنبوبة اخرى ماء مقطر بالكمية نفسها.

2- تضاف نقطة أو نقطتان من محلول الفورمالين النقي تركيز 40 %

3- ترج الأنابيب جيداً وتغلق بسدادة قطنية ثم تترك لمدة يوم واحد أو يومين بدرجة حرارة 37 درجة مئوية .

4- تقرأ النتيجة على النحو التالى :

- إيجابية : ينقلب المصل إلى مادة هلامية معتمة تشبه بياض البيض المسلوق .

- سلبية: يحدث تصلب للمصل دون عتامة , أو يبقى دون تغيير.

اختبار الفورمالين :

-يستخدم هذا الإختبار للكشف عن بعض الخيطيات فى الدم النازف من عقيدات أو النزيف الصيفي التي تسببها الإناث البالغة .

طريقة العمل :

1- يمدد (1)مل من الدم فى (10) مل فورمالين تركيز 2% فى أنبوب تثفيل .

2- يمزج الخليط جيداً ثم يثفل لمدة (5-8)دقائق بسرعة (1500) دورة /دقيقة .

3- يسكب السائل العائم بقلب أنبوبة التثفيل بحركة واحدة .

4- يضاف إلى الراسب أزرق الميتيلين 0,1% بنسبة (1:1) ثم يمزج جيداً ينقل بعض الراسب الملون إلى شريحة زجاجية للفحص المجهرى.

أخطاء شائعة فى تحضير لطخات الدم

1- عدم كتابة البيانات اللازمة على الشرائح .

2- فرش لطخة الدم فى غير مكانها من الشريحة أو أن يكون الدم فى العينة السميكة

مفروشا" بشكل غير متساوى فى سماكته وذلك نتيجة عدم وضع الشريحة أفقيا" قبل جفافها.

3- أن تكون عينة الدم فى شريحة اللطخة الجافة السميكة مثبتة نتيجة اختلاط الكحول بالدم أو تعرض الشريحة لضوء الشمس المباشر أو الحرارة الشديدة عند جفافها.

4- اختلاط الأوساخ من الجلد بالدم.

5- أخذ عينة الدم على شريحة غير نظيفة .

6- استعمال شريحة الفرش سبق أن استعملت دون أن تنظف حافتها من آثار العينة السابقة وذلك يؤدي إلى اختلاط عينات مختلفة.

### تنظيف الشرائح المستعملة:

إذ أريد الاحتفاظ بالصبغة على الشريحة الايجابية بعد الفحص يجب إزالة زيت الفحص (زيت الأرز) من سطحها وذلك بغطسها بالزايولول أو بوضع بعض الزايولول لإزالة الزيت ,وتترك الشريحة بوضع أفقى حتى تجف , أو تمسح بقطعة من الشاش مشبعة بـ الزايولول.

- الشرائح المراد استعمالها لمرات أخرى فيتم غسلها وتنظيفها فى اناء يحتوى على كمية من الصابون الناعم المبشور حوالى 50 غ لكل ليتر من الماء وهذه الكمية كافية لغسل حوالى (500) شريحة, يغلى الماء لمدة نصف ساعة بعد ذلك يترك ليبرد ثم تنظف الشرائح ليزال ما عليها من آثار صبغات ثم تغسل بالماء الجارى ثم توضع فى اناء يحوي ماء مقطر ثم تؤخذ وتنشف وتلف بورق نظيف وتحفظ لحين الاستعمال.

## الفصل الرابع

### التشخيص الزراعي

زرع الأوليات المعوية

### المتحول الزحاري

يمكن استخدام المنبت التالي كليفيلاندا وكولير يتكون من :  
آجار دفكو -ملح فيزيولوجي- طحين أرز - مصل حصان .

طريقة تحضيره :

1- يذاب 33 غ من الآجار فى ليتر ماء مقطر ثم يوزع فى أنابيب اختبار ويعمل منه منحل ثم يعقم .

2- يغطى المحلول بمصل الحصان المخفف بنسبة 6:1 من محلول الملح الفيزيولوجي المعقم .

3- يضاف لكل أنبوبة 2|1 سم 3 من طحين الأرز المعقم ثم تغطى وتوضع لمدة 48 ساعة في الحضانة للتأكد من عدم التلوث .

طريقة الزرع

1- تسخن الأنبوبة لدرجة 37 بوضعها في الحاضنة

2- تؤخذ كمية صغيرة من البراز أقل من 2|1 غ بواسطة لوب معدنى أو قضيب زجاجى ثم تمزج بالمنبت

3- تغطى الأنبوبة ثم توضع في الحاضنة على الدرجة 37 درجة مئوية لمدة يومان

4- تؤخذ عينة من قاع المزرعة وتفحص مجهرياً"

## زرع الأوليات النسيجية والدموية:

### منبت الليشمانية

يمكن استخدام المنبت التالي: N-N-N Novy,meanel&nicolle

مكوناته:

آجار - ملح طعام - دم أرنب منزوع الليفين .

طريقة تحضيره:

1- يمزج 14 غ آجار و 6 غ ملح طعام مع 900 سم 3 ماء مقطر ثم يسخن المزيج لدرجة الغليان .

2- يملأ عدد من أنابيب الاختبار بالمزيج كل انبوب حوالى 5 سم 3 ثم تعقم وتحفظ في البراد .

3- عند الاستعمال تسخن الأنابيب حتى يسيل الآجار ثم يبرد لدرجة 48 درجة مئوية يضاف بعد ذلك لكل أنبوبة كمية دم معقم تعادل 1/3 الكمية فى الأنبوبة وتمزج جيداً بالتحريك .

4- يعمل محلول slant ثم تغطى الأنابيب وتوضع فى الحضانة على درجة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها ثم تحفظ لحين الاستعمال .

### طريقة الزرع :

1- يطعم جزء صغير من المادة المشتبه فيها ماء التكثيف الذى يعلو المنحدر . slant.

٢-تترك الأنبوبة فى درجة حرارة الغرفة او الحضانة على درجة ٢٢-٢٤ درجة مئوية .

٣-يعاد الزرع كل اسبوع او اسبوعين .

الفصل الخامس

### فحوصات مختلفة

الكشف عن المشعرة الجنينية الثلاثية

1- عند الأبقار :

- تحضر لطخات مباشرة من الافرازات المهبلية أو المواد الصديدية الموجودة فى الرحم أو محتوى معدة الجنين ,أوالسائل المشيمي.
- (تؤخذ السوائل قبل يومين أو بعد يومين من الشبق أو الاجهاض )
- تفحص مجهريا" ويمكن تلوينها بصبغة جيمسا
- ب- عند الثيران :

-يتم الفحص عن المشعرات الجنينية بعد غسيل الغلطة على الشكل الآتي :

1- يتم اعطاء مهدئ للثور.

2- يقص الشعر حول الغلطة ثم تغسل المنطقة جيدا" بالماء الدافئ والصابون

3-يحقن محلول فيزيولوجي بواسطة قسطرة بلاستيكية مناسبة داخل تجويف الغلطة.

1- تغلف فتحة الغلطة باليد اليسرى لمنع خروج المحلول الفيزيولوجى ثم تدلك المنطقة باليد اليمنى من الخارج وذلك لاجراء غسيل داخلي للغلطة.

2- يفرغ المحلول في وعاء زجاجي مناسب .

3- يثفل المحلول لمدة (5)دقائق بسرعة دوران 1500-2000 دورة|دقيقة

4- يتم التخلص من السائل العائم ,وتفحص قطرات من الراسب مجهريا" لرؤية المشعرات.

الكشف عن المثقبية الجنسية الخيلية :

1- تؤخذ العينات من إفرازات المهبل أوالقضيب أوالسوائل المرتشحة من الفرج .

2-تمدد العينات بإضافة المحلول الفيزيولوجي بدرجة 37 درجة مئوية بنسبة (1:2).

3-تنقل نقطة منه على شريحة زجاجية وتغطى بساترة وتفحص مجهريا" للكشف عن المثقبيات الحية .

4-يمكن تحضير لطخات وتثبت وتصبغ بطريقة رومانوفسكي وتفحص تحت المجهر .



الكشف عن الليشمانية الجلدية :

طريقة العمل:

١-تحضر لخرة مباشرة من محيط الآفة على شريحة زجاجية تحتوى على نقطة محلول فيزيولوجي ثم تجفف وتثبت وتلونصبغة جيمسا.

٢-تفحص العينة بالعدسة الزيتية فتشاهد الليشمانية بشكل دائرى أو بيضاوى وتلون النواة باللون الأحمر والهيولى باللون الأزرق وتحتوي على مولد السوط.

**الكشف عن هامات الجرب**

طريقة العمل:

١-يقص الصوف حول البؤرة المصابة.

٢-توضع قطرة من ماءات البوتاسيوم ١٠% على شريحة نظيفة أوقطرة زيت معدنى أو غليسرين.

٣-تؤخذ العينة بعد تبليل المنطقة ويثبت الجلد بين السبابة الابهام وتكشط المنطقة بمشرط حتى ظهور تدمية بسيطة وتنقل القشور إلى الشريحة وتحرك مع ماءات البوتاسيوم بحركة دورانية.

٤-توضع الساترة بدون ضغط على الشريحة وتفحص بتكبير ٤٠× ثم ١٠٠

الكشف عن الكيسات المذنبة البقرية:

تبدو الكيسات المذنبة مجهرياً على شكل حويصلات بيضوية رقيقة الجدار وممتلئة بسائل وتحتوي على رأس مقلوب ويحوي أربعة محاجم فقط.

يتم الحصول على عدة كيسات مذنبية من عضلات الأبقار وتوضع فى طبق بتري يحتوى على محلول مؤلف من: محلول فيزيولوجى مع محلول الصفراء الطازج لحيوانات ثديية بنسبة (١:١) وتترك في المحم بدرجة حرارة (٣٠-١٤) درجة مئوية.

-إذا كانت اليرقات طازجة فخلال (١٠) دقائق تبدأ اليرقات بالاعتدال والخروج من الكيسة المذنبية او قديمة يتم اعتدالها بصورة متأخرة واذا لم يتم اعتدال الرأس مع الرقبة خلال ساعة فهذا يدل على أن الكيسة ميتة.

## الفصل السادس

### حفظ العينات الطفيلية

كيسات البيض :

- تضاف كمية مناسبة من الماء إلى العينة وتحرك جيدا".
- يصفى الخليط بواسطة مصفاة شريط .
- تثفل الرشاحة لمدة |5|دقائق على سرعة 2500 دورة على الدقيقة .
- يضاف ثاني كرومات البوتاسيوم 2% إلى الراسب في طبق بتري .
- تحفظ الأطباق في البراد.

الديدان المثقوبة والملقوات :  
تغسل العينة جيدا" بمحلول ملح فيزيولوجي 0,8-1% .  
تثبت بالفورمالين 3-5% أو بمحلول AFA (Alcohol+Formalin+Acetic acid) المسخنى  
لدرجة 60-70 درجة مئوية.

الديدان الشريطية :  
توضع القطع فى الماء وتترك فى البراد لمدة 4-12 ساعة وذلك لتلين الاشواك إذ من السهل  
تكسرها.  
تثبت العينات بالفورمالين 5-10% أو بمحلول . AFA

### التثبيت

- لحفظ الديدان الكبيرة: نستخدم فورمالين 5-10%
- لحفظ الحشرات: نستخدم ايتانول 70%
- (كحول ايتيلي نقي 7 أجزاء + ماء مقطر 3 أجزاء )
- مثبت عام وخاصة للديدان الاسطوانية: كحول غليسرين  
(كحول ايتيلي 70% 9 أجزاء + غليسرين جزء واحد )
- لحفظ الشريطيات: نستخدم حمض الخل الفورماليني الكحولي AFA  
(فورمالين 40% 2 جزء + ايتانول 95% 5 أجزاء + غليسرين 2 جزء + حمض الخل الثلجى  
جزء واحد + ماء مقطر 40 جزء )

### تحضير محضرات دائمة

- 1- تثبيت 2- غسيل 3- تحضير للصبغ 4- غسيل 5- صبغ 6- غسيل 7- نزع الصبغة 8-
- غسيل 9- نزع الماء 10- تصفية 11- اللصق.
- الصبغ بصبغة هيماتوكسيلين الحديدى لهايدين :
- 1- الغسيل بالماء الجارى من 4-5 ساعات .
- 2- 4% شبة الحديد 24 ساعة .
- 3- غسيل بالماء الجارى 4-24 ساعة.
- 4- غسيل بالماء المقطر ثلاث مرات 10-20 دقيقة.
- 5- صبغة مخففة 1|2, 1|3 24 ساعة.
- 6- غسيل بالماء الجارى طوال الليل .
- 7- شبة الحديد 2-3 % 3-24 ساعة حتى تصبح العينة السوداء بنية مصفرة .
- 8- غسيل بالماء الجارى

- 9- تمرير بالايثانول 70-80-85-90-95-99,5-100% لمدة 3-24 ساعة فى كل تركيز.  
 10- خليط من الايثانول مع كريبوزوت 1:1 لمدة 24 ساعة.  
 11- الكريبوزوت لمدة شهر  
 12- تعلق ببلسم كندا.

## الفصل السابع:

### الصبغات

جميع الصبغات العادية عبارة عن أملاح تتركب من شق حامضي وشق قلوي،  
 الصبغات الحامضية تصبغ عادة مكونات الخلية القاعدية (هيولى) بينما تصبغ الصبغات  
 القاعدية مكونات الخلية الحامضية (الأحماض النووية)، وعموماً "ليتم صبغ الخلية  
 بكاملها يجب استخدام نوعي (ليشمان، جيمزا، رايت)  
 - عند فحص عينة دم فيها طفيليات دموية تتلون هذه الطفيليات بألوان يسهل  
 تشخيصها فنواة الطفيلي تتلون باللون الأحمر بينما تتلون الهيولى باللون الأ  
 زرق، إضافة إلى تلون كريات الدم الحمراء والبيضاء وتصبح واضحة.

صبغة جيمزا

تتكون الصبغة من الايوزين وأزرق الميتيلين فى محلول من الكحول الميتيلي و  
 الغليسرين بالنسبة التالية :

5- بودرة جيمسا 3,8 غ

6- كحول ميتيلي 250 سم3

7- غليسرين 250 سم3 .

طريقة التحضير :

1- توضع الصبغة (بودرة جيمسا) على ورقة نظيفة وتنقل إلى قارورة جافة سعتها 500 سم3 .

2- نضيف 250 سم3 من الكحول الميتيلي إلى قارورة الصبغة.

3- نضيف 250 سم3 من الغليسرين إلى نفس القارورة التي وضعت فيها الصبغة والكحول.

4- توضع القارورة التي تحوى الصبغة فى حمام مائى بدرجة (50) درجة مئوية عدة ساعات  
 وترج القارورة من وقت لآخر، يمكن حفظ الصبغة لمدة سنتين إذا حفظت جيداً بعيداً عن  
 الرطوبة.

5- عند الاستعمال تؤخذ الكمية اللازمة فقط وتخفف للاستعمال اللازم لنفس اليوم.

صبغة هيماتوكسيلين الحديدي لهايدين هاين  
المحاليل الأساسية :

- صبغة الهيماتوكسيلين 1 غ
- كحول 100% 20 مل .
- ماء مقطر 180 مل

التحضير:

- تحل الصبغة في الكحول ثم يضاف الماء المقطر.
- يترك المحلول في مكان بارد لمدة شهر حتى ينضج.
- يصفى المحلول قبل الاستعمال.

طريقة الصبغ :

- تخفف الصبغة بالماء المقطر 2|3 جزء
- تنقل العينة من الماء مباشرة إلى الصبغة .
- تترك العينة في الصبغة ليلة كاملة.
- تستخدم شبة الحديد 2-4% للصبغة الأولية .

شبة كارمن ماير

المواد الأساسية :

1- كارمن 2 غ

2- شبة البوتاسيوم 5 غ

3- ماء مقطر 100 مل

- تمزج المواد السابقة وتسخن على نار خفيفة لمدة 30 دقيقة ثم تغلى لمدة 30 دقيقة ثم تضاف نفس الكمية من الماء المقطر التي تبخرت .

• يبرد ويصفى المحلول

• يضاف 1 غ من التايمور ليحمى المحلول من الفطور ثم يحفظ

طريقة الصنع

- يصفى المحلول ثم يضاف جزء منه مع جزء او جزئين من الماء المقطر قبل الاستعمال .
- يستعمل 3% حمض كلور الماء مع الايتانول 70% لأجل نزع الصبغة .

محلول لوغول

1- يود 1 غ

2- يودور البوتاسيوم 2 غ

3- ماء مقطر 100 مل

أولاً" يحل يودور البوتاسيوم فى الماء ثم يحل اليود فى المحلول ويحفظ فى زجاجات بنية بعيداً" عن الضوء .

نزع الصبغات :

تنزع الصبغة عند الحاجة بالكحول الحامضى تراقب العينة تحت المجهرحتى تصبح القشرة خالية من الصبغة تماماً" بينما تبقى الأحشاء الداخلية مصبوغة .

يجب تغيير المحلول إذا أصبح لونه وردياً" قبل أن يصل لون العينة إلى اللون المطلوب . إن عملية نزع الصبغة ستؤدي إلى تغيير لون العينة إلى اللون الأحمر.

الكحول الحامضى يتكون من :ايتانول 70 % 99 جزء +حمض كلور الماء المركز 1 جزء . يوقف نزع الصبغة بالغسيل الجيد فى الايتانول ٧٠% .



