TroCCAP

المجلس الاستوائي لطفيليات الحيوانات المصاحبة

إجراءات التشغيل الموحدة (إ.ت.م) لتشخيص الطفيليات الداخلية والخارجية للكلاب والقطط في المناطق الاستوائية.

الإصدار الأول، 10مايو-2023.

شرت لأول مرة من قبل TroCCAP © 2023 جميع الحقوق محفوظة. يتم توفير هذا المنشور بشرط أن تكون أي إعادة توزيع أو إعادة إنتاج لجزء أو كل المحتوى بأي شكل أو بأي وسيلة، إلكترونية أو ميكانيكية أو تصوير أو تسجيل أو غير ذلك بإذن كتابي مسبق من TroCCAP.

اخلاء المسؤوليه

تم تطوير المبادئ التوجيهية المقدمة في هذا الكتيب من قبل أعضاء المجلس الاستوائي للطفيليات الحيوانية المصاحبة المحدودة.

تستند هذه المبادئ التوجيهية لأفضل الممارسات إلى الأدبيات العلمية المنشورة القائمة على الأدلة والخاضعة لمراجعة الأقران. وقد بذل واضعو هذه المبادئ التوجيهية جهودا كبيرة لضمان أن تكون المعلومات التي تستند إليها دقيقة ومحدثة.

يجب مراعاة الظروف الفردية عند الاقتضاء عند اتباع التوصيات الواردة في هذه المبادئ التوجيهية.

مقدمي

يود المجلس الاستوائي للطفيليات الحيوانية المصاحبة المحدودة أن يعرب عن تقديره للتبرعات الكريمة من رعاتنا لتسهيل نشر هذه المبادئ التوجيهية المتاحة مجانا.

المحتويات

اعتبارات وتوصيات عامة..... 2

إجراءات التشغيل القياسية لتحليل البراز (إ. ت. ق) (SOP) 6

الإجراء التشغيلي الموحد 1: طفو البراز البسيط 7
الإجراء التشغيلي الموحد 2: تعويم البراز بالطرد المركزي 10

الإجراء التشغيلي الموحد 3: تقنية بيرمانBAERMANN 14

الإجراء التشغيلي الموحد 4: تقنية الترسيب البسيطة..... 16
الإجراء التشغيلي الموحد 5: صبغة سريعة الحمض لبويضات الكريبتوسبوريديوم..... 19

إجراءات التشغيل الموحدة لتحليل الدم..... 21

الإجراء التشغيلي الموحد 6: اختبار نوت KNOTT'S المعدل 21
الإجراء التشغيلي الموحد 7: طريقة الميكروهيماتوكريت للكشف عن الميكروفيلاريا..... 24
الإجراء التشغيلي الموحد 8: لطاخة الدم (بما في ذلك لطاخة الدم الشعرية بأطراف الأذن) 25

الإجراء التشغيلي الموحد 9: مسحة معطف بافي BUFFY COAT SMEAR 28

إجراءات التشغيل الموحدة لتحليل الجلد 30

الإجراء التشغيلي الموحد 10: طريقة الشريط اللاصق/شريط الأسيتات..... 30
الإجراء التشغيلي الموحد 11: طريقة الترايكوغرام / نتف الشعر..... 31
الإجراء التشغيلي الموحد 12: كشط الجلد للعث والشريط اللاصق 32
الإجراء التشغيلي الموحد 13: خزعة الجلد..... 33

إجراءات أخرى..... 34

الإجراء التشغيلي الموحد 14: فحص عث الأذن..... 34
الإجراء التشغيلي الموحد 15: داء الدويدية البثري DEMODICOSIS 35
الإجراء التشغيلي الموحد 16: ترسيب البول..... 36

المراجع 37

مراجع الطريقة ومقاطع الفيديو 39

اعتبارات وتوصيات عامة

التشخيص

- يجب اختبارالكلاب التي تعيش في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية بحثا عن طفيليات الجهاز الهضمي مرة واحدة على الأقل كل 3 أشهر لمراقبة فعالية أنظمة مكافحة الطفيليات وامتثال المالك.
- يجب اختبار القطط بحثا عن الطفيليات الداخلية بانتظام (مرتين في السنة) لمراقبة فعالية أنظمة التحكم وامتثال المالك.
- قد تحدث العلامات السريرية قبل تساقط مراحل الطفيليات في البراز، وفي هذه الحالة، يجب أن يوجه التاريخ والعلامات السريرية قرارات العلاج.
- يوصى بتعويم البراز القياسي أو المعدل لتشخيص معظم الطفيليات الداخلية للقطط، ولكن ليس كلها. في بعض الحالات، قد تكون طرق أخرى مثل ترسيب البراز أو طرق التشخيص الأكثر حساسية مناسبة لطفيليات معينة ويشار إليها في المبادئ التوجيهية للأنياب والقطط (https://www.troccap.com/canine-guidelines و https://www.troccap.com/feline-guidelines).
- يجب إجراء مسحات الدم من المشتبه في إصابتها بعدوى طفيلية دموية إما باستخدام الدم الشعري الطازج الذي تم جمعه عبر طرف الأذن أو هامش الشفة الخارجية (انظر الفيديو https://www.youtube.com/shorts/8KCQ1gqX9Hk) أو الدم الوريدي الطازج. بالنسبة لمسحات المعطف المنتفخ، يمكن استخدام الدم الوريدي الطازج أو الدم الذي تم جمعه في أنبوب EDTA. يجب إجراء مسحات الدم مباشرة بعد جمع الدم من أجل الحفاظ على مورفولوجيا الطفيليات بشكل أفضل، وأيضا لأن بعض ميكروبات الدم يمكن أن تترك خلايا الدم المضيفة (مثل الهيموبلازما).
- يمكن الكشف عن مسببات الأمراض المنقولة بالنواقل باستخدام طرق مختبرية محددة مختلفة، بعضها متاح كاختبارات تجارية داخل العيادة.
- في بعض الحالات، يجب إجراء طرق تكميلية (مثل تعداد الدم وتحليل البول والأشعة السينية وتخطيط صدى القلب) لتوجيه العلاج وإدارة المريض بشكل أفضل. في بعض الحالات، قد تكون أدوات التصوير مفيدة أيضا لتأكيد التشخيص. على سبيل المثال، قد يكشف تخطيط صدى القلب عن وجود ديدان قلبية في القلب الأيمن أو الشرايين وقد يشير التصوير المقطعي المحوسب إلى وجود *Onchocerca lupi* في الفضاء خلف البصل.
- عادة ما يمكن رؤية الإصابة بالطفيليات الخارجية الكبيرة نسبيا (مثل القراد والبراغيث والقمل) بشكل مجهري.
- يجب تشخيص الإصابة بالعث عن طريق الفحص المجهري لكشط الجلد (*Demodex* spp. و *Sarcoptes scabiei* و *Notoedres cati*) أو نتف الشعر أو الشريط اللاصق (*Lynxacarus radovskyi* و *Cheyletiella* spp.) أو فحص الأذن باستخدام منظار الأذن (على وجه التحديد ل *Otodectes cynotis*).
- لا توجد تقنية حساسة بنسبة 100٪، لذلك في بعض الحالات، يمكن أن تظل العدوى الطفيلية غير مكتشفة.

تقنية المجهر الأمثل لفحص الشريحة

- ابدأ بالمكثف بالقرب من مرحلة المجهر. أثناء المسح الضوئي، قم بخفضه حسب الحاجة لزيادة التباين.
- تحت هدف 4X، استخدم مقبض التركيز الخشن للحصول على رؤية واضحة.
- افحص بشكل منهجي أقل من10X و40X ضعفا (20X أو60X إذا كان ذلك متاحا) لضمان مسح الشريحة بالكامل. تأكد من ضبط التركيز البؤري الدقيق باستمرار أثناء المسح الضوئي لتحقيق عرض مركز.
- تأكد من استخدام غشاء القزحية لضبط شدة الإضاءة والتباين عند تبديل أهداف العدسة.
- يجب فحص بعض العينات (مثل مسحات الدم) تحت الغمر بالزيت لإجراء تقييم كامل (عدسة موضوعية 100X). فقط عند اكتمال مسح العينة عند القوى المنخفضة، يجب استخدام عدسة 100X. يتطلب ذلك وضع قطرة من الزيت على الشريحة / غطاء الانزلاق ثم التحرك في عدسة 100X. من المهم جدا تجنب تلويث العدسات الجافة الأخرى (40X ، 60X) بالزيت. إذا حدث هذا، يجب مسح العدسة الموضوعية الملوثة برفق بأنسجة العدسة وفي بعض الحالات يوصى بكمية صغيرة من المذيب. يجب عليك التحقق أولا من الشركة المصنعة للمجهر حول أفضل صياغة.

الطرق القائمة على البراز

- الأساليب القائمة على البراز هي "لقطة في الوقت المناسب". أي أن طرق تحليل البراز لا تمثل سوى نقطة زمنية معينة، وهي وقت جمع البراز. وبالتالي، قد يتم تفويت مسببات الأمراض التي يتم التخلص منها بشكل متقطع أو بأعداد منخفضة.

أيضا، يمكن أن يكون للكلاب والقطط مراحل غير ناضجة في وقت التحليل وتبدأ في إلقاء البيض في غضون أيام من نتيجة البراز السلبية.

- يؤدي التساقط المتقطع للبويضات / كيس البويضة / البيض / اليرقات أو غيابها في البراز، حتى في الحالات التي تظهر عليها الأعراض، إلى تعقيد التشخيص.
- قد يؤدي اختبار 3 إلى 5 عينات، تم جمعها في أيام بديلة (مفضلة) أو متتالية، إلى زيادة احتمال العثور على مراحل التشخيص في البراز.
- المواد الطازجة توفر أفضل النتائج. إذا تعذر فحص البراز في وقت جمعه، فيمكن حفظه في الثلاجة عند 3-5 درجات مئوية (غير مجمد!) لعدة أيام.
- يجب فحص البراز بالمنظار بحثا عن الدم والمخاط والبروجلوتيدات والديدان الخيطية قبل التحليل. يجب أيضا مراعاة الاتساق واللون (قد يكون مؤشرا على نزيف الجهاز الهضمي العلوي أو السفلي) في تفسير النتائج.

طرق تعويم البراز

- يتم تحديد حساسية طرق التعويم من خلال الثقل النوعي (S.G) لمحلول التعويم المستخدم واكتشاف البويضة / الكيس / البويضة. هناك حاجة إلى فرق كاف بين الاثنين حتى تطفو البويضات / كيس البويضة / البيض. انظر الجدول 1.
- يوصى باستخدام حلول التعويم مع SG بين 1.18 و1.28 لتشخيص معظم الطفيليات الداخلية للقطط. انظر الجدول 2.
- يمكن لبعض محاليل التعويم تشويه البويضات / كيس البويضة / البيض / اليرقات.
- تتطلب الحلول الأكثر لزوجة الطرد المركزي.
- يعتمد اختيار محلول التعويم على طريقة التعويم المستخدمة والطفيليات المستهدفة.
- يمكن أن يؤدي استخدام كميات موزونة من البراز والكميات المقاسة من محلول التعويم إلى تمكين التقييمات الكمية.
- يمكن تغيير استعادة مراحل الطفيليات إذا تم تجميد البراز قبل التحليل أو حفظه بالفورمالين (2٪ فورماليهايد)

الجدول 1. القدرة على تعويم بعض بيض الطفيليات على أساس متوسط الثقل النوعي S.G.

<u>تطفو بسهولة نسبية مع جميع حلول التعويم</u>
Cystoisospora spp. *(الكوكسيديا)*
Ancylostoma spp. و *Uncinaria sp.* (الديدان الخطافية)
توكسوكارا كانيس *Toxocara canis* (الدودة المستديرة أسكاريد)
توكسوكارا كاتي *Toxocara cati* (الدودة المستديرة - أسكاريد)
توكساسكاريس ليونينا *Toxascaris leonina* (الدودة المستديرة أسكاريد)
<u>تتطلب حل SG أعلى والطرد المركزي</u>
تريكوريس فولبيس *Trichuris vulpis* (الدودة السوطية)
بعض بيض الديدان الخيطية، على سبيل المثال *Opisthorchis* spp.، *كلونوركيس النيابة.*، *هابلورشيس النيابة.*، *بلاتينوسوموم س.* (الكبد وحظ الأمعاء الدقيقة للقطط) ملحوظة: السلبيات الكاذبة شائعة. يمكن أن يكون الترسيب أكثر حساسية
Taenia spp. ، *المشوكة* النيابة. ، ملحوظة: السلبيات الكاذبة الشائعة
Linguatula spp. (دودة اللسان)
<u>من الصعب أن تطفو إما الانهيار في الحلول أو ثقيل جدا</u>
Physaloptera spp. (دودة المعدة)؛ ينهار
Spirocerca lupi (دودة المريء)؛ ينهار
Dipylidium caninum (الدودة الشريطية الشائعة)؛ ملحوظة ثقيلة السلبيات الكاذبة الشائعة
بيض Trematode على سبيل المثال، *Paragonimus* spp. ، *Spirometra* spp. ، *Diphyllobothrium* spp. ، *Echinostoma* spp , *Alaria* spp. يمكن أن تدخل البويضة الثقيلة والسوائل إذا تم فتح ثقب في الغطاء

الجدول 2. حلول التعويم الشائعة والثقل النوعي S.G.

المحلول	S.G.	الصياغة
سكر شيذر (Sheather's sugar)	1.3-1.27	454 غرام سكر حبيبي مذاب في 355 مل من الماء الساخن و6 مل من الفورمالديهايد (37-40٪ فورمالديهايد) ملاحظة: يمكن استخدام 30 مل من 10٪ فورمالين بدلا من ذلك؛ تقليل 355 مل من الماء إلى 325 مل
ملح مشبع	1.2≈	350 إلى 400 جم كلوريد الصوديوم في 1 لتر من الماء
كبريتات المغنيسيوم	1.2≈	350 إلى 400 جم MgSO4 في 1 لتر من الماء؛ 700 غرام من MgSO4 إذا تم استخدام سباعي هيدرات
كبريتات الزنك	1.2 –1.18≈ (1.25)	330 إلى 390 جم ZnSO4 في 900 مل من الماء
نترات الصوديوم	≈ 1.18 – 1.2	315 إلى 400 جم في 700 مل من الماء

جميع الصيغ تقريبية. يجب استخدام مقياس كثافة السوائل للتأكد من أن حلول SG يجب أن تكون في درجة حرارة الغرفة لاختبار SG.
للحصول على مثال حول تحضير وقياس S.G. لمحلول التعويم، راجع ما يلي: https://youtu.be/Skx7JDUL6lE

تقنية بيرمان Baermann

- هذه الطريقة هي لجمع وتحديد يرقات الديدان الخيطية من البراز.
- تؤثر كمية البراز المستخدمة على حساسية هذه الطريقة مع براز أقل مما يؤدي إلى حساسية أقل عندما يكون عدد اليرقات الموجودة منخفضا.
- قد يؤدي تبريد البراز قبل بيرمان إلى تقليل تعافي اليرقات.
- يمكن أن تؤثر درجة حرارة الماء والغرفة التي يوضع فيها بيرمان على استعادة اليرقات. يجب أن تكون درجات الحرارة مماثلة لتلك التي ستواجهها اليرقات في البيئة.
- يجب أن يكون الماء المستخدم في جهاز بيرمان دافئا (على سبيل المثال، 42 درجة مئوية أو إلى درجة حرارة لا تزال مقبولة للجلد).
- يفضل استخدام قماش الجبن على الشاش ويجب استخدام الحد الأدنى من الطبقات لمنع وقوع اليرقات.

تقنية الترسيب

- في حين أن الترسيب يستخدم بشكل متكرر للبيض الثقيل الكبير، مثل تلك الموجودة في المثقبة وحزم بيض *Dipylidium* ، فإن جميع مراحل التشخيص ستغرق في الماء.
- التحدي مع الترسيب هو القدرة على رؤية الأجسام الصغيرة. ومن ثم فهذه ليست الطريقة المفضلة للعديد من مراحل التشخيص في البراز. ضع في اعتبارك استخدام التعويم بالطرد المركزي بمحلول مع S.G. >1.25 أو تصفية عينة البراز المتجانسة من خلال مرشح 0.1 مم قبل الترسيب.
- تؤثر كمية البراز المستخدمة والرواسب التي تم فحصها على حساسية الترسيب.
- تستخدم هذه الطريقة أيضا لجمع وتحديد اليرقات من البراز.

تقنيات الكشف عن الطفيليات الدموية

- تشمل الطفيليات الدموية الميكروفيلاريا من الديدان الخيطية ومراحل مختلفة من *البروتوزوا* ، وكثير منها ينتقل عن طريق النواقل. هناك أيضا بعض البكتيريا الهامة المنقولة بالنواقل مثل *إيرليخيا* والهيموبلازما.
- بشكل عام، الطرق التي تستخدم شكلا من أشكال تركيز الدم (على سبيل المثال، اختبار نوت المعدل للميكروفيلاريا، مسحة معطف بافي لمسببات الأمراض داخل الكريات البيض) وتلطيخ أكثر حساسية من اللطاخات المباشرة.
- بالإضافة إلى فحص الدم بحثا عن الكائنات الحية، يمكن للمجموعات التجارية والمختبرات المرجعية تحديد وجود الأجسام المضادة أو المستضدات أو الحمض النووي للطفيليات المختلفة. يجب تفسير نتائج الأجسام المضادة بفهم دورة الحياة، حيث

يمكن أن تشير إلى التعرض للطفيلي وليس وجوده. يمكن الاحتفاظ بالأجسام المضادة لمسببات الأمراض لمدة تصل إلى عام بعد العلاج. راجع إرشادات / القطط للحصول على معلومات حول استخدامها للتشخيص.

تقنيات تشخيص الطفيليات الخارجية

- عند تحديد موقع الفحص وجمع العينات (نتف الشعر، الشريط اللاصق)، ينبغي النظر في موقع ميل الطفيلي.
- في والقطط ذات المعاطف أو المعاطف الطويلة، من المهم فراق الشعر للعثور على الطفيليات على أطراف الأذن والجلد.

إجراءات التشغيل القياسية لتحليل البراز (إ. ت. ق) (SOP)

جمع البراز وتخزينه

يبدأ التحليل الجيد للبراز بطريقة جمع البراز. يجب جمع البراز مباشرة بعد التغوط (من الأرض أو صندوق الفضلات)، وتخزينه بين 3 و5 درجات مئوية قبل التحليل (ما لم يتم إجراء اختبار بيرمان) وتحليله في غضون 5 أيام من جمعه. يساعد الجمع مباشرة بعد التغوط على ضمان خلو / القط المصدر ويقلل من فرصة التلوث بالديدان الخيطية في التربة. جمع المستقيم ممكن، لكن الكمية الأكبر التي يتم الحصول عليها عادة من البراز المفرغ يمكن أن تزيد من عدد الاختبارات الممكنة وتضمن كمية كافية للتعويم و / أو الترسيب و / أو بيرمان.

يجب وضع البراز في حاوية نظيفة، موسومة بهوية وتاريخ جمعه.

يجب أن يطلب من العملاء إحضار البراز الذي تم جمعه في أقرب وقت ممكن إلى العيادة لتحليله. بعد التجميع وأثناء النقل إلى العيادة، يجب حفظ البراز في بيئة باردة. بمجرد الوصول إلى العيادة، سيؤدي التبريد حتى التحليل إلى إبطاء تطور الطفيليات مما يجعل التعرف عليها أسهل.

في حين أن العديد من الطفيليات ليست معدية في المواد البرازية الطازجة، في المواقع الجغرافية مع *المشوكة* النيابة.، يجب اتخاذ احتياطات إضافية أثناء الجمع والتحليل.

عدد الدورات في الدقيقة (RPM) مقابل قوة الجاذبية

بالنسبة للعديد من أجهزة الطرد المركزي، يتوفر جدول لتحديد قوة الجاذبية (أو قوة الطرد المركزي النسبية) التي تم تحقيقها بناء على عدد الدورات في الدقيقة (الدورات في الدقيقة). ومع ذلك، إذا لم يكن هذا متاحا، فيمكن حسابه على النحو التالي:

$$\text{قوة } g = 1.12 \times \text{نصف قطر الدوار بالملليمتر} \times (\text{دورة في الدقيقة} / 1000)^2$$

يمكن أيضا استخدام الآلات الحاسبة عبر الإنترنت (على سبيل المثال، http://insilico.ehu.es/mini_tools/rcf_rpm.php).

الثقل النوعي S.G

S.G. هو الوزن لكل وحدة حجم مقارنة بالماء ويمكن تحديده من خلال وزن المحلول أو عبر مقياس كثافة السوائل. يجب استخدام أجهزة قياس السوائل في درجة حرارة الغرفة.

في حالة استخدام الوزن، فإن المحلول الذي يبلغ وزنه 1 لتر ويزن 1.2 كجم يحتوي على S.G. 1.2.

في حالة استخدام مقياس كثافة السوائل، تأكد من أن النطاق مناسب للمحلول. نطاقات مقياس السوائل النموذجية هي >1.0 إلى 1.22 و1.2 إلى 1.4.

للحصول على مثال حول تحضير وقياس S.G. لمحلول التعويم، راجع ما يلي: https://youtu.be/Skx7JDUL6lE

الإجراء التشغيلي الموحد 1: طفو البراز البسيط

التعويم البرازي البسيط مناسب لاستعادة وتحديد معظم بيض الديدان الخيطية وبعض بيض الدودة الشريطية ودودة اللسان (*Linguatula serrata*) والخراجات الأولية والبويضات في براز والقطط. هذه الطريقة سريعة وغير مكلفة ولا تتطلب استخدام أجهزة الطرد المركزي. ومع ذلك، فإنه لا يشمل خطوة تركيز ولا يمكن استخدام محاليل التعويم اللزجة ذات S.G. عالية، مما يقلل من الحساسية عندما يكون هناك عدد قليل من البيض / الخراجات في البراز وبالنسبة لبعض الطفيليات التي تحتوي على بيض SG أعلى قليلا (على سبيل المثال، *Trichuris*).

الكواشف / المواد

- محلول التعويم (مثل الملح المشبع أو نترات الصوديوم)
- الانزلاق والغطاء
- كوب واسع الفم (على سبيل المثال، كوب جمع البول القابل لإعادة الاستخدام / القابل للغسل أو كوب بلاستيكي / ورقي يمكن التخلص منه)
- 10 إلى 15 مل أنبوب اختبار يمكن التخلص منه أو 10 إلى 15 مل جرة زجاجية ضيقة الفم قابلة لإعادة الاستخدام
- مصفاة شاي أو شاش أو قطعة قماش جبن
- عصا التحريك (على سبيل المثال، خافض اللسان)

تحضير محاليل التعويم ل S.G. 1.20

- **نترات الصوديوم:**

قم بإذابة 315 إلى 400 جم من نترات الصوديوم في حوالي 700 مل من الماء المقطر الدافئ (dH2O). أضف المزيد من dH2O حتى يزن المحلول بأكمله 1200 جم (وهذا يعادل S.G. 1.20). امزج المحلول ثم تحقق من SG باستخدام مقياس كثافة السوائل.

- **ملح مشبع**

يذوب ملح الطعام (كلوريد الصوديوم، ~ 300 إلى 400 جم) في 1000 مل يسخن dH2O مع التحريك المستمر. أضف الملح حتى لا يذوب أكثر (أي يبقى الملح مترسبا من المحلول بمجرد تبريده). تحقق S.G. مع مقياس كثافة السوائل.

إجراء

1. باستخدام عصا التقليب، ضع ~ 2 جم براز في كوب واسع الفم (كوب بلاستيكي يمكن التخلص منه / كوب قابل لإعادة الاستخدام قابل للغسل (على سبيل المثال، كوب بول) / جرة بول معقمة)
2. أضف ~ 4 مل من محلول التعويم إلى الكوب واخلطه مع البراز جيدا باستخدام عصا التحريك
3. أضف محلول تعويم آخر ~ 4 مل إلى الكوب واخلطه مرة أخرى
4. صب / تصفية هذا المعلق البراز من خلال مصفاة الشاي / الشاش / قطعة قماش الجبن في كوب جديد
5. أفرغ محتويات الكوب في أنبوب اختبار سعة 10 إلى 15 مل مدعوم في رف أو حامل أو في وعاء زجاجي ضيق سعة 10 إلى 15 مل
6. استمر في إضافة المحتويات أو قم بتعبئتها بمحلول التعويم حتى تتشكل هلالة إيجابية على شفة أنبوب / جرة الاختبار. يمكن سكب آخر مل من محلول التعويم بقطارة لضمان تشكيل الغضروف المفصلي بعناية
7. ضع غطاء بلاستيكي (حوالي 22 × 22 مم) بعناية أعلى أنبوب الاختبار
8. الوقوف لمدة 10 إلى 15 دقيقة
9. ارفع الغطاء بعناية من الأنبوب، مع التصاق قطرة السائل بأسفله، وضعه على شريحة مجهرية
10. افحص تحت المجهر الضوئي عند طاقة منخفضة (هدف 10X؛ تكبير 100X) لمراحل الديدان الطفيلية وعند الطاقة العالية (هدف 40X؛ تكبير 400X) للمراحل الأولية.

للحصول على دليل بديل خطوة بخطوة مع صور مفيدة لهذا الإجراء، ارجع إلى:
http://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Flotation/Simple_flotation/Purpose.htm

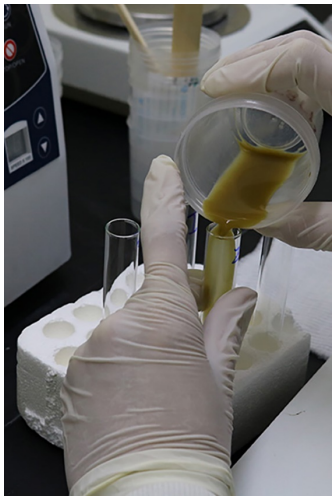
احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

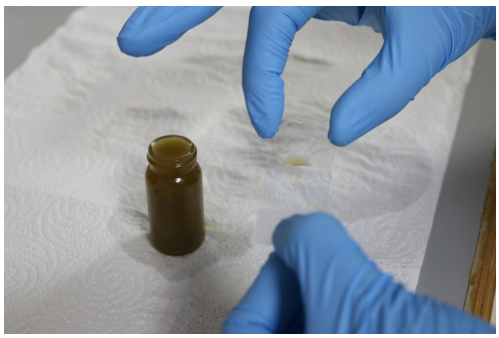
صب نترات الصوديوم في حاوية النفايات الكيميائية المناسبة.
تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم وأنابيب الاختبار التي تستخدم لمرة واحدة في حاوية الأدوات الحادة
نظف جميع المعدات (مصفاة الشاي، الأكواب القابلة لإعادة الاستخدام) جيدا بمحلول تبييض بنسبة 10٪
امسح منطقة العمل بنسبة 70٪ من الإيثانول

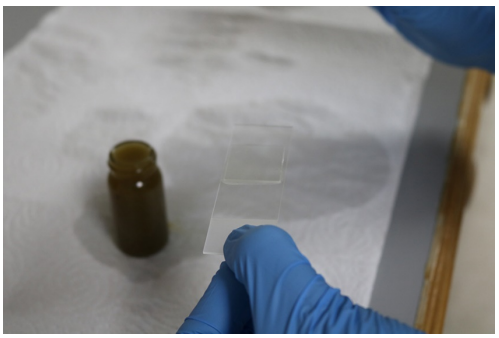
ضع حوالي 2 غرام من البراز في كوب واسع الفم. أضف حوالي 4 مل من محلول التعويم. تخلط جيدا. أضف ما يقرب من 4 مل من محلول التعويم واخلطه.



صفي المحلول من خلال الشاش أو قطعة قماش الجبن أو مصفاة الشاي في كوب نظيف.

صب المحلول المصفى في أنبوب اختبار أو وعاء زجاجي ضيق الفم سعة 10 إلى 15 مل. أضف محلول تعويم إضافي حتى يتشكل الغضروف المفصلي الإيجابي. ضع غطاء على البرطمان.





بعد 10 إلى 15 دقيقة، قم بإزالة غطاء الغطاء وضعه على شريحة.

الإجراء التشغيلي الموحد 2: تعويم البراز بالطرد المركزي

يعتبر إجراء تعويم كبريتات الزنك [S.G. 1.18] بالطرد المركزي مناسبا لعزل وتحديد الخراجات الأولية والبويضات في البراز، وخاصة أكياس *الجيارديا الاثني عشر*. يعتبر تعويم سكر الغمد [S.G. 1.27] بالطرد المركزي أكثر حساسية لعزل بيض الديدان الخيطية الأثقل مثل بيض *Trichuris vulpis* و *Spirocerca lupi* و *Platynosomum trematode*. التعويم بالطرد المركزي غير مكلف. ومع ذلك، فإنه يتطلب استخدام جهاز طرد مركزي.

الكواشف / المواد

- محلول التعويم (على سبيل المثال، محلول كبريتات الزنك أو محلول سكر شيذر)
- اليود لوغول
- الانزلاق والغطاء
- كوب أو برطمان واسع الفم (على سبيل المثال، كوب جمع البول القابل لإعادة الاستخدام / القابل للغسل أو كوب بلاستيكي / ورقي يمكن التخلص منه)
- 10 إلى 15 مل أنبوب اختبار يمكن التخلص منه أو قابل لإعادة الاستخدام
- مصفاة شاي أو شاش أو قطعة قماش جبن
- عصا التحريك (على سبيل المثال، خافض اللسان)
- أجهزة الطرد المركزي لأنابيب 10-15 مل؛ يفضل استخدام دلو كامل التأرجح

تحضير محاليل التعويم

- **محلول كبريتات الزنك (S.G. 1.18)**

قم بإذابة 331 جم من كبريتات الزنك في 900 مل من الماء المقطر الدافئ (dH2O). أضف المزيد من dH2O حتى يزن المحلول بأكمله 1180 جم (وهذا يعادل S.G. 1.18). امزج المحلول ثم تحقق من SG باستخدام مقياس كثافة السوائل. ملاحظة: إذا تم استخدام سباعي هيدرات كبريتات الزنك، فستكون هناك حاجة إلى كميات إضافية (على سبيل المثال، حوالي 750 جم)

- **سكر شيذر (S.G. 1.27)**

إلى 355 مل من الماء الساخن، أضف (مع التحريك) 454 جم سكر. أضف 6 مل 10٪ فورمالين (10 مل 40٪ فورمالديهايد في 90 مل ماء مقطر) لكل 454 جم سكر لتجنب التلوث الفطري. اضبط للتأكد من أن S.G. هو 1.27 باستخدام مقياس كثافة السوائل

إجراء

1. باستخدام عصا التقليب، ضع ~ 2 جم براز في كوب / برطمان واسع الفم
2. أضف محلول تعويم ~ 4 مل إلى الكوب / البرطمان واخلطه مع البراز جيدا باستخدام عصا التحريك
3. أضف محلول تعويم إضافي سعة 4 مل إلى الكوب / البرطمان واخلطه مرة أخرى
4. صب / تصفية هذا المعلق البراز من خلال مصفاة الشاي أو الشاش أو القماش القطني في كوب / جرة جديدة
5. أفرغ محتويات الكوب / البرطمان في أنبوب اختبار سعة 10 إلى 15 مل مدعوم في رف أو حامل
6. جهاز طرد مركزي عند 500 *جرام* لمدة 5 دقائق
7. أضف المزيد من محلول التعويم بعناية حتى يتشكل الغضروف المفصلي الإيجابي في الجزء العلوي من أنبوب الاختبار وضع غطاء (حوالي 22 × 22 مم) في الأعلى
8. قف لمدة 5 إلى 10 دقائق أخرى.
9. ارفع الغطاء بعناية من الأنبوب مع قطرة السائل الملتصقة بأسفله وضعه على شريحة مجهرية. إن إضافة قطرة من يود Lugol إلى الشريحة قبل وضع الغطاء عليها يمكن أن يجعل رؤية أكياس *الجيارديا* أسهل
10. افحص تحت المجهر الضوئي عند طاقة منخفضة (هدف 10X ؛ تكبير 100X) لمراحل الديدان الطفيلية وعند طاقة عالية (هدف 40X ؛ تكبير 400X) للمراحل الأولية

الإجراء مع أجهزة الطرد المركزي على قدم وساق

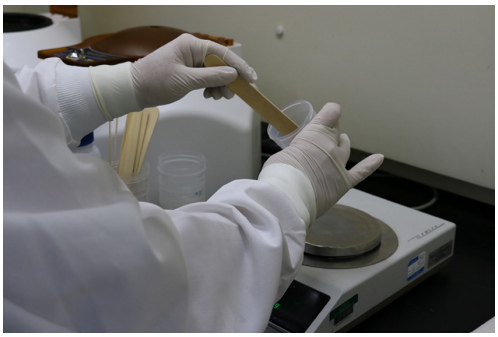
1. اتبع الخطوات من 1 إلى 5 أعلاه
2. أضف المزيد من محلول التعويم بعناية حتى يتشكل الغضروف المفصلي الإيجابي في الجزء العلوي من أنبوب الاختبار وضع غطاء (حوالي 22 × 22 مم) في الأعلى
3. جهاز طرد مركزي عند 500 *جرام* لمدة 10 دقائق
4. اتبع الخطوتين 9 و10 أعلاه

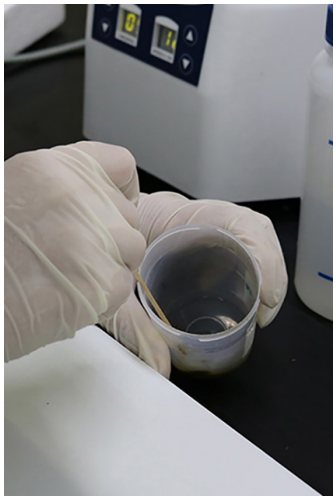
احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

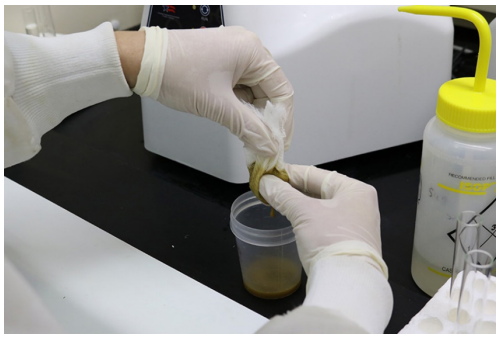
إجراءات التنظيف

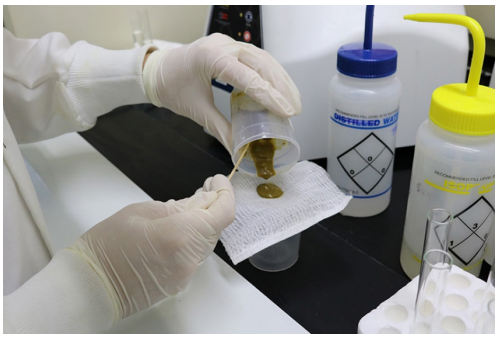
صب كبريتات الزنك في حاوية النفايات الكيميائية المناسبة
تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم في حاوية الأدوات الحادة
نظف جميع المعدات (مصفاة الشاي وأنابيب الاختبار الزجاجية) جيدا بمحلول مبيض بنسبة 10٪
امسح منطقة العمل بنسبة 70٪ إيثانول.

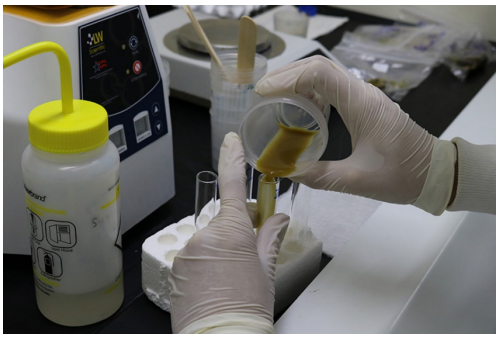




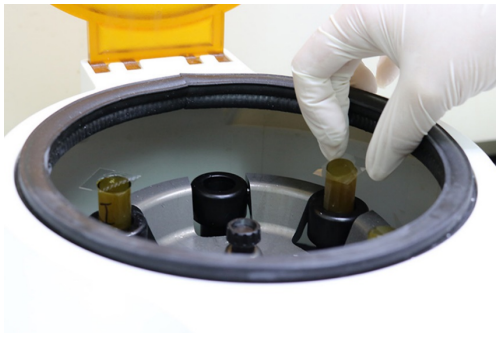
تزن حوالي 2 غرام من البراز في كوب نظيف. امزج البراز مع محلول التعويم.







صب المحلول من خلال القماش القطني / الشاش / مصفاة الشاي؛ اضغط برفق لجمع الحل. صب الحل في أنبوب الاختبار.



ضع الأنبوب في جهاز الطرد المركزي وقم بتدويره لمدة 5 دقائق عند 500 جم.

مع جهاز طرد مركزي دلو كامل التأرجح ، يمكن تدوير الأنابيب مع غطاء الغطاء. بالنسبة لجميع أجهزة الطرد المركزي الأخرى ، بعد ملء الطرد المركزي بمحلول التعويم حتى يكون هناك هلالة إيجابية ثم وضعها على غطاء الغطاء ؛ اتركيه لمدة 5-10 دقائق.

قم بإزالة غطاء الغطاء وضعه على شريحة. افحص عند تكبير 100X.

الإجراء التشغيلي الموحد 3: تقنية بيرمان Baermann

تقنية بيرمان مناسبة لعزل وتحديد يرقات الديدان الخيطية (مثل *Strongyloides stercoralis* والديدان الرئوية) في البراز الحديث.

الكواشف / المواد

- الماء المقطر (dH2O)
- قمع بلاستيكي أو زجاجي، أنبوب مطاطي ومشبك أو أنبوب طرد مركزي سعة 50 مل
- مصفاة الشاي والشاش أو قطعة قماش الجبن
- عود أسنان أو شريط مطاطي أو خيط

إعداد المعدات

تأمين قمع إلى موقف؛ قم بتوصيل أنبوب مطاطي بمشبك بجذع القمع.

إجراء

1. ضع 3 إلى 5 غرام من البراز في وسط مربع كبير من قطعة قماش الجبن / الشاش وربطة عنق بشريط مطاطي أو خيط أو عود أسنان لتشكيل كيس
2. ضع الكيس داخل مصفاة شاي وعلقه في القمع. في حالة استخدام أنبوب طرد مركزي سعة 50 مل، قم بتعليق الحقيبة مباشرة في الأنبوب بدون مصفاة شاي
3. أضف dH2O الدافئ إلى القمع حتى يغطي الماء الجزء العلوي من كيس البراز أو أضف الماء إلى أنبوب سعة 50 مل حتى يتم تغطية البراز
4. اتركيه واقفا لمدة 12 إلى 24 ساعة أو طوال الليل ليرقات دودة الرئة أو 6 ساعات ل *Strongyloides stercoralis*
5. في حالة استخدام قمع، افتح السدادة على الأنبوب المطاطي واجمع 2 مل من الرواسب المفلترة في أنبوب اختبار. إذا كنت تستخدم أنبوب طرد مركزي سعة 50 مل، فانتقل إلى الخطوة 7
6. اترك أنبوب الاختبار واقفا لمدة 30 دقيقة أو جهاز طرد مركزي عند 500 إلى 1000 جم لمدة 2 دقيقة
7. قم بإزالة المادة الطافية بعناية باستخدام ماصة، تاركا ~ 0.5 مل من الرواسب دون عائق
8. خذ 1-2 قطرات من الرواسب وضعها على شريحة مجهر مع زلة غطاء. كرر حسب الحاجة
9. الفحص تحت المجهر الضوئي عند طاقة منخفضة (هدف 10X؛ تكبير 100X) للكشف عن اليرقات وعند طاقة عالية (هدف 40X؛ تكبير 400X) لتأكيد وجود بدائية تناسلية ومريء وشكل ذيل

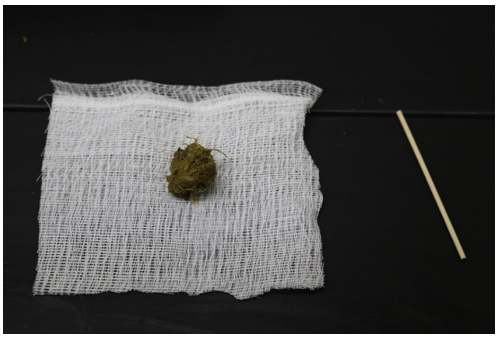
احتياطات السلامة

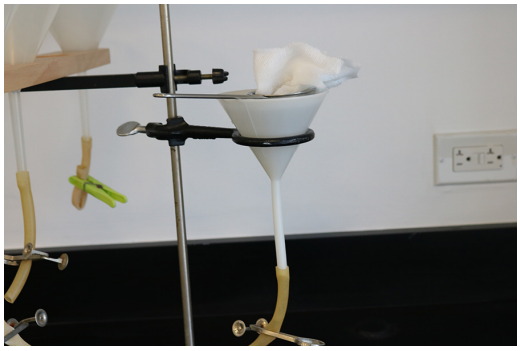
ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم في حاوية الأدوات الحادة
نظف جميع المعدات (مصفاة الشاي، القمع، أنابيب اختبار الزجاج) جيدا بمحلول مبيض بنسبة 10٪
امسح منطقة العمل بنسبة 70٪ من الإيثانول

طريقة جهاز بيرمان (قمع مع أنابيب ومشبك)



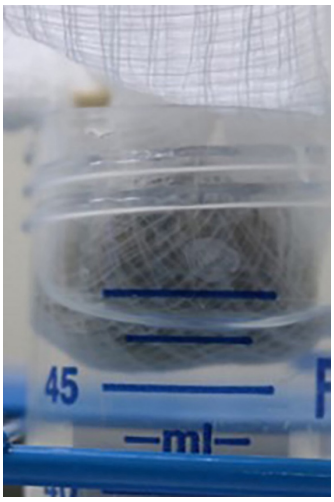


تزن 3 إلى 5 جم من البراز وتوضع على القماش القطني / الشاش. ضعه في مصفاة الشاي ثم في القمع. املأ بالماء. بعد الجلوس طوال الليل، افتح المشبك واجمع 2 مل من الرواسب.

طريقة أنبوب الطرد المركزي (50 مل).

الخطوة 1.

الخطوة 2.



الخطوة 3.

الخطوة 1: ضع البراز في وسط الشاش / القماش القطني.

الخطوة 2: تعليق في أنبوب 50 مل بالماء الدافئ؛ أضف الماء حتى يتم تغطية مادة البراز. هناك حاجة إلى المزيد من المياه.

الخطوة 3: بعد الجلوس لمدة 6-24 ساعة (حسب الطفيلي) ، قم بإزالة الرواسب لتحليلها.

الإجراء التشغيلي الموحد 4: تقنية الترسيب البسيطة

تقنية الترسيب البرازي مناسبة لعزل وتحديد البيض الأثقل، وخاصة تلك الموجودة في flukes (مثل *Alaria* spp. ، Paragonimus spp. ، إلخ) وبعض الديدان الشريطية (مثل *Diphyllobothrium latum* ، Spirometra spp.). هذه الطريقة سريعة وغير مكلفة ولا تتطلب استخدام أجهزة الطرد المركزي.

الكواشف / المواد

- الماء المقطر (dH2O)
- 5 ٪ محلول أزرق الميثيلين المائي
- مصفاة الشاي أو غربال (فتحة 0.1 مم تقريبا)
- كوب بلاستيكي / جرة
- أنبوب مخروطي سعة 50 مل

إجراء

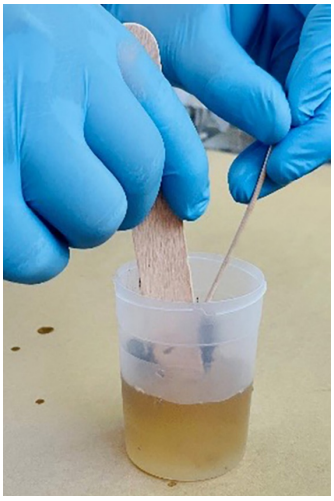
1. نقع 5 غرام براز في 50 مل dH20 وتخلط جيدا
2. مرر عبر مصفاة الشاي / الشاش / الغربال في وعاء بلاستيكي للتصفية. يجب ألا تقل الفتحة عن 150 ميكرومتر.
3. صب جميع المحتويات في أنبوب اختبار مخروطي (50 مل)
4. اترك الرواسب لمدة 5 دقائق أو بدلا من ذلك طرد مركزي الأنبوب عند 650 جم لمدة 10 دقائق
5. صب قبالة طاف
6. يضاف الماء ويخلط ويترك للرواسب لمدة 5 دقائق
7. اسكب الطافية بعناية
8. يمكن إضافة 1 إلى 2 قطرات من محلول الميثيلين الأزرق المائي 5٪ في أنبوب الاختبار للمساعدة في التعرف (بيض حظ أصفر أو عديم اللون على خلفية زرقاء)
9. انقل 1 إلى 2 قطرة من الرواسب إلى شريحة مجهرية، ضع زلة غطاء وافحصها باستخدام مجهر ضوئي عند طاقة منخفضة (هدف 4X (تكبير 40X) وهدف 10X (تكبير 100X))

احتياطات السلامة

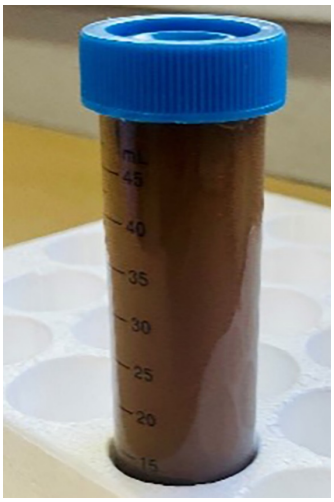
ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

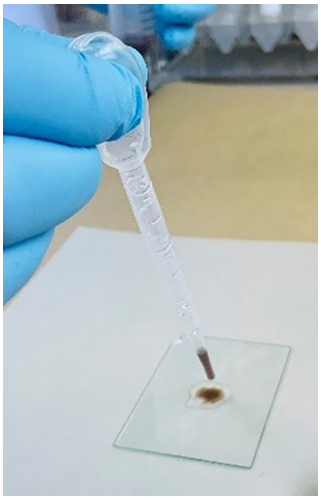
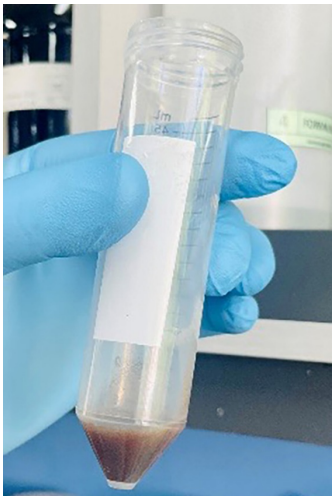
تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم في حاوية الأدوات الحادة
نظف جميع المعدات (مصفاة الشاي وأنابيب الاختبار الزجاجية) جيدا بمحلول مبيض بنسبة 10٪
امسح منطقة العمل بنسبة 70٪ إيثانول.

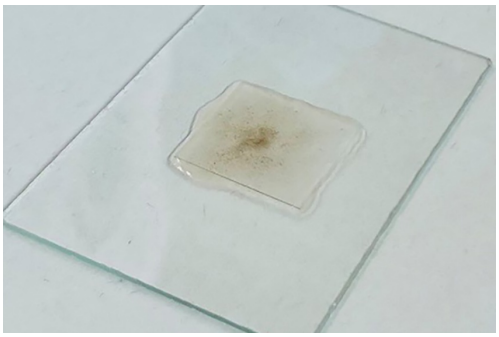


نقع 5 غرام البراز في 50 مل dH20 وتخلط جيدا.



مرر خليط البراز / الماء من خلال مصفاة الشاي / الشاش / الغربال في وعاء بلاستيكي للتصفية. صب جميع المحتويات في أنبوب اختبار مخروطي (50 مل). اتركيه للرواسب لمدة 5 دقائق.
ليس في الصورة: أضف الماء إلى الأنبوب، واخلطه، واتركه للرواسب لمدة 5 دقائق واسكب المادة الطافية بعناية.



نقل 1 إلى 2 قطرات من الرواسب إلى شريحة المجهر، ووضع زلة غطاء وفحص باستخدام المجهر الضوئي في طاقة منخفضة.

الإجراء التشغيلي الموحد 5: صبغة سريعة الحمض لبويضات الكريبتوسبوريديوم

نظرا لأن بويضات الكريبتوسبوريديوم *Cryptosporidium* spp. صغيرة جدا ويصعب اكتشافها من قبل الفاحصين عديمي الخبرة، فإن هذه الطريقة توفر تلطيخا محددا وتسمح باكتشاف أسهل.

الكواشف

- الميثانول المطلق
- كينيون كاربول فوشين
- 10٪ محلول حامض الكبريتيك (H2SO4)
- 3٪ أخضر ملكيت

إجراء

1. اصنعي مسحة برازية رقيقة واتركيها تجف في الهواء
2. ثبت بالميثانول المطلق لمدة 10 دقائق واتركي اللطاخة تجف
3. بقعة مع صبغة كاربول فوشين القوية من Kinyoun الباردة (مصفاة) لمدة 5 دقائق
4. اغسل جيدا في ماء الصنبور حتى لا تظهر بقعة أخرى (خطوة مهمة جدا يمكن أن تستغرق من 3 إلى 5 دقائق)
5. إزالة اللون في 10٪ H2SO4 (بالنسبة للمسحات الرقيقة جدا، يكفي الغمس السريع في وعاء كوبلين من الحمض متبوعا بشطف فوري في ماء الصنبور)
6. كونترستين مع 3٪ أخضر الملكيت لمدة 2 إلى 5 دقائق
7. يغسل في ماء الصنبور ويجفف
8. افحص تحت المجهر الضوئي بقوة عالية (هدف 40X؛ تكبير 400X) بحثا عن البويضات

النتائج

ينظر إلى البويضات على أنها أجسام بيضاوية سريعة الحمض (وردية زاهية) إلى أجسام مستديرة (قطرها من 4 إلى 6ميكرومتر)، محاطة بهالة عديمة اللون. البكتيريا والخمائر وصمة عار الأخضر.

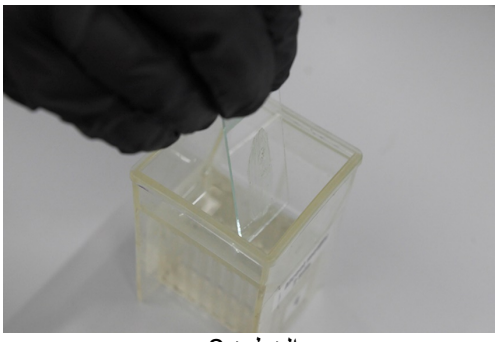
احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

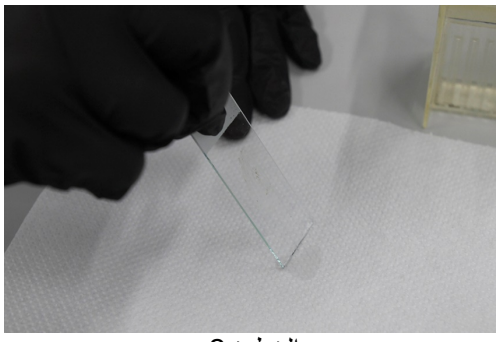
إجراءات التنظيف

تخلص من جميع المعدات التي تستخدم لمرة واحدة في صندوق النفايات السريرية أو حاوية الأدوات الحادة حسب الاقتضاء

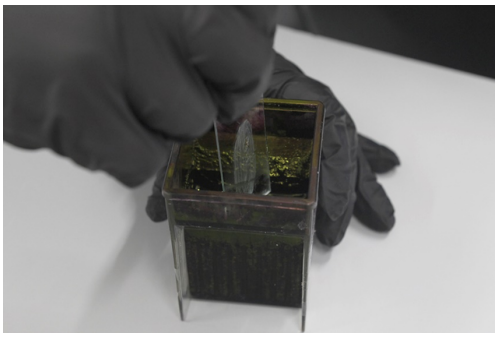
الخطوة 1.



الخطوة 2.

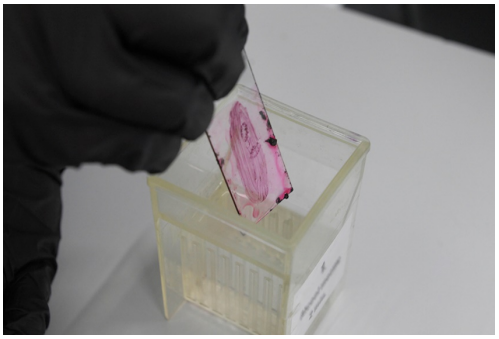


الخطوة 2.

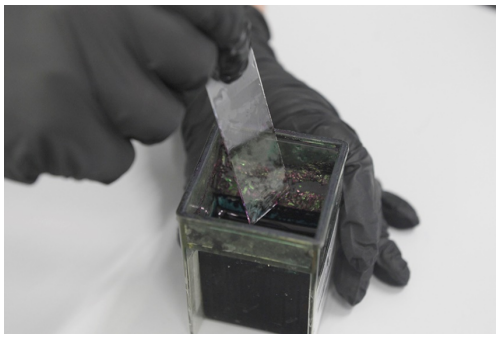


الخطوة 3.

الخطوة 4.



الخطوة 5.



الخطوة 6.

الخطوة 7.

الإجراء التشغيلي الموحد 6: اختبار نوت المعدل Knott's

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن الميكروفيلاريا في الدم. هذه الطريقة أكثر حساسية من اللطاخة المباشرة بالدم الطازج لأنها تركز الميكروفيلاريا من كمية كبيرة من الدم. بالإضافة إلى الاختبارات المصلية، تسمح هذه الطريقة أيضا باكتشاف وتحديد الميكروفيلاريا من الأنواع الأخرى غير *D. immitis* (أي *Brugia* spp . ، Acanthocheilonema *spp* ، *D. repens*). يجب جمع عينات الدم في المساء لزيادة الحساسية في الكشف عن *Dirofilaria* spp. microfilaria.

الكواشف / المواد

- 2٪ فورمالين (2 مل من 40٪ فورمالديهايد في 98 مل من الماء المقطر)
- 1٪ أزرق الميثيلين
- أنبوب طرد مركزي مخروطي
- الانزلاق والغطاء
- ماصه

إجراء

1. امزج 1 مل من الدم غير المتخثر (في الهيبارين أو EDTA) مع 9 مل من الفورمالين 2٪ في أنبوب طرد مركزي مخروطي
2. اقلب الأنبوب برفق 4 مرات لخلط المحلول
3. جهاز طرد مركزي عند 500 جرام لمدة 5 دقائق
4. تجاهل طاف
5. تلطيخ الرواسب لمدة 1 إلى 2 دقيقة مع 1 إلى 2 قطرات من 1٪ أزرق الميثيلين
6. أضف قطرة من العينة على شريحة زجاجية وقم بتغطيتها بغطاء غطاء. كرر هذه الخطوة بحيث يتم إعداد 2 أو أكثر من الشرائح ؛ هذا يزيد من الحساسية
7. ملاحظة: يمكن تكرار الخطوات من 1 إلى 6 لزيادة الحساسية
8. افحص الشرائح تحت المجهر الضوئي عند طاقة منخفضة (هدف 10X ؛ تكبير 100X) بحثا عن الميكروفيلاريا. قد تكون هناك حاجة إلى تكبير أعلى لتحديد مورفولوجي محدد للميكروفيلاريا

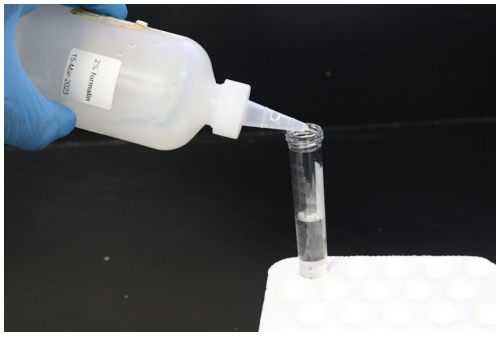
ملاحظة: يمكن تكرار إضافة 9 مل من 2٪ فورمالين والخطوات من 2 **إلى 4 إذا كانت الرواسب الأنظف مطلوبة.**

احتياطات السلامة

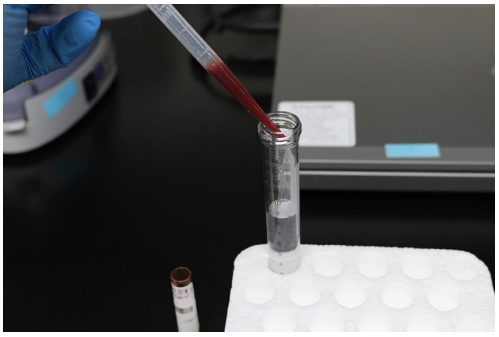
ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة

إجراءات التنظيف

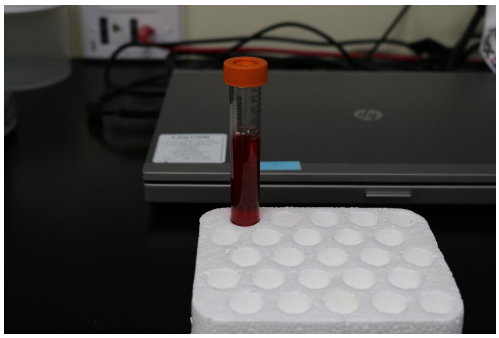
تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم في حاوية الأدوات الحادة



الخطوة 1.

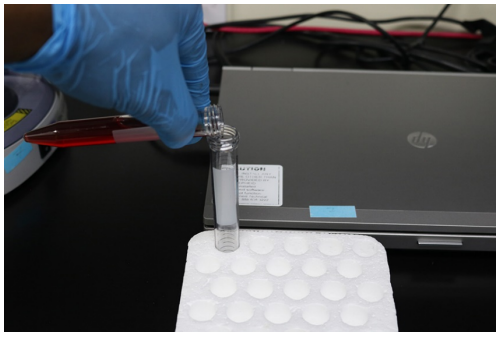


الخطوة 1.

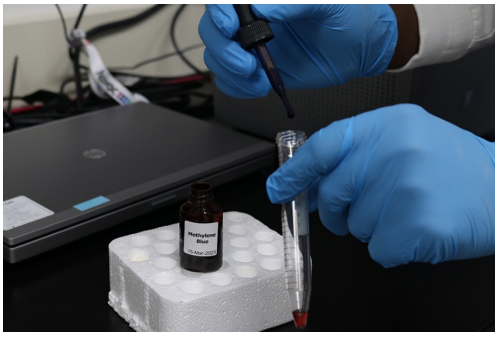


الخطوه 3.

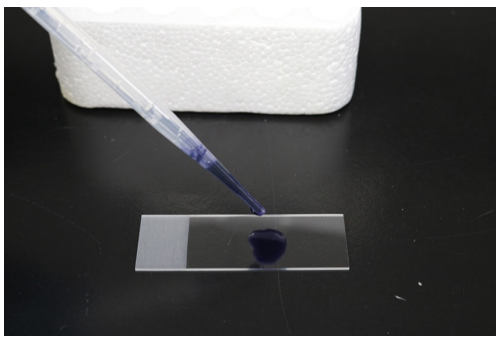
الخطوة 2.



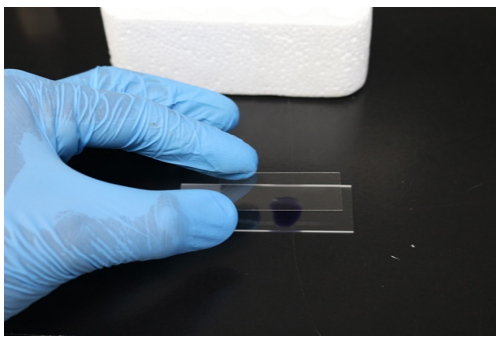
الخطوة 5.



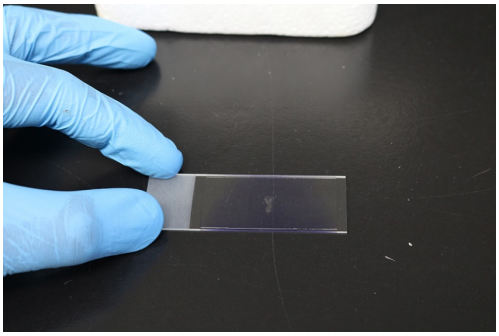
الخطوة 4.



الخطوة 6.



الخطوة 6.



الخطوة 6.

الصور مقدمة من إيان برانفورد Ian Branford وشدراخ هوبسون تايسونShadrach Hobson-Tyson ، كلية الطب البيطري بجامعة روس

الإجراء التشغيلي الموحد 7: طريقة الميكروهيماتوكريت للكشف عن الميكروفيلاريا

المكداس المكروي هو وسيلة دموية تستخدم على نطاق واسع. في عينات الدم الإيجابية للميكروفيلاريا من *Dirofilaria* spp. و *Acanthocheilonema* spp. ، تميل هذه اليرقات إلى التركيز في جزء معطف بافي من أنبوب microhematocrit. يمكن ملاحظتها تحت المجهر بينما لا تزال على قيد الحياة ومتحركة.

الكواشف / المواد

- أنابيب ميكروهيماتوكريت

إجراء

1. يتم استخدام الدم الكامل الذي يتم جمعه على مضادات التخثر (EDTA، الهيبارين، إلخ) لملء أنابيب microhematocrit (بطول 75 مم وقطر 1 مم)
2. جهاز طرد مركزي في جهاز طرد مركزي ميكروهيماتوكريت عند 13000-15000 جم لمدة 4 إلى 5 دقائق
3. تتم إزالة أنبوب الهيماتوكريت الدقيق برفق من جهاز الطرد المركزي ووضعه أفقيا تحت المجهر، مع التركيز على جزء معطف بافي، الموجود بين البلازما وطبقة خلايا الدم الحمراء
4. افحص تحت المجهر الضوئي أولا باستخدام هدف 20X (تكبير 200X). ومراقبة الميكروفيلاريا المتحركة

النتائج

لا يمكن تمييز الميكروفيلاريا إلى مستوى الأنواع بسبب الحركة وعدم وجود تلطيخ لتصور السمات المميزة. تميل الميكروفيلاريا إلى الانتقال من منطقة المعطف بافي إلى البلازما أثناء تسخينها بواسطة ضوء المجهر.

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم في الأدوات الحادة التي تحتوي علىr

الإجراء التشغيلي الموحد 8: لطاخة الدم (بما في ذلك لطاخة الدم الشعرية بأطراف الأذن)

تستخدم مسحات الدم الرقيقة للطفيليات داخل وخارج الخلية في الدم المحيطي مثل الهيموبروتوزوان (*Babesia, Theileria, Rangelia, Cytauxzoon, Hepatozoon, Trypanosoma*). اللطاخات السميكة أكثر تركيزا وأكثر حساسية من اللطاخات الرقيقة ولكن يجب متابعتها بمسحة رقيقة لتحديد مورفولوجي الطفيليات. يمكن أيضا استخدام اللطاخات الرقيقة والسميكة للميكروفيلاريا ولكن لها حساسية منخفضة مقارنة باختبار Knott المعدل.

في معظم الحالات، يجب إجراء مسحتين أو أكثر لزيادة حساسية الطريقة.
بالإضافة إلى هذا الإجراء التشغيلي الموحد، انظر:

مسحة الدم الشعرية الطازجة. https://youtu.be/EkYXXHSILYk. و
https://www.youtube.com/shorts/yfUN89hsZqs

مسحة الدم EDTA. https://youtube.com/shorts/j-KNiVnIAi0?feature=share

الكواشف / المواد

- صبغة جيمسا: محلول 1:20 (على سبيل المثال، 2 مل من مخزون جيمسا و40 مل من الماء المقطر أو المخزن). يجب ألا يزيد عمر الحل 1:20 عن يومين
- تلطيخ الجرار
- تأكد من نظافة الشرائح؛ يمسح بالكحول قبل الاستخدام التعامل مع الشريحة من الحافة

إجراء مسحة الدم رقيقة

1. ضع قطرة صغيرة من الدم الطازج (قبل حدوث التخثر) أو الدم المضاد للتخثر EDTA بالقرب من أحد طرفي الشريحة
2. استخدم شريحة أخرى (الموزعة) لنشر الدم
3. امسك الموزعة بزاوية 45 درجة تقريبا
4. المس الجانب البعيد من الدم باستخدام الموزعة. الجانب البعيد هو الجانب الأبعد عن حافة الشريحة
5. يجب أن يمر الدم على طول حافة الموزعة
6. ادفع الموزعة برفق على طول الشريحة
7. لاحظ أن هذا يسحب الدم خلف الموزعة. إنه لا يدفع الدم أمام الموزعة
8. ادفع الموزعة لتغلق حتى نهاية الشريحة. يجب أن يؤدي ذلك إلى "حافة الريش"، وهي منطقة يتم فيها فصل خلايا الدم
   أ. إذا لم يكن هناك دم كاف، تكون اللطاخة قصيرة
   ب. إذا كان هناك الكثير من الدم، فلن يتم إنشاء حافة ريش
9. يجفف في الهواء
10. بعد تجفيف طبقة الدم بالهواء، ثبت في الميثانول المطلق لمدة 5 دقائق ثم جفف في الهواء

إجراء مسحة الدم سميكة

1. ضع قطرة دم صغيرة في وسط الشريحة
2. استخدم عصا أو زاوية من شريحة أخرى وانشر قطرة الدم في نمط دائري
3. يجب أن يكون قطر اللطاخة الناتجة حوالي 1.5 سم
4. إذا تم وضع الشريحة فوق ورق الصحف، فسيكون من الصعب قراءة الدم
5. دع اللطاخة تجف في وضع أفقي لمدة 30 دقيقة على الأقل. يمكن أن تجف اللطاخة لعدة ساعات
6. لا تقم بإصلاح اللطاخات السميكة بالميثانول أو الحرارة
7. وصمة عار مع جيمسا
8. في حالة تأخر التلطيخ، اغمس اللطاخة لفترة وجيزة في الماء لتحلل كريات الدم الحمراء

إجراء لطاخة الدم الشعري من الأذن

1. امسك الأذن وقص الفراء من منطقة صغيرة عند حافة واحدة من الصيوان
2. يمسح بشاش جاف لإزالة الشعر المقطوع والغبار والحرشفية. لا تستخدم أي سائل (مثل المطهر) لأن هذا سيمنع فقاعة الدم من التكون.
3. وخز الأذن برفق بإبرة دقيقة (مثل 25 جم أو 26 جم). (يجب أن يتم ذلك بلطف بحيث لا يتم إنتاج الدم.)
4. اضغط على الأذن حول موقع وخز الإبرة لدفع الدم الشعري على سطح الجلد. يجب أن يكون هناك فقاعة صغيرة من الدم
5. ضع شريحة مجهر على الفقاعة ثم قم بعمل مسحة كما هو موضح سابقا لطاخة الدم الرقيقة

تلطيخ وعرض (جميع أنواع اللطاخات)

1. في حالة عدم توفر مجموعة بقع تجارية مثل Diff-Quik ، يمكن استخدام الطريقة التالية.
2. ضع الشريحة في محلول Giemsa 1:20 لمدة 20 إلى 30 دقيقة
3. اغسل برفق باستخدام ماء الصنبور أو عن طريق غمسه في وعاء من ماء الصنبور. لا تفرط في الغسل. سيؤدي ذلك إلى إزالة اللون.
4. يجف في الهواء في وضع عمودي
5. افحص الشريحة تحت المجهر الضوئي أولا باستخدام هدف 10X (تكبير 100X). يمكن زيادة التكبير عند البحث عن الأوليات داخل الخلايا وتحديد أي ميكروفيلاريا.

النتائج

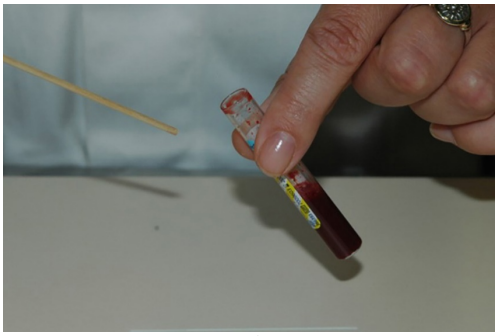
سوف يلطخ السيتوبلازم الطفيلي اللون الأزرق الفاتح وستلطخ النوى اللون الأرجواني الداكن.
انظر المبادئ التوجيهية للطفيلي الداخلي للكلاب والقطط للحصول على صور لمختلف الهيموبروتوزوا.
إذا شوهدت الميكروفيلاريا في لطاخة الدم، فيجب إجراء اختبار نوت للمساعدة في تحديد الهوية.
كن حذرا من القطع الأثرية المتعلقة بالتجفيف أو التلطيخ.

احتياطات السلامة

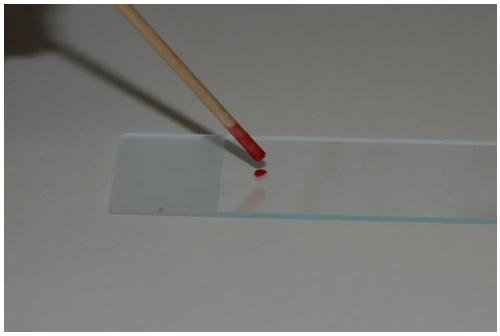
ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة

إجراءات التنظيف

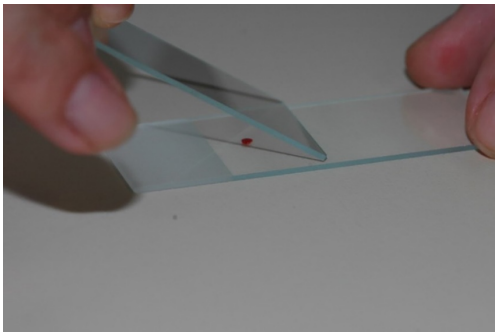
تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم في حاوية الأدوات الحادة



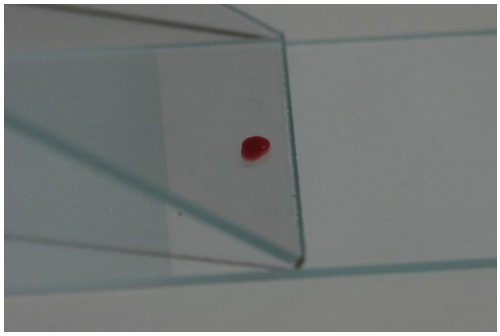
الخطوة 1.



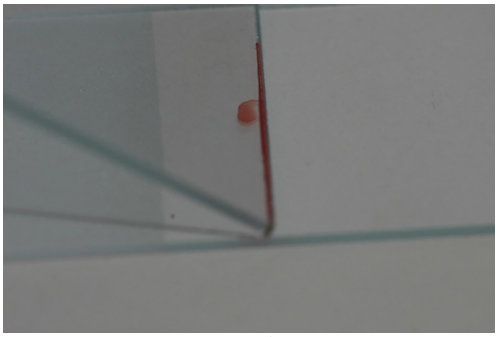
الخطوة 1.



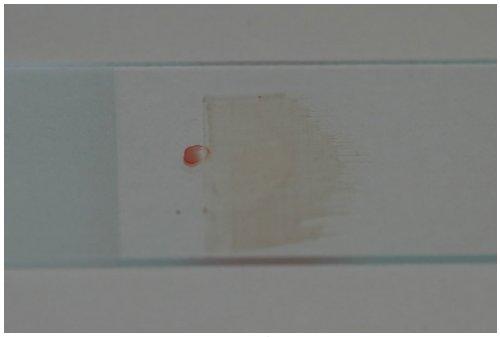
الخطوه 2.



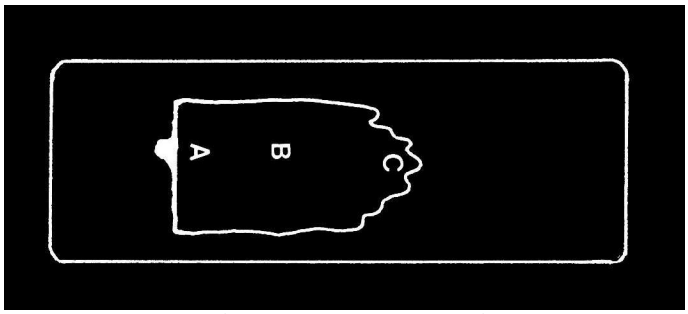
الخطوة 3.



الخطوة 4-7.



الخطوات 8.



الخطوة 8. حافة الريش في المنطقة C.

الإجراء التشغيلي الموحد 9: مسحة معطف بافي Buffy coat smear

معطف بافي هو جزء من الدم الذي يحتوي على غالبية خلايا الدم البيضاء والصفائح الدموية. أنه يحتوي على 10 إلى 20 مرة الكريات البيض المركزة. يتم التعبير عنها بعد الطرد المركزي للدم الذي تم جمعه على مضادات التخثر. يظهر معطف بافي كطبقة رقيقة برتقالية اللون (ومن هنا جاءت تسميتها)، تمثل حوالي 1٪ من إجمالي حجم الدم، وتقع في أنبوب الطرد المركزي بين البلازما (أعلاه) وخلايا الدم الحمراء (أدناه). في علم الطفيليات، تمثل اللطاخة الملطخة بمعطف بافي طريقة أكثر حساسية من مسحة الدم الكاملة القياسية للكشف المجهري عن بعض الطفيليات ومسببات الأمراض الأخرى الموجودة في خلايا الدم البيضاء، مثل *Leishmania, Hepatozoon, Anaplasma, Ehrlichia*. قد يحتوي معطف بافي أيضا على تركيز أعلى من الميكروفيلاريا و / أو أشكال المثقبية من المثقبية النيابة. يمكن أيضا استخدام جزء معطف بافي لاستخراج الحمض النووي متبوعا ب PCR للكشف الجزيئي عن نفس الطفيليات.

الكواشف / المواد

- أنبوب الدم EDTA
- ماصه
- أنبوب دموي أو أنبوب شعري زجاجي
- جيمسا وصمة عار
- شرائح زجاجية

إجراء

1. يتم طرد الدم الكامل الذي يتم جمعه على مضادات التخثر (EDTA، الهيبارين، إلخ) عند 200 غرام لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة
2. تتم إزالة الأنبوب برفق من جهاز الطرد المركزي ووضعه في حامل الأنبوب
3. باستخدام ماصة دقيقة، يتم استنشاق قطرة صغيرة من طبقة المعطف المنتفخ ووضعها على شريحة
4. استخدم شريحة أخرى (الموزعة) لنشر الدم
5. امسك الموزعة بزاوية 45 درجة تقريبا
6. المس الجانب البعيد من القطرة باستخدام الموزعة. الجانب البعيد هو الجانب الأبعد عن حافة الشريحة
7. يجب أن تعمل قطرة المعطف المنتفخ على طول حافة الموزعة
8. ادفع الموزعة على طول الشريحة
9. لاحظ أن هذا يسحب القطرة خلف الموزعة. إنه لا يدفع الانخفاض أمام الموزعة
10. ادفع الموزعة لتغلق حتى نهاية الشريحة. يجب أن يؤدي ذلك إلى "حافة الريش"، وهي منطقة يتم فيها فصل خلايا الدم
    أ. إذا كان الانخفاض صغيرا جدا، تكون اللطاخة قصيرة
    ب. إذا كان الانخفاض كبيرا جدا، فلن يتم إنشاء حافة متدرجة
11. يجفف في الهواء
12. بعد تجفيف اللطاخة بالهواء، ثبت في الميثانول المطلق لمدة 5 دقائق ثم جفف في الهواء
13. ضع الشريحة في محلول Giemsa 1:20 لمدة 20 إلى 30 دقيقة
14. اغسل برفق باستخدام ماء الصنبور أو عن طريق غمسه في وعاء من ماء الصنبور. لا تفرط في الغسل. سيؤدي ذلك إلى إزالة اللون
15. يجف في الهواء في وضع عمودي
16. افحص الشريحة تحت المجهر الضوئي أولا باستخدام هدف 10X (تكبير 100X). يمكن زيادة التكبير عند البحث عن الأوليات داخل الخلايا وتحديد أي ميكروفيلاريا

النتائج

انظر إرشادات والقطط للحصول على صور للطفيليات المختلفة

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم في الأدوات الحادة التي تحتوي علىص

الإجراء التشغيلي الموحد 10: طريقة الشريط اللاصق/شريط الأسيتات

يمكن استخدام طريقة الشريط اللاصق حول المنطقة حول الشرج لجمع بيض السيستود وفي مواقع الميل المختلفة لجمع عث الفراء.

الكواشف / المواد

- **الانزلاق والغطاء**
- **ملقط**
- **شريط لاصق شفاف**

إجراء

1. استخدم شريطا لاصقا شفافا أو شريط أسيتات
2. يجب أن يكون طول الشريط أو الشريط حوالي 2.5 سم
3. ضعه على الشعر أو سطح الجلد
4. سحب في اتجاه الشعر
5. ضع (الجانب اللاصق لأسفل) على شريحة زجاجية
6. افحص باستخدام هدف 4X أو 10X (تكبير 40 أو 100X) للعث والقمل وأهداف 10X أو 40X (تكبير 100 أو 400X) لبيض السيستود

النتائج

يمكن رؤية القمل وبيض العث بالإضافة إلى مجموعة متنوعة من عث الفراء والقمل.

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع المعدات التي تستخدم لمرة واحدة في سلة المهملات السريرية أو الأدوات الحادة حسب الاقتضاء

الإجراء التشغيلي الموحد 11: طريقة الترايكوغرام / نتف الشعر

التريكوساب هو فحص الشعر الذي تم نتفه. يتم استخدامه في المقام الأول لعث الفراء ولكن يمكن استخدامه أيضا للقمل. في الحالات التي يكون فيها كشط الجلد صعبا (المنطقة الحساسة)، يمكن استخدام نتف الشعر لاسترجاع عث الجلد، على الرغم من أن الحساسية أقل مقارنة بكشط الجلد. يمكن وضع الشعر المنتفخ على شريحة وفحصه باستخدام مجهر مركب أو في طبق بتري وفحصه تحت مجهر تشريح (ستيريو). يمكن أيضا مشاهدة الشعر الذي تم الحصول عليه عند حلاقة مناطق خدوش الجلد باستخدام طريقة نتف الشعر.

الكواشف / المواد

- **الانزلاق والغطاء**
- **ملقط**
- **الزيوت المعدنية / الجلسرين / زيت البارافين**

إجراء

1. استخدم الملقط لنتف الشعر. نتف في اتجاه نمو الشعر
2. إذا أمكن، اضغط على الجلد قبل وأثناء نتفه
3. يجب نتف ما لا يقل عن 20 شعرة مع 40 شعرة أو أكثر لتحسين الحساسية
4. للعرض باستخدام المجهر المركب، ضع الشعر على شريحة مع قطرة من الزيت المعدني / الجلسرين / زيت البارافين وأضف غطاء
5. للعرض باستخدام مجهر ستيريو، ضع الشعر على طبق بتري مع قطرة من الزيت المعدني / الجلسرين / زيت البارافين
6. الفحص عند التكبير منخفض الطاقة من 4X إلى 100X

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع المعدات التي تستخدم لمرة واحدة في سلة المهملات السريرية أو الأدوات الحادة حسب الاقتضاء

الإجراء التشغيلي الموحد 12: كشط الجلد للعث والشريط اللاصق

يمكن استخدام خدوش الجلد العميقة لجمع *Demodex* spp. عن طريق الكشط في منطقة الثعلبة أو *Sarcoptes* و *Notoedres* عن طريق كشط حوالي 1-2 سم من الحطاطات المشتبه بها. يمكن استخدام خدوش الجلد السطحية لعث الفراء.
يجب إجراء خدوش الجلد في مناطق الميل و / أو بالقرب من الآفات. عادة، يتم جمع العديد من الخدوش للفحص.
إذا لم يكن المجهر متاحا في غرفة الفحص أو تم إجراء كشط الجلد أثناء زيارة الاستشارة المنزلية، فيمكن استخدام شريط لاصق للحفاظ على كشط الجلد. يجب عرض العينات لوجود العث والبيض في غضون 3 أيام.

الكواشف / المواد

- **الانزلاق والغطاء**
- **شفرة مشرط حادة**
- **الزيوت المعدنية / الجلسرين / زيت البارافين**
- **شريط لاصق شفاف**

إجراء

1. إذا لزم الأمر، احلق المنطقة المراد كشطها برفق
2. اجمع الشعيرات لفحصها (انظر الإجراء التشغيلي الموحد رقم 12: مخطط ثلاثي الشعرات)
3. ضع قطرة من الزيت المعدني / الجلسرين / زيت البارافين على شفرة مشرط حادة
4. إذا كنت تبحث عن *Demodex*، فقم بقرص الجلد برفق بين الإبهام والسبابة قبل الكشط
5. اكشط الجلد برفق طوليا وجانبيا بشفرة المشرط الحادة حتى نزيف شعري خفيف
6. ضع المواد التي تم جمعها على شريحة للعرض الفوري
7. إذا تعذر إجراء المشاهدة في غضون فترة زمنية قصيرة، فضع المادة التي تم جمعها على الشفرة على الجانب اللاصق من قطعة من الشريط اللاصق. ضع الشريط، الجانب اللاصق لأسفل، على شريحة.
8. اختياري: ضع شريطا من الشريط (طوله حوالي 2.5 سم) بإحكام على الآفة التي تم كشطها واسحبها بسرعة. ضع الشريط، الجانب اللاصق لأسفل ، على شريحة.
9. افحص عند طاقة منخفضة (عدسة 4X (تكبير 40X) وعدسة 10X (تكبير 100X))

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع المعدات التي تستخدم لمرة واحدة في سلة المهملات السريرية أو الأدوات الحادة حسب الاقتضاء

الإجراء التشغيلي الموحد 13: خزعة الجلد

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن الميكروفيلاريا وتحديدها من الديدان الخيطية onchocercid من أجناس Onchocerca (أي *Onchocerca lupi* و Cercopithifilaria (أي *Cercopithifilaria bainae* و *Cercopithifilaria sp. I* و Cercopithifilaria *grassi*) في الجلد من خلال مراقبة الرواسب.

الكواشف / المواد

- لكمات الخزعة (قطرها 4 مم) أو مشارط يمكن التخلص منها
- محلول ملحي (كلوريد الصوديوم 0.9٪)
- حشية مطاطية لتأمين الغشاء
- شرائح زجاجية
- غطاء (10X10 مم)
- المجهر الضوئي
- أزرق الميثيلين (1٪)

إجراء

1. جمع عينات الجلد باستخدام مشارط يمكن التخلص منها (حوالي 0.5 × 0.5 × 0.6 سم) أو لكمات الخزعة (عينة قطرها 4 مم)
2. نقع العينة في محلول ملحي لمدة 10 دقائق عند 37 درجة مئوية أو 3 ساعات في درجة حرارة الغرفة (حوالي 20 درجة مئوية)
3. إزالة عينة الجلد
4. أجهزة الطرد المركزي العينات في 650 *غرام* لمدة 10 دقائق
5. ضع قطرتين من الرواسب على شريحة زجاجية
6. أضف قطرة من الميثيلين الأزرق (1٪)
7. راقب تحت المجهر الضوئي عند طاقة منخفضة (هدف 10X؛ تكبير 100X) وعند طاقة عالية (هدف 40X؛ تكبير 400X) لتأكيد الأنواع
8. تحديد الميكروفيلاريا وفقا لمورفولوجيتها

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع الشرائح وأغطية القسائم في الأدوات الحادة التي تحتوي على

الإجراء التشغيلي الموحد 14: فحص عث الأذن

يمكن رؤية عث الأذن (*Otodectes*) ظاهريا ومجهريا. في كثير من الأحيان يمكن رؤية عث الأذن من خلال فحص منظار الأذن، على الرغم من أن هذه الطريقة ليست حساسة مثل فحص الحطام الذي يتم جمعه باستخدام مسحة. يمكن أن تصاب والقطط المصابة بعدوى عث الأذن بالتهابات بكتيرية ثانوية. يمكن أن تكون هذه مؤلمة وقد تتطلب وضع كمامة على قبل الفحص أو إعطاء مسكن.

الكواشف / المواد

- **منظار الأذن**
- **مسحة**
- **الزيوت المعدنية / زيت البارافين**
- **الانزلاق والغطاء**

الإجراء (منظار الأذن)

1. ارفع صيوان الأذن.
2. ضع المنظار برفق في فتحة قناة الأذن
3. أثناء النظر من خلال منظار الأذن، حرك المنظار ببطء أسفل قناة الأذن العمودية
4. مراقبة الشمع والحطام للحركة. يمكن أن تظهر *Otodectes* كنقاط بيضاء تتحرك على الشمع الداكن
5. إذا كانت الأذن مليئة بالحطام بشكل خاص، فقد يكون استخدام منظار أوسع مفيدا
6. يمكن أن يملأ الحطام والشمع طرف المنظار. يمكن فحص هذا الحطام والشمع كما هو موضح أدناه لإجراء مسحة

الإجراء (مسحة)

1. باستخدام مسحة قطنية مغلفة برفق بالزيت المعدني / زيت البارافين، قم بإزالة الحطام الشمعي الداكن من كلتا الأذنين
2. راقب المسحة لمعرفة ما إذا كانت هناك حركة. الحركة هي على الأرجح عث الأذن.
3. ضع 2 إلى 3 قطرات من الزيت المعدني / زيت البارافين على شريحة زجاجية
4. امزج الحطام الذي تم جمعه من الأذن على المسحة بالزيت
5. إزالة قطع كبيرة من الحطام
6. ضع قسيمة غطاء على الشريحة
7. الفحص عند طاقة منخفضة (هدف 4X و10X (تكبير 40X و100X))

النتائج

مع كلا الإجراءين يمكن رؤية العث من خلال حركتهم، والفحص المجهري يؤكد تحديد الهوية ويزيد من حساسية الطريقة.

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة. اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع المعدات التي تستخدم لمرة واحدة في سلة المهملات السريرية

الإجراء التشغيلي الموحد 15: داء الدويدية البثري Demodicosis

غالبا ما يكون تجريف الجلد سلبيا عندما يكون مصابا بداء الدويدية البثرية. يمكن أن تزيد هذه الطريقة من الشفاء وتأكيد الإصابة في هذه الظروف.

الكواشف / المواد

- الانزلاق والغطاء

إجراء

1. اضغط على بثرة واحدة أو اثنتين
2. اجمع المادة عن طريق الضغط على شريحة بقوة على الجلد
3. ضع قسيمة غطاء على الشريحة
4. افحص التحضير عند طاقة منخفضة (هدف 10X، تكبير 100X) وطاقة أعلى (هدف 40X، تكبير 400X)

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع المعدات التي تستخدم لمرة واحدة في صندوق النفايات السريرية أو حاوية الأدوات الحادة حسب الاقتضاء

الإجراء التشغيلي الموحد 16: ترسيب البول

يمكن استخدام ترسيب البول لتحديد بيض *Dioctophyme renale* و *Pearsonema plica* (*Capillaria plica*).

الكواشف / المواد

- الانزلاق والغطاء
- 10-15 مل أنبوب الطرد المركزي
- اليود لوغول
- حمض الخليك

إجراء

1. اجمع عينة بول في كوب بلاستيكي يمكن التخلص منه
2. املأ أنبوبا سعة 10 أو 15 مل بالعينة وأجهزة الطرد المركزي عند 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق. صب قبالة طاف
3. خذ 1-2 قطرات من الرواسب في شريحة زجاجية وأضف غطاء
4. يمكن خلط العينة مع قطرة من يود Lugol لإضافة التباين
5. إذا كانت العينة مغطاة بخلايا الدم الحمراء، فيمكن خلطها مع 2 إلى 3 قطرات من حمض الأسيتيك
6. افحص التحضير عند طاقة منخفضة (هدف 10X، تكبير 100X) وطاقة أعلى (هدف 40X، تكبير 400X)

احتياطات السلامة

ارتداء معطف المختبر والقفازات التي تستخدم لمرة واحدة
اغسل يديك جيدا عند الانتهاء

إجراءات التنظيف

تخلص من جميع المعدات التي تستخدم لمرة واحدة في صندوق النفايات السريرية أو حاوية الأدوات الحادة حسب الاقتضاء

المراجع

البيض والبويضات في البراز

[1] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. Veterinary Clinical Parasitology 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.

[2] Eggs found in Faecal Floats https://shire.science.uq.edu.au/parasites/helminths/nematodes/faecal-floats.php

[3] www.parasite.org.au/para-site/contents/toc.html

اليرقات في البراز

[1] Di Cesare A, Traversa D. 2014. Canine angiostrongylosis: recent advances in diagnosis, prevention, and treatment. Vet Med (Auckl). 5:181-192. doi:10.2147/VMRR.S53641

[2] Greve JH. 1985. Identifying nematode larvae in feces of dogs and cats. Iowa State University Veterinarian. 47(2): 98-101. http://lib.dr.iastate.edu/iowastate_veterinarian/vol47/iss2/4

[3] McGarry JW, Morgan ER. 2009. Identification of first-stage larvae of Metastrongyles from dogs. Vet Rec 165(9):258-261.

[4] Traversa D, Di Cesare A, Conboy G. 2010. Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. Parasit Vectors. 3:62. doi:10.1186/1756-3305-3-62

الميكروفيلاريا في الدم

[1] Companion Animal Parasite Council Guidelines. https://capcvet.org/guidelines/heartworm/

[2] Magnis J, Lorentz S, Guardone L, et al. 2013. Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. Parasit Vectors. 6:48. doi:10.1186/1756-3305-6-48

[3] Parasitological Diagnosis in Cats, Dogs and Equines. ESCCAP Guideline 04 First Edition – November 2022. www.esccap.org/uploads/docs/hgqo8xak_1335_ESCCAP_GL4_v2_1p.pdf page 35

الميكروفيلاريا في الجلد

[1] Mutafchiev Y, Dantas-Torres F, Giannelli A, Abramo., Papadopoulos E, Cardoso L, Cortes H, Otranto D. 2013. Redescription of *Onchocerca lupi* (Spirurida: Onchocercidae) with histopathological observations. Parasit Vectors 6:309.

[2] Otranto D, Varcasia A, Solinas C, Scala A, Brianti E, Dantas-Torres F, Annoscia G, Martin C, Mutafchiev Y, Bain O. 2013. Redescription of *Cercopithifilaria bainae* Almeida & Vicente, 1984 (Spirurida, Onchocercidae) from a dog in Sardinia, Italy. Parasit Vectors. 6:132. doi:10.1186/1756-3305-6-132.

[3] Otranto D, Brianti E, Dantas-Torres F, Miró G, Latrofa MS, Mutafchiev Y, Bain O. 2013. Species diversity of dermal microfilariae of the genus *Cercopithifilaria* infesting dogs in the Mediterranean region. Parasitology 140(1):99-108. doi:10.1017/S0031182012001357.

تحديد القراد

[1] Barker SC, Walker AR. 2014. Ticks of Australia: The Species That Infest Domestic Animals and Humans. Magnolia Press, Auckland. http://www.alanrwalker.com/guidebooks/ticks/

[2] Bristol University Tick ID. Key to Genera. http://www.bristoluniversitytickid.uk/page/Key+to+Genera/6/#.Y7NaNHbMI2w

[3] Madder M, Horak I, Stoltsz H. Ticks of veterinary importance and Tick Identification. https://www.afrivip.org/sites/default/files/Ticks_identification/ticks_importance/ and https://www.afrivip.org/sites/default/files/Ticks_identification/index/ (Africa). See also www.afrivip.org/sites/default/files/07_identification_vetimportance.pdf

[4] Szabó MP, Pinter A, Labruna MB. 2013. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. Front Cell Infect Microbiol. 3:27. doi:10.3389/fcimb.2013.00027

[5] TickEncounter Identification Guide. https://web.uri.edu/tickencounter/fieldguide/id-guide/

[6] Walker AR, Bouattour A, Camicas J-L, et al. 2003. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. University of Edinburgh. http://www.alanrwalker.com/guidebooks/ticks/

[7] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. Veterinary Clinical Parasitology 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.

تحديد العث والقمل والبراغيث

[1] Common parasites of veterinary importance, Mite identification key. https://shire.science.uq.edu.au/parasites/arachnids/mites/mites-identification.php

[2] Dantas-Torres F, Otranto D. 2014. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box [published correction appears in Parasit Vectors. 2016;9(1):298]. Parasit Vectors. 7:22.doi:10.1186/1756-3305-7-22

[3] Flea Identification. www.cdc.gov/nceh/ehs/docs/pictorial_keys/fleas.pdf

[4] Common parasites of veterinary importance. Key to Flea Species of Veterinary Importance in Australia. https://shire.science.uq.edu.au/parasites/insects/fleas/fleas-key.php

مراجع الطريقة ومقاطع الفيديو

[1] Parasitological Diagnosis in Cats, Dogs and Equines. ESCCAP Guideline 04 First Edition – November 2022. Free and available electronically. www.esccap.org/uploads/docs/hgqo8xak_1335_ESCCAP_GL4_v2_1p.pdf

[2] The RVC/FAO Guide to Veterinary Diagnostic Parasitology. https://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Faeces/Purpose.htm

[3] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. Veterinary Clinical Parasitology 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.

[4] Preparing and measuring the S.G. of a flotation solution. https://youtu.be/Skx7JDUL6lE

[5] Fresh capillary blood smear. https://youtu.be/EkYXXHSILYk and https://www.youtube.com/shorts/yfUN89hsZqs

[6] EDTA blood smear. https://youtube.com/shorts/j-KNiVnIAi0?feature=share

[7] Collecting blood from the ear tip. https://www.youtube.com/shorts/8KCQ1gqX9Hk