**الفحوصات المختبرية**

**كذلك تم التعرف على أهم العلامات السريرية والآفات العيانية التي تلاحظ عند الإصابة بأهم أمراض الدجاج . قد يكون من الممكن تشخيص المشكلة أو المرض في القطيع بما تم معرفته عن سير المرض والعلامات السريريه و الآفات المرضيه خاصة عندما تكون هنالك علامات سريريه او آفات مرضيه واصمه . ولكن في بعض الحالات يكون تاريخ الحالة والعلامات السريرية والتغيرات المرضية العيانية غير كافيه لتشخيص المرض ولكن تساعدنا في حصر تفكيرنا في مرضين أو أكثر وفي هذه الحالة يجب اللجوء إلى الفحوصات المختبريه المختلفة للتوصل إلى التشخيص الأكيد للحالة .في هذه الصفحه سنشير الى بعض الفحوصات المختبرية البسيطة والسريعة التي تساعد في تشخيص بعض الأمراض و كذلك سنشير الى طرق اخذ النماذج المختلفة لغرض إجراء الفحوصات المختبريه الاخرى ﻿﻿﻿﻿**

**الفحوصات السريعة**

**الفحوصات السريعة لا تحتاج إلى أجهزه مختبريه خاصة أو إلى زمن طويل لإعطاء نتيجة الفحص**

**. التجهيزات التي يجب توفرها لإجراء مثل هذه الفحوصات هي مجهر بسيط و بعض الصبغات المهمة وشرائح زجاجية ومواد مختبريه بسيطة أخرى.**

**المسحات المباشرة تشمل:-**

**المسحات الرطبة**

**هي المسحات التي تفحص قبل جفافها وغالبها بدون صبغها.وتعتبر المسحات الرطبة وسيلة سريعة للكشف عن بعض العوامل الخمجية مثل الأكريات، الترايكوموناس، ديدان الكابليريا، الحلم وغيرها ومن الضروري وضع قطرة من محلول الملح الفسيولوجي علي الشريحة الزجاجية ومزجها مع االنموذج المراد فحصه ثم تغطيتها بغطاء زجاجي قبل فحصها تحت المجهر.**

 **للكشف عن الأكريات ( طفيليات الكوكسيديا ) يجب عمل مسحات من طبقة السطح المخاطي للأمعاء العميقة تسمح بمشاهدة بيوض الطفيلي غير الناضج ومراحل تطور الطفيلي الأخرى. ولابد من الإشارة هنا إلى أن تشخيص الإصابة بالأكريات يعتمد على وجود الآفات العيانية و وجود البيوض و الادوار المختلف للطفيلي وليس فقط على وجود بيوض الطفيلي في المسحات المأخوذة من الأمعاء. أن الكشف عن وجود الأطوار المختلفة للطفيلي في المسحات هو لتثبيت الخمج.**

 **عمل مسحات من الفم أو المريء هي وسيلة سريعة لتشخيص الخمج بطفلي الترايكوموناس إذا كانت هناك آفات عيانية تثير الشك بوجود الإصابة. يجب فحص المسحات بالسرعة الممكنة ويفضل ان يكون محلول الملح الفزيولوجي دافئا لملاحظة هذه الطفيليات التي تتحرك بسرعة.**

 **عند الفحص عن وجود ديدان الكابليريا في الحوطة أو الأمعاء فإنه يمكن عمل مسحات رطبة من المناطق التي يشك بإصابتها التي تكون عادة محتقنه و متثخنه. ولما كانت هذه الديدان الشعرية صغيرة الحجم وتتطفل داخل أنسجة الحوطة أو الأمعاء فإن الكشف عنها يتطلب عمل مسحات عميقة من الانسجه التي يشك بأصابتها وفحصها تحت المجهر لمشاهدة الديدان وبيوضها.**

 **لتشخيص الخمج بالجرب يؤخذ النموذج ، بواسطة شفرة، من المنطقة المصابة، ويفضل ان تؤخذ القشور من مناطق عميقة وليس من الطبقة السطحية للمنطقة المصابة. يمكن عمل مسحة رطبة من القشور وفحصها مباشرة تحت المجهر و لزيادة امكانيه الكشف عن طفيليات الجرب ، يفضل وضع القشور في أنبوبة اختبار تحتوي على محلول هيدروكسيد البوتاسيوم أو هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 10% ثم تسخين المحلول لمدة 10-15 دقيقة لكي تتحلل القشور (يجب اخذ الحذر عند التسخين و عدم السماح بغليان المحلول ). بعد ذلك توضع الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي ثم تؤخذ قطرة من الراسب وتوضع على شريحة زجاجية وتغطى بغطاء زجاجي ثم تفحص تحت المجهر لمشاهدة الحلم . وفي حالة عدم توفر جهاز الطرد المركزي يمكن وضع القشور مع محلول هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم على شريحة زجاجية وتسخين الشريحة بعنايه و بحذر قبل فحصها .**

 **من الطفيليات الأخرى التي يمكن مشاهدتها بعمل مسحات رطبه من محتويات الأمعاء هما طفيلي الهستوموتاس في الأعورين وطفيلي الهكساميتا في الأمعاء الدقيقة.**

 **المسحات المصبوغة**

 **في بعض الحالات يمكن اخذ مساحات مباشرة من الآفات المرضيه وصبغها بصبغات خاصة للتحري عن وجود الجراثيم أو الفطريات أو الخلايا السرطانية. يمكن عمل هذه المسحات من النضحات الالتهابيه ،مثلا من مفصل ملتهب أو من محتويات كيس الصفراء أو من افرازات الجيوب الأنفية أو من أي آفة اخرى. ملحق رقم (1) يبين أهم الأمراض التي يمكن تشخيصها بواسطة المسحات المصبوغة.
 طريقة عمل المسحة هي أخذ كمية قليلة من المادة المراد فحصها ( الإفرازات الجيوب الأنفية مثلا) وفرشها على شريحة زجاجية على شكل طبقة رقيقة. أما إذا أريد عمل مسحة من عضو معين ( الكبد مثلا) فأنه يجب قطع العضو وعمل مسحة رقيقة من السطح المقطوع. تترك المسحة لتجف في درجة حرارة الغرفة اولا ثم تثبت بالحراره او بالكحول ثم تصبغ**

**. ويوجد العديد من الصبغات التي تستعمل لصبغ الجراثيم والفطريات والخلايا (ملحق2)
مسحات الدم**

 **المسحات الدموية هي وسيلة أخرى لتشخيص بعض أمراض الدواجن مثل زهري الطيور وكوليرا الدجاج (الحالات الحادة). والطفيليات الدموية**

**.
 عند الشك بإصابة الطير بمرض زهري الطيور تؤخذ قطرة من الدم من الوريد الجناحي بوساطة وخز الوريد بإبرة رفيعة. أما إذا كان الطير نافقاً فيمكن عمل مسحة من الطحال أو الكبد. توضع قطرة الدم على شريحة زجاجية نظيفة ثم تضاف لها قطرة من صبغة النكروسين ويمزجان جيداً وبسرعة لتلافي تخثر الدم. تعمل مسحة من مزيج الدم والصبغة بواسطة استعمال شريحة زجاجية أخرى وتترك المسحة لتجف في حرارة الغرفة ثم تفحص تحت المجهرتحت العدسه الزيتيه لمشاهدة الجراثيم اللولبية الشكل التي تظهر بيضاء اللون في أرضية سوداء عند عدم توفر صبغة النكروسين يمكن عمل مسحة دموية اعتيادية وصبغها بصبغة الكميزا أو الرايت حيث تصبغ الجراثيم باللون الأرجواني.**

**في حالة توفر المكثف المعتم للمجهر يمكن فحص الدم او مصل الدم مباشره دون عمل مسحه او صبغه، بضع قطره على شريحه زجاجيه و تغطيتها بغطاء زجاجي وفحصه تحت المجهر باستعمال عدسه شيئيه قوه 40.
 المسحات الدموية هي إحدى الوسائل السريعة لتشخيص الحالات الحادة لكوليرا الدجاج التي تكون فيها الجراثيم (باستوريللا ملتوسيدا) موجودة في الدم تصبغ مسحات الدم بصبغة زرقة المثلين أو صبغة الكرام لمشاهدة الجراثيم ثنائية القطبين و سالبه لصبغه كرام.**

 **لتشخيص الخمج بالطفيليات الدموية مثل طفيلي الملاريا والليوكوسايتوزون وغيرها يمكن عمل مسحات دم اعتيادية وصبغها أما بصبغة الكميزا أو صبغة الرايت.**

 **الفحوصات المصلية السريعة**

 **هذا النوع من الفحوصات يعتمد على الكشف عن الضدات ( الاجسام المضاده ) التي تكونت نتيجه الاصابه ببعض المسببات المرضيه في دم الدجاج. تجرى هذه الفحوصات عادة على شرائح زجاجية اعتيادية أو على ألواح الخزف الأبيض، ولا تأخذ وقتا طويلا كما لا تحتاج إلى أجهزة أو أدوات مختبرية معقدة . تستعمل في هذه الفحوصات مستضدات محضرة مسبقاً وجاهزة للاستعمال. من أهم هذه الفحوصات المصلية السريعة هو فحص التلازن الذي يستعمل لتشخيص الإصابة بالسالمونيللا والمايكويلازما.**

 **الفحص عن الخمج بالسالمونيللا:**

 **لقد استعمل فحص الدم السريع منذ سنين عديدة للكشف عن خمج الدجاج البالغ بالسالمونيللا بللورم وسالمونيللا كالينيرم. يجري الفحص بمزج كمية من الدم (حوالي 0.02 سم) مأخوذة من جرح في الوريد الجناحي ومحمولة بواسطة سلك معدني ذي نهاية مدورة.**

 **توضع هذه الكمية من الدم على صفيحة زجاجية مقسمة إلى مربعات تبلغ مساحة المربع الواحد حوالي أنجين مربعة تقريباً. حيث يستعمل مربع واحد لكل نموذج دم. بعد ذلك توضع قطرة واحدة من المستضد المصبوغ بواسطة قطارة (0.05 سم)، ثم يمزج الدم مع المستضد ويحرك اللوح الزجاجي بصورة دائرية. قد يحدث التلازن خلال ثوان قليلة أو خلال دقيقتين. كل تلازن يحدث بعد دقيقتين يعتبر سالباً وغير نوعي. عندما تكون النتيجة موجبة تتكون كتل من المستضد المصبوغ في وسط صاف . أن سرعة هذه الكتل وحجمها يعتمد اعتماداً مباشراً على معيار الضدات في الدم المفحوص. ظهور تفاعل جزئي يجب أن يفسر بتحفظ كونه موجباً. في بعض الأحيان قد يحدث تكتل لكريات الدم الحمراء. وهذا يجب تفريقه عن تكتل المستضد المصبوغ باللون البنفسجي، في حالات النتيجة السالبة يجب أن يبقي المزيد متجانساً على الأقل لمدة دقيقتين.**

**الفحص عن الخمج بالمايكوبلازما:**

 **في هذا الفحص تحضر مستضدات مصبوغة للمايكوبلازما التي تصيب الدواجن بصورة منفردة لكل منهم. يفضل فحص المصول خلال فترة ثلاثة أيام من تاريخ جمعها، ويفضل أن تكون هذه المصول غير مجمدة وخالية من الدم المتحلل والتلوث. قد نحصل على نتائج موجبة كاذبة لهذا الفحص مع المايكوبلازما كاليسبتكم عند استعمال مصول مجمدة مسبقاً او مصول محضرة من دجاج مصاب بالمايكوبلازما سابنوفياي او من دجاج محقون بلقحات ميتة لمرض الرعشة الوبائية و مرض النيوكاسل و ومرض التهاب القصبات الخمجي. مثل هذه المصول لا تعطي أبداً نتائج موجبة كاذبة عند استعمال فحص تثبيط التلازن باستعمال مستضدات حية للمايكوبلازما. يفضل عدم استعمال الدم بدلاً من المصل في هذا الفحص السريع.
 عند إجراء الفحص يفضل ان يكون مستضد المايكوبلازما بدرجة حرارة الغرفة (يخرن عادة بدرجة 4 مؤيه). تمزج قطرة من المستضد المصبوغ مع قطرة من المصل على شريحة زجاجية أو على لوح خزف أبيض. يدور المزيج لمدة دقيقتين وخلال هذه المدة يلاحظ حدوث التلازن، وفي أكثر الحالات الموجبة يحدث التلازن خلال 30 ثانية ويظهر على شكل كتل مصبوغة في وسط صاف (صوره رقم 1). في حالة الفحص الموجب الكاذب تتكون كتل دقيقة جداً ويبقى المزيح غير صاف. إضافة الى أن التلازن الكاذب يحدث بعد دقيقة الى دقيقتين. أما في الحالات السالبة فلا يحدث تلازن . من الممكن في بعض الأحيان منع حدوث النتائج الموجبة الكاذبة بتسخين المصول المراد فحصها لدرجة 56°م (في حمام مائي) ولمدة 30 دقيقة، تخفيف المصول (3/1، 5/1) بالملح الفسيولوجي قد يمنع مثل هذه النتائج الموجية الكاذبة ولكنه في نفس الوقت يضعف النتائج الموجبة الحقيقية، ويمكن تأكيد النتائج الموجبة بإجراء فحص تثبيط التلازن.**

 **صوره رقم 1 .فحص التلازن السريع بمستضد المايكوبلازما المصبوغ. يلاحظ حدوث تلازن واضح في ثلاثة نماذج .**

 **جمع النماذج لغرض الفحوصات المختبري:**

 **هنالك الكثير من الفحوصات المختبرية التي تتطلب الحصول على نماذج محددة من جسم الدجاج قبل عملية التشريح أو أثناءها. أن نوع النماذج التي تجمع يعتمد بالدرجة الأولى على نوع المرض المشكوك به اعتماداً على العلامات السريرية والآفات العيانية.**

 **وإذا كان من الصعب تحديد نوع النماذج التي يجب جمعها فإنه تجمع نماذج من أعضاء مختلفة (خاصة التي تظهر آفات عيانية) لغرض الفحص النسيجي وعزل المسببات المرضيه في محاولة للتعرف على المرض الذي في القطيع.**

 **على الطبيب البيطري أن يكون مجهزاً ومستعداً لجمع بعض النماذج المختبرية قبل البدء بتشريح الطير خاصة سحب نموذج دم لاغراض الفحوصات المصلية . ان الاستعداد لجمع النماذج في وقتها المناسب يوفر الكثير من الجهد ويساعد في الوصول الى التشخيص الصحيح. وفي حالة عدم جمع النماذج في الوقت المناسب فإنه قد لا تتوفر فرصة أخرى لجمعها.
جمع النماذج لغرض العزل الفايروسي:**

 **تعتبر الأمراض الفايروسية من الأمراض المهمة التي تصيب الدواجن بصورة عامة، وقد يكون من الضروري عزل الفايروس لتثبيت الإصابة ببعض هذه الأمراض. إن عزل بعض الفايروسات التي تصيب الدواجن عملية صعبة وتتطلب مختبرات مجهزة تجهيزاً كاملاً ومتخصصة في هذا المجال، غير أن هناك بعض الفايروسات التي يمكن عزلها عند توفر بعض المستلزمات البسيطة.
 عند جمع النماذج لغرض العزل الفايروسي يجب مراعاة ما يلي:
1- يجب معرفة نوع النموذج الذي يجب أو يفضل أخذه بالنسبة للمرض المشكوك به. ملحق رقم (3) يبين أهم الأعضاء أو النماذج التي يفضل جمعها لغرض العزل الفايروسي في حالة الشك بأحد الأمراض الفايروسية. وكما هو موضح من الجدول فإن النماذج التي تجمع تختلف من مرض إلى آخر.
2- يفضل جمع النماذج من الدجاج الذي هو في المراحل الأولى (الحادة) من المرض، والسبب في ذلك هو أن بعض الفايروسات قد يختفي بسرعة من الجسم بعد الخمج.
3- يجب جمع النماذج في ظروف معقمة قدر الإمكان وذلك باستعمال أدوات معقمة وعدم تلويث الأعضاء الداخلية للطير وتغطيس الطير في محلول مطهر قبل تشريحه.
4- توضع النماذج في أوعية معقمة مجهزة بسدادات محكمة الغلق ومعلمة بصورة واضحة.
5- حال الاكتمال من جمع النماذج تخزن الأوعية في مكان بارد حتى وقت عزل الفايروس. يفضل خزن النماذج بدرجة حرارة –70°م، ولكن درجة حرارة –20°م تعتبر كافية للحفاظ على الفايروس. إذا كان عزل الفايروس سيتم بعد فترة قصيرة جدا فعنده يمكن وضع النماذج في مجمدة الثلاجة أو في الثلاجة (+4م) . عند إرسال النماذج من مكان الى آخر فإنه يجب وضعها في حاويات تحتوي على ثلج وتأمين وصولها بأسرع وقت ممكن.**

**6- يمكن جمع بعض النماذج على مسحات قطنية (على سبيل المثال مسحات من الرغامي)، خاصة عندما يراد إرسالها إلى مسافات بعيدة. يجب وضع المسحات في أنابيب اختبار معقمه محكمة الغلق تحتوي على 3سم من وسط خاص يمنع جفاف المسحة. تجمد النماذج بعد جمعها مباشرة وترسل الى المختبر بالسرعة الممكنة.**

**7- يجب رزم النماذج بصورة جيدة ووضعها في حاويات محكمة الغلق لمنع كسرها وانتشار الخمج أثناء النقل. ونؤكد مرة أخرى على ضرورة تعليم النماذج بصورة جيدة.
8- بعد وصول النماذج الى المختبر يجب تخزينها بدرجة –20° إلى –70°م، ومن ثم تتلف أو تعقم الحاويات التي نقلت بها النماذج بصورة جيدة. بعد ظهور النتيجة النهائية يمكن اتلاف النماذج المتبقية وتعقيم الأوعية الحاوية على هذه النماذج.**

**جمع النماذج لغرض العزل الجرثومي:**

 **تؤخذ النماذج لغرض العزل الجرثومي بغمس مسحات قطنية في العضو (الكبد، الكلية، الطحال،….الخ)، أو بمسح هذه المسحات القطنيه بالأكياس الهوائية أو بالأغشية المخاطية للأعضاء المختلفة (الرغامي، الجيوب الأنفية، الأمعاء…..الخ). ويجب العمل على منع تلوث العضو المراد أخذ النموذج منه لأن تلوث النموذج يجعل عملية العزل متعبة وغير ممكنة في بعض الأحيان. وفي حالة تلوث العضو المراد أخذ النموذج منه يتم حرق المنطقة السطحية لذلك العضو إذا كان العضو يسمح بذلك (الكبد مثلاً) قبل غمس المسحة القطنية فيه، ويمكن زرع هذه النماذج مباشرة عند توفر الأوساط الزرعية، أو ترسل قبل جفافها إلى أحد المختبرات المتخصصة. في حالة بعد المختبرات وتلافياً لجفاف المسحة يفضل وضع هذه المسحات في أنابيب اختبار تحتوي على 3سم من المرق المغذي وخزنها في الثلاجة لحين إرسالها إلى المختبر. وعند عدم توفير مسحات قطنية يمكن إرسال قطعة من العضو على أن يتم أخذ النموذج في ظروف معقمة، ويمكن حفظ النموذج في الثلاجة وإرساله بعد ذلك مبردا بأسرع وقت الى المختبر.**

**جمع النماذج لغرض الفحص النسيجي:**

 **يعتبر الفحص النسيجي من الوسائل التي تعتمد في تشخيص أمراض الدواجن، وفي بعض الأحيان يعتبر وسيلة رئيسية لإثبات الإصابة ببعض الأمراض مثل فقر الدم الخمجي، كمبورو، والأمراض السرطانية خاصة مرض مارك والليكوسز المركب. وتختلف النماذج التي تجمع لغرض الفحص النسيجي حسب المرض كما هو مبين في ملحق رقم 4 .
تراعى الأمور التالية عند جمع النماذج لغرض الفحص النسيجي:**

 **1- يجب ان تحتوي غرفة التشريح المرضي على قنان بمختلف الحجوم مملوءة بالفورمالين بتركيز 10% لكي تكون جاهزة عند الحاجة.**

 **2- يفضل جمع النماذج من الطيور المريضة التي قتلت لغرض التشريح وذلك لأن أنسجة الطيور الميتة قد توجد فيها تغيرات ما بعد الموت مما يجعلها غير صالحة للفحص النسيجي.
3- يجب اخذ قطع صغيرة من العضو او النسيج ووضعها في الفورمالين مباشرة. ويفضل أن لا يزيد سمك القطعة عن 4 ملم توضع في كمية من الفورمالين حجمها على الأقل 10 أضعاف حجم القطعة.**

 **أن القطع الكبيرة لا يتم تثبيتها بصورة جيدة بسبب عدم نفاذ الفورمالين الى داخل النسيج. وفي حالة الأعضاء الصغيرة المحاطة بمحفظة مثل الطحال وجراب فايريشيا يجب عمل شق في العضو قبل وضعه في الفورمالين. كذلك يجب فتح قطع الأمعاء طوليا قبل وضعها في الفورمالين.
4- تعلم النماذج بصورة جيدة وترسل الى أحد المختبرات التي تتوفر فيها الإمكانيات لتحضير المقاطع النسيجية.**



 **ملحلق رقم 2 بعض الصبغات المستعملة في المسحات من الأنسجة واللطخات**



**طريقة إستعمال صبغه كرام:**

 **1- جفف المسحة التي على الشريحة الزجاجية في الهواءأولا ثم ثبتها على الشريحة بتمريرها فوق لهب بعنايه لثلاث مرات.**

 **2- حضر محلولاً يتكون من 2.5 مل من محلول أ+0.4 مل من محلول ب. اصبغ بهذا المحلول لمدة 1-2 دقيقة.**

 **ملاحظة- يجب تحضير المحلول قبل فترة قصيرة من بدء الصبغ.
3- اغسل بمحلول الأيودين، واترك محلول الأيودين على الشريحة لمدة 2-3 دقائق.
4- اغسل بالماء، وازل الماء بصورة جيدة من سطح الشريحة دون أن تجف.
5- اغسل بمزيل اللون لمدة 10 ثانية.
6- جفف في الهواء واصبغ بالصبغة المضادة لمدة دقيقتين.
7- اغسل بالماء، ثم جفف الشريحة وافحصها.

النتيجة: الجراثيم موجبة كرام بنفسجية.
 الجراثيم سالبة كرام حمراء

صبغة زرقة المثيلين
 methylene blue stain
محلول الصبغ يتكون من:
1-محلول زرقة المثيلين (1% في 95% كحول اثيلي) 30سم.
2-محلول هيدروكسيد الصوديوم (1% محلول مائي) 1سم.
3-ماء مقطر 100سم.

طريقة الصبغ:
جفف المسحة على الشريحة الزجاجية في الهواء، ثم ثبتها على الشريحة بتمريرها فوق لهب بعنايه لثلاث مرات.
1- أصبغ بمحلول الصبغة لمدة دقيقتين.
2- اغسل بالماء، ثم جفف الشريحة وافحصها.

النتيجة:
 جمع البكتريا تظهر زرقاء، لا تأخذ الأبواغ هذه الصبغة لذلك فهي تظهر على شكل أجسام غير مصبوغة في داخل العصيات الزرقاء. حبيبات الجرثومة الوتدية (الكوراينيباكتيريوم) قد تظهر في هذه الصبغة.

صبغة كيمزا
Giemsa stain
محلول الصبغ الأصلي
مسحوق كيمزا 0.3غم
كليسرين 25سم
كحول مثيلي (100% وخالي من الاستيون) 25سم
يفضل ترشيح المحلول للتخلص من مسحوق كيمزا الذي لم يذب .اخزن هذا المحلول الأصلي في قنينة زجاجية معتة.

طريقة الصبغ:
1- حضر محلول صبغة مخفف بإضافة 1سم من المحلول الأصلي الى 10 سم ماء مقطر.
2- اغمر الشريحة في الكحول المثيلي لمدة 3-5 دقلئق لتثبيت المسحة.
3- جفف قي الهواء.
4- اغمر الشريحة في محلول الصبغة المخفف لمدة 20-30 دقيقة.
يمكن زيادة الوقت الى 60 دقيقة حسب النتيجة.
5- اغسل بالماء المقطر، اترك الشريحة لتجف ثم افحصها.

النتيجة: يمكن الكشف و التعرف على الطفيليات الدموية بواسطة هذه الصبغة.

صبغة رايت
 Wright Stain
المواد
1- محلول الصبغة
مسحوق صبغة رايت 0.1غم
الكحول المثيلي (100% وخالي من الاسيتون) 60سم
يطحن مسحوق الصبغة مع الكحول وتترك الصبغة لمدة أسبوع لكي تنضج.
2- المحلول الداريء
فوسفات البوتاسيوم (أحادي القاعدة) (KH2PO4) 6.63غم
فوسفات الصوديوم (ثنائي القاعدة) (Na2HPO4) 3.2غم
ماء مقطر 1000سم

طريقة الصبغ:
1- جفف المسحة على الشريحة الزجاجية في الهواء (لا داعي للتثبيت).
2- اصبغ بمحلول صبغة رايت (عد عدد القطرات) لمدة 2-5 دقائق.
3- اضف كمية من المحلول الداريء مساوية لكمية محلول الصبغة.
امزج المحلولين جيدا بواسطة نفخ الهواء على الشريحة. اترك المزيج على الشريحة لمدة 3-7 دقائق.
4- اغسل بالماء بصورة جيدة لإزالة أي ترسبات.
5- اترك الشريحة لتجف في الهواء ثم افحصها.

النتيجة:
 السايتوبلازم أحمر
 النواة زرقاء
ملاحظة: تستعمل هذه الصبغة بصورة خاصة لصبغ الخلايا.

صبغة زيل نيلسن الصامدة للحمض
 Zeil-Neelsen Acid-fast stain
المواد
محلول رقم 1
أساس الفيوكسين 0.3غم
الكحول الإثيلي (95%) 10سم
محلول رقم 2
فينول (بلورات ذائبة) 5سم
ماء مقطر 95سم
يمزج محلول 1 مع محلول 2
3- حامض – الكحول
حامض الهيدروكلويك المركز 3سم
الكحول الإثيلي (95%) 97سم
4- الصبغة المضادة
زرقة المثيلين 0.3غم
ماء مقطر 100سم

طريقة الصبغ:
1- جفف المسحة على الشريحة في الهواء، ثم ثبتها بواسطة تمرير الشريحة بسرعة فوق لهب.
2- اغمر سطح الشريحة بمحلول صبغة الكاربولفيوكسين.
3- سخن بواسطة لهب واطيء محلول الصبغة على سطح الشريحة حتى يبدأ البخار بالتصاعد مع تجنب الغليان، توقف عن التسخين واترك الصبغة على الشريحة لمدة 5 دقائق.
4- اغسل بالماء.
5- ازل اللون بواسطة حامض الكحول. المدة اللازمة لإزالة اللون تعتمد على سمك المسحة، ولكن بصورة عامة فإن المسحات ذات السمك الاعتيادي تحتاج الى حوالي دقيقتين لإزالة اللون منها.
6- اغسل بالماء.
7- اصبغ بالصبغة المضادة لمدة 20-30 ثانية.
8- اغسل بالماء، ثم جفف الشريحة وافحصها.

النتيجة:

 الجراثيم صامدة الحمض
acid-fast bacteria
mycobacterium تظهر حمراء
والأخرى زرقاء.

صبغة كينيون الصامدة الحمض
kinyoun Acid-Fast Stain
المواد
أساس الفيوكسين 4غم
فينول (بلورات مذابة) 8سم
الكحول الإثيلي (95%) 20سم
ماء مقطر 100سم

 ذوب أساس الفيوكسن في الكحول، ثم أضف الماء بصورة تدريجية مع تحريك المزيج. بعد ذلك أضف الفينول، ممكن إذابة الفينول بتسخين المزيج في حمام مائي حار، مزيل اللون والصبغة المضادة مشابهة لتلك التي ذكرت في صبغة زيل نيلسون.

الصبغ:
1- جفف المسحة في الهواء وثبتها بواسطة الحرارة.
2- اصبغ بمحلول الصبغة المذكورة أعلاه لمدة 3-5 دقائق. لا حاجة لتسخين الصبغة.
3- بقية الخطوات مشابهة لتلك التي ذكرت في صبغة زيل نيلسون.

النتيجة:
 الجراثيم صامدة الحمض حمراء.
 الجراثيم الأخرى زرقاء.**

**ملحق رقم (3)**





|  |  |
| --- | --- |
|  |  |