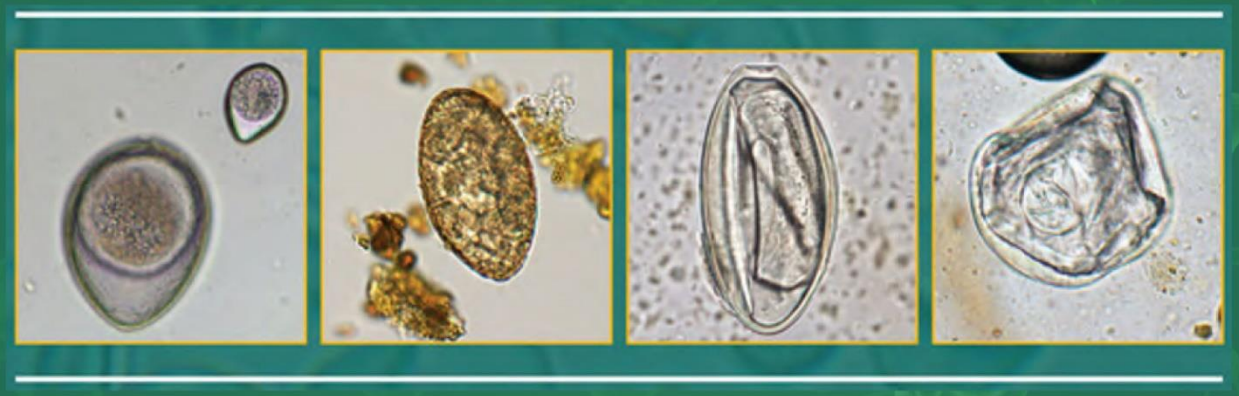
آن زجاک ا گری کانبوی ا سوزان لیتل ا میسون ریچارد

انگل شناسی بالینی دامپزشکی



مروّت گیوی

انتشارات ترجمک

انگل شناسی بالینی دامپزشکی

توجه :

کتاب حاضر حاصل زحمات مروّت گیوی، کارشناس ارشد آموزش داخلی و جراحی می‌باشد. فایل کتاب حاوی اطلاعات DRM (مدیریت حقوق دیجیتال) است. وقتی برای اولین بار فایل را باز می کنید، کد شناسایی کتاب به همراه آدرس IP سیستم شما ذخیره شده و زمانیکه آنلاین شوید، به سرور انتشارات ترجمک انتقال می یابد.

خواهشمند است به حقوق نگارنده و انتشارات ترجمک احترام گذاشته و از توزیع بدون مجوز فایل کتاب اجتناب نمایید. شما با خرید و دانلود این کتاب موافقت نموده اید که اطلاعات فایل DRM به سرور انتشارات ترجمک انتقال یابد و در صورت محرز شدن نقض حقوق صاحب اثر، کلیه خسارات حاصله در طی فرآیند حقوقی و مطابق قانون حمایت حقوق مؤلفان و مصنفان و هنرمندان و ناشران جمهوری اسلامی (مصوب دوازده اسفند ۱۳۶۵ یا بعد از آن) از شما دریافت شود.

از اینکه با عرضه مقرون به صرفه کتاب های الکترونیک و شکوفایی انتشارات ترجمک همیاری می کنید، سپاسگزاریم.

انگل شناسی بالینی

در

دامپزشکی

ترجمه

مروّت گیوی

بهار ۱۴۰۳

سرشناسه	گیوی، مروت، ۱۳۴۷
عنوان و نام پدیدآور	انگل‌شناسی بالینی دامپزشکی/نویسنده [صحیح: ویراستاران] آن زاجیک ... [و دیگران] ؛ مترجم مروت گیوی
مشخصات نشر	همدان، ۱۴۰۳، ترجمک
مشخصات ظاهری	۴۳۳ صفحه مصور
شابک	۹-۵۷-۷۸۵۵-۶۲۲-۹۷۸ ، ۲۵۰۰۰۰۰ ریال
وضعیت فهرست نویسی	فیپا
یادداشت	عنوان اصلی: Veterinary clinical parasitology,9th ed, 2021.
موضوع	انگل‌شناسی دامی بالینی
موضوع	Veterinary clinical parasitology
موضوع	انگل‌شناسی دامی -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	Veterinary parasitology -- Laboratory manuals
شناسه افزوده	زایاک، ا.
شناسه افزوده	Zajac, A.
شناسه افزوده	گیوی، مروت، ۱۳۴۷-، مترجم
شناسه افزوده	
شناسه افزوده	
رده بندی کنگره	SF۸۱۰
رده بندی دیویی	۶۳۶/۰۸۹۶۹۶
شماره کتابشناسی ملی	۹۵۴۸۴۳۴
وضعیت رکورد	فیپا

شناسنامه کتاب

نام کتاب: انگل شناسی بالینی دامپزشکی

نویسنده: آن زاجیک، گری کانبوی، سوزان لیتل، میسون ریچارد

مترجم: مروت گیوی

ناشر: انتشارات ترجمک

صفحه آرایی: انتشارات ترجمک

طراح جلد: محمدحسین گیوی

نوبت چاپ: چاپ اول، ۱۴۰۳

قیمت ایبوک: ۲۵۰۰۰۰ تومان

چاپ: گروه نشر الکترونیک ترجمک

شابک (چاپ): ۹-۵۷-۷۸۵۵-۶۲۲-۹۷۸

شابک (ایبوک): ۶-۵۸-۷۸۵۵-۶۲۲-۹۷۸

تلفن تماس: ۰۹۱۸۱۵۰۶۱۰۰

تارنمای اینترنتی: https://tarjomac.com

ISBN : 978-622-7855-57-9

ISBN : 978-622-7855-58-6

مقدمه

Veterinary Clinical Parasitology, 9th Edition

Anne M. Zajac, Gary A. Conboy, Susan E. Little, Mason V. Reichard

این کتاب یک نسخه جدید از مرجع پیشرو بازار در مورد تشخیص انگل های داخلی و خارجی حیوانات، از جمله پوشش گسترده انگل های خزندگان، پرندگان و سایر گونه های اگزوتیک می باشد.

کتاب انگل شناسی بالینی دامپزشکی (Veterinary Clinical Parasitology)، چاپ نهم، امکان ارجاع سریع و دقیق به انگل های داخلی و خارجی موجود در طیف گسترده ای از حیوانات اهلی و گونه های میزبان حیوانات آزمایشگاهی را فراهم می کند. این کتابچه راهنمای رومیزی کلاسیک با تمرکز بر آزمایش‌ها و اطلاعات مرتبط با فعالیت روزانه دامپزشکی، حاوی تعداد زیادی تصاویر با کیفیت بالا است تا به خوانندگان در تشخیص بیماری های انگلی و شناسایی و درمان انگل‌های مربوطه کمک کند. همیاری متخصصان برجسته پاتوبیولوژی و انگل شناسی دامپزشکی موضوعات مربوط به آزمایش مدفوع جهت تشخیص انگل ها، تشخیص انگل در خون، تشخیص انگل های بندپایان و موارد دیگر را پوشش داده است.

این کتاب که آخرین ادیشن است، حاوی مطالب جامع کاملاً اصلاح شده است، از جمله اطلاعات جدید و بسیط مربوط به آزمایش‌های ایمنی تشخیصی و ملکولی، مطالب اختصاصی انگل ها در مورد مزایا و محدودیت‌های رویه ها و تجهیزات مختلف آزمایش و پوشش خزندگان، پرندگان و سایر حیوانات اگزوتیک و آزمایشگاهی است. بخش های جدید شامل اطلاعات به روز در مورد ضد کرم ها، ضد تک یاخته ها و سایر داروهای ضد انگلی و مطالعات موردی چالش انگیز است و بینشی در مورد موقعیت هایی که شناسایی انگل ها به ویژه دشوار است، ارائه می دهد. این کتاب مرجع بالینی ضروری که تحت نظارت انجمن انگل شناسان دامپزشکی آمریکا (AAVP)[1] منتشر شده است، دارای ویژگی های زیر است:

- تشریح تکنیک های صحیح و هزینه–اثربخش تشخیص عفونت های انگلی در حیوانات
- ارائه اطلاعات واضح و دقیق در مورد توزیع، چرخه زندگی، و اهمیت هر انگل تحت پوشش
- شمول صدها تصویر بالینی رنگی برای تطبیق سریع تصویر و کمک به تشخیص
- ارائه فرمت سیمی برای نگهداری روی میز کار و دسترسی راحت به مطالب
- حاوی محتوای اصلاح شده، از جمله فصل ها و تصاویر جدید، فرمت بهبود یافته، طرح رنگ پیشرفته، و یک وب سایت همراه به روز

[1] American Association of Veterinary Parasitologists

چاپ نهم کتاب انگل شـناسـی بالینی دامپزشـکی، یک منبع ضـروری برای دامپزشـکان، تکنسـین های دامپزشـکی، تشـخیص دهندگان، محققان و دانشـجویانی اسـت که نیاز به یک مرجع به موقع و کارآمد در زمینه شـناسـایی مورفولوژیکی انگل ها در گونه های مختلف جانوری دارند.

افیلیشن نویسندگان

آن زاجک (Anne M. Zajac)، دامپزشک، دکتری حرفه ای انگل شناسی دامپزشکی، استاد گروه علوم زیست پزشکی و پاتوبیولوژی کالج دامپزشکی ویرجینیا–مریلند، ویرجینیا تک، بلکزبورگ، ویرجینیا

گری کانبوی (Gary A Conboy)، دامپزشک، انگل شناس دامپزشکی، استاد گروه پاتوبیولوژی و میکروبیولوژی کالج دامپزشکی آتلانتیک، دانشگاه جزیره پرنس ادوارد، شارلوت تاون، جزیره پرنس ادوارد، کانادا

سوزان لیتل (Susan E. Little)، دامپزشک، دکتری حرفه ای انگل شناسی دامپزشکی، استاد مدعو و پروفسور انگل شناسی دامپزشکی در کالج دامپزشکی، دانشگاه ایالتی اوکلاهما، استیلواتر، اوکلاهما، ایالات متحده آمریکا

میسن ریچارد (Mason V. Reichard)، دکتری حرفه ای انگل شناسی دامپزشکی، کالج دامپزشکی، دانشگاه ایالتی اوکلاهما، استیلواتر، اوکلاهما، ایالات متحده آمریکا

پیشگفتار

اولین ویرایش انگل شناسی بالینی دامپزشکی (Veterinary Clinical Parasitology) در سال ۱۹۴۸ منتشر شد و از آن زمان توسط دانشجویان، دامپزشکان و دیگران به عنوان مکمل در تشخیص عفونت های انگلی استفاده شده است. از سال ۱۹۹۴، تحت نظارت انجمن انگل شناسی دامپزشکی آمریکا (AAVP) با درآمد حاصل از سفر دانشجویان به نشست سالانه AAVP منتشر شده است. این حمایت نه تنها از توسعه بیش از یک نسل از انگل شناسان دامپزشکی حمایت کرده است، بلکه جامعه ای از انگل شناسان را نیز در تولید کتاب مشارکت داده است. ارتباط با AAVP با نسخه نهم ادامه دارد. همچنین، مانند نسخه‌های گذشته، این ویرایش بر روی شناسایی مورفولوژیکی انگل‌ها تمرکز دارد که همچنان به طور گسترده در دامپزشکی استفاده می‌شود و به طور فزاینده‌ای در ترکیب با تکنیک‌های ملکولی یا ایمونولوژیک استفاده می‌شود.

همچنین ویژگی های جدیدی در چاپ نهم وجود دارد: ما فصلی را اضافه کرده ایم که اطلاعات مربوط به ضدانگل های مدرن را خلاصه می کند. به‌علاوه، قبل از عکس‌های انگل‌ها برای هر حیوان خانگی معمولی در فصل ۱، جدولی وجود دارد که درمان‌های تأیید شده توسط سازمان مربوطه ایالات متحده را برای بسیاری از عفونت‌های انگلی لیست می‌کند. ما همچنین یک فصل جدید دیگر به نام معضلات تشخیصی را اضافه کرده ایم. در این فصل سناریوهای بالینی چالش برانگیز و نتایج تشخیصی را ارائه می‌کنیم و به خواننده اجازه می‌دهیم که تشخیص دهد. بحث در مورد هر یک از این سناریوها در وب سایت همراه کتاب موجود است.

آن زاجیک، گری کانبوی، سوزان لیتل، میسون ریچارد

فهرست مندرجات

عنوان **صفحه**

فصل ۱- آزمایش مدفوع برای تشخیص انگل..... ۲

فصل ۲- تشخیص انگل‌های پروتوزوآ و هلمینت در سیستم‌های ادراری، تولیدمثل و پوششی و در چشم ۱۹۹

فصل ۳- شناسایی انگل ها در خون..... ۲۱٤

فصل ٤- تست‌های تشخیصی ایمنی و مولکولی در انگل‌شناسی دامپزشکی..... ۲٤٦

فصل ٥- تشخیص انگل های بندپایان..... ۲٥۷

فصل ٦- انگل های ماهی..... ۳٦۳

فصل ۷- درمان انگل های دامپزشکی..... ۳۹۰

فصل ۸- معضلات تشخیصی..... ٤۰۲

منابع مورد استفاده در کتاب..... ٤۰۹

ایندکس کتاب..... ٤۱۳

فهرست عناوین کتاب

عنوان **صفحه**

فصل ۱- آزمایش مدفوع برای تشخیص انگل..... ۲

گرفتن نمونه مدفوع..... ۲

نگهداری و حمل نمونه های مدفوع ۳

رویه های آزمایش مدفوع..... ۴

فلوتاسیون مدفوع..... ۴

انتخاب و تهیه محلول های فلوتاسیون..... ۴

رویه های شناورسازی..... ۷

اسلایدهای فلوتاسیون..... ۹

رویه های شمارش تخم (آزمایشات کمّی مدفوع)..... ۱۰

سایر رویه های آزمایش مدفوع..... ۱۵

اسمیر مستقیم و اسمیر مدفوع رنگ آمیزی شده..... ۱۵

سدیمانتاسیون مدفوع..... ۱۶

روش های ایمونولوژیک و ملکولی تشخیص انگل..... ۱۸

کنترل کیفیت برای رویه‌های آزمایش مدفوع..... ۱۹

استفاده از میکروسکوپ..... ۱۹

کالیبراسیون میکروسکوپ..... ۲۱

شبه انگل ها و انگل های کاذب..... ۲۳

شناسایی لارو نماتد که با فلوتاسیون مدفوع یا رویه های بائرمن بازیابی شده است..... ۲۷

تکنیک‌های ارزیابی نماتدهای استرانگیلید در حیوانات چرنده..... ۳۳

کشت مدفوع..... ۳۴

شناسایی لاروهای مرحله سوم نشخوارکنندگان و شتر سانان..... ۳۴

شناسایی لاروهای مرحله سوم اسب استرانگیل ۴۰
تست کاهش تعداد تخم در مدفوع (FECRT) ۴۱
شناسایی کرم های بالغ ۴۴
محلول هویر ۴۵
لاکتوفنول ۴۵
انگل های حیوانات اهلی ۴۵
سگ‌ها و گربه‌ها ۴۷
انگل های تک یاخته ای (پروتوزوآ) ۵۱
انگل های هلمینت ۶۲
نشخوارکنندگان و شترسانان ۱۰۵
انگل های تک یاخته ای (پروتوزوآ) ۱۰۷
انگل های هلمینت (کرم ها) ۱۱۷
اسب ها ۱۳۷
تخم هلمینت، لارو و کیست تک یاخته ای یافت شده در مدفوع تازه تخلیه شده اسب ها ۱۳۸
انگل های تک یاخته ای ۱۳۹
انگل های هلمینت ۱۴۱
گراز (خوک) ۱۵۲
تخم هلمینت و کیست های تک یاخته ای یافت شده در مدفوع تازه خوک ۱۵۲
انگل های تک یاخته ای ۱۵۳
انگل های هلمینت ۱۵۷
پرندگان ۱۶۴
انگل های تک یاخته ای ۱۶۴
انگل های هلمینت ۱۷۰
جوندگان و خرگوش ها ۱۸۱
انگل های تک یاخته ای ۱۸۱
انگل های هلمینت ۱۸۳
خزندگان ۱۸۹

فصل ۲- تشخیص انگل‌های پروتوزوآ و هلمینت ها ۱۹۹

تکنیک های بازیابی انگل ۱۹۹
انگل های دستگاه ادراری ۱۹۹
انگل های دستگاه تناسلی ۲۰۰
انگل های هلمینت سیستم پوششی ۲۰۰

تشخیص انگل در سیستم های اداری و سایر سیستم ها ۲۰۱
انگل های سیستم های دیگر (به استثنای بندپایان) ۲۰۵

فصل ۳- شناسایی انگل ها در خون ۲۱٤

شناسایی ایمونولوژیک و ملکولی انگل های خون ۲۱۴
بررسی میکروسکوپیک خون از نظر انگل های تک یاخته ای ۲۱۴
رنگ آمیزی گیمسا ۲۱۶
بررسی میکروسکوپی خون از نظر انگل های نماتود ۲۱۶
آزمایش‌های میکروفیلاریا کرم قلب سگ‌سانان در نمونه‌های خون ۲۱۸
لام مرطوب (وت مونت) ۲۱۸
تست هماتوکریت ۲۱۹
تست نات تعدیل شده ۲۲۰
تست فیلتر ۲۲۱
انگل های خونی سگ ها و گربه ها ۲۲۱
انگل های خونی حیوانات اهلی و اسب ۲۳۲
انگل های خونی پرندگان ۲۴۰

فصل ٤- تست‌های تشخیصی ایمنی و ملکولی ۲٤٦

روش های ایمونودیگنوستیک در انگل شناسی ۲۴۶
روش های تشخیص مولکولی در انگل شناسی ۲۵۱

فصل ٥- تشخیص انگل های بندپایان ۲٥۷

زیر کلاس آکاری (رشک و کنه) ۲۵۷
شناسایی کنه ۲۵۸
شناسایی رشک ۲۹۱
کلاس حشره ۳۱۴
شپش ۳۱۴
کک (راسته سیفوناپترا) ۳۳۱
مگس (راسته دیپترا) ۳۳۸
سایر حشرات ۳۵۸

فصل ٦- انگل های ماهی ۳٦۳

تکنیک های ریکاوری انگل های نابجا ۳۶۴
بیوپسی پوست (اسمیر مخاط) *۳۶۴*
بیوپسی باله *۳۶۴*
بیوپسی آبشش *۳۶۵*
ریکاوری اندوپارازیت ها ۳۶۶
انگل های ماهی *۳۶۶*

فصل ۷- درمان انگل های دامپزشکی ۳۹۰

مقدمه ۳۹۰
ضد کرم ها (انتهلمینتیک) ۳۹۰
ضد کرم های خاص ۳۹۲
برون انگل کش ها (اکتوپارازیتیسایدها) ۳۹۴
درمان تک یاخته ای‌ها ۳۹۸
درمان های غیر سنتی ۴۰۰

فصل ۸- معضلات تشخیصی ۴۰۲

معضل تشخیصی ۱ ..... ۴۰۲
معضل تشخیصی ۲ ..... ۴۰۲
معضل تشخیصی ۳ ..... ۴۰۴
معضل تشخیصی ۴ ..... ۴۰۴
معضل تشخیصی ۵ ..... ۴۰۵
معضل تشخیصی ۶ ..... ۴۰۶
معضل تشخیصی ۷ ..... ۴۰۷
کتابشناسی ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

منابع مورد استفاده در کتاب ۴۰۹

ایندکس کتاب ۴۱۳



فصل یک - آزمایش مدفوع برای تشخیص انگل



فصل ۱
آزمایش مدفوع برای تشخیص انگل

آزمایش مدفوع[1] برای تشـــخیص عفونت های انگلی یکی از رایج ترین رویه‌های آزمایشـــگاهی اســـت که در حرفه دامپزشکی انجام می شود. آزمایش مدفوع که نسبتاً ارزان و غیرتهاجمی است، می‌تواند وجود انگل‌ها را در چندین سیستم بدن نشان دهد. انگل هایی که در دستگاه گوارش سکنی گزیده اند، تخم، لارو یا کیست تولید می کنند که از طریق مدفوع از بدن میزبان خارج می شود. گاهی اوقات، حتی انگل های کرمی بالغ نیز ممکن است در مدفوع دیده شوند، به خصوص زمانی که میزبان مبتلا به التهاب روده کوچک (آنتریت)[2] باشد. تخم‌ها یا لاروهای کرم انگلی از سیستم تنفسی معمولاً با سرفه وارد حلق شده و بلعیده می‌شوند و در مدفوع نیز ظاهر می‌شوند. رشک یا هیره های جرب یا دلمه ممکن است از روی پوست لیسیده یا خورده شوند، بنابراین مسئول ظهور آنها در مدفوع به حساب می آید. بسیاری از اشکال انگلی که در مدفوع مشاهده می‌شوند، ویژگی‌های مورفولوژیکی مشخصی دارند که وقتی با آگاهی ما از میزبان ترکیب شود، برای گونه خاصی از انگل تشخیصی هستند. از سوی دیگر، انگل‌های خاصی تخم‌ها یا اووسیست‌های مشابهی تولید می‌کنند و نمی‌توان آن‌ها را در سطح گونه‌ای شناسایی کرد (به عنوان مثال، بسیاری از تخم‌های نوع استرونژیلید[3] جدا شده از دام). آزمایش مدفوع همچنین ممکن است وضعیت هاضمه را به میزان محدودی نشان دهد، همانطور که بصورت وجود ماهیچه، نشاسته یا قطرات چربی هضم نشده نشان داده می شود.

گرفتن نمونه مدفوع

آزمایش مدفوع بایستی روی مواد مدفوعی تازه انجام شود. اگر نمونه های مدفوع پس از ساعت ها یا روزها قرار گرفتن در محیط به آزمایشگاه ارسال شود، تروفوزوئیت های تک یاخته ای شکننده مرده و ناپدید می شوند. تخم‌های برخی نماتدها می‌توانند در عرض چند روز در هوای گرم از تخم خارج شوند و شناسایی لاروهای نماتد بسیار دشوارتر از تشخیص تخم‌های آشنای گونه‌های معمولی است. همچنین، نماتدهای آزاد به سرعت به نمونه مدفوع روی زمین حمله می کنند و تمایز لاروهای انگل زاده شده از این گونه های آزاد می تواند زمانبر و سخت باشد.

[1] Fecal Examination
[2] Enteritis
[3] Strongylid-Type Eggs

باید به صاحبان حیوانات کوچک آموزش داده شود که بلافاصله پس از مشاهده دفع مدفوع حیوان، حداقل چند گرم مدفوع جمع آوری کنند. این باعث می شود که نمونه گرفته شده با حیوان خانگی مشتری هماهنگی داشته باشد (یعنی نمونه گرفته شده از یک حیوان ولگرد و غیر نباشد) و به جای مدفوع، استفراغ یا مواد دفعی دیگر جمع آوری نشود. برای آزمایش مدفوع نباید به مقدار کمی از مدفوع که از روی ترمومتر (دماسنج) یا لوپ مدفوع قرار داده شده در رکتوم گرفته می شود، اتکا کرد زیرا بسیاری از عفونت هایی که فقط تعداد کمی تخم تولید می کنند، از قلم خواهند افتاد و نادیده گرفته می شوند. اگر نمونه مدفوع بیش از یک یا دو ساعت پس از نمونه گیری برای آزمایش ارسال نشد، باید به مالکان آموزش داده شود که نمونه مدفوع را در یخچال نگهداری کنند.

در حیوانات بزرگ نمونه مدفوع بایستی مستقیماً از رکتوم گرفته شود. این امر به ویژه در مواقعی که شناسایی تک تک حیوانات مورد نیاز است، مهم است. همچنین زمانی که نمونه برای بررسی لارو کرم ریه یا کشت برای شناسایی لاروهای مرحله سوم نیاز است، نمونه های رکتوم لازم است، زیرا نماتدهای زنده آزاد آلوده و لاروهای مرحله اول نماتدهای دستگاه گوارش ممکن است با لارو کرم ریه اشتباه گرفته شوند. در صورت در دسترس نبودن نمونه های رکتوم، باید از صاحبان خواسته شود که بلافاصله پس از مشاهده مدفوع، مدفوع را جمع آوری کنند. فرآیند تکامل و از تخم خارج شدن استرانگیلید را می توان با سرد کردن کند کرد. همچنین با قرار دادن مدفوع جمع‌آوری‌شده در یک کیسه پلاستیکی و تخلیه یا فشرده کردن هوا به بیرون قبل از آب‌بندی کیسه، تکامل را می توان کند کرد.

نگهداری و حمل نمونه های مدفوع

اگر مدفوع جمع‌آوری‌شده ظرف چند ساعت قابل بررسی نباشد، نمونه باید تا زمانی که آزمایش شود در یخچال نگهداری شود. مدفوع نباید منجمد شود، زیرا انجماد می تواند تخم های انگل را مخدوش کند. اگر نمونه ای نیاز به ارزیابی وجود تروفوزوئیت های تک یاخته ای مانند ژیاردیا و تریکوموناداها[1] داشته باشد، باید ظرف ۳۰ دقیقه پس از نمونه گیری، بررسی شود. تروفوزوئیت شکل فعال و تغذیه کننده انگل است و برای بقا در محیط سازگار نیست. بلافاصله پس از دفع از طریق مدفوع می میرد.

دامپزشکان در ایالات متحده به طور فزاینده ای از آزمایشگاه های مرجع برای آزمایش های تشخیصی معمول برای عفونت انگلی استفاده می کنند. دستورالعمل های آزمایشگاهی خاص برای زمان، نگهداری و انتقال نمونه ها به آزمایشگاه های تجاری باید رعایت شود. به طور کلی وقتی مواد مدفوعی تازه برای بررسی به آزمایشگاه دیگری فرستاده می شود باید با بسته بندی سرد بسته بندی شود. در برخی موارد، حفظ نمونه ها ممکن است ترجیح داده شود. تخم‌های هلمینت را می‌توان با حجم ۵ تا ۱۰ درصد فرمالین بافری برابر با حجم نمونه نگهداری کرد. تثبیت فرمالین همچنین بسیاری از ارگانیسم های عفونی دیگر را که ممکن است وجود داشته باشند غیرفعال می کند. تثبیت کننده های ویژه مانند پلی وینیل الکل (PVA)[2]، برای حفظ تروفوزوئیت های تک یاخته ای نیاز است و به طور معمول در دامپزشکی استفاده نمی شود.

اسلایدهای تهیه‌شده از آزمایش‌های فلوتاسیون به خوبی حرکت نمی‌کنند، حتی اگر روکش با لاک ناخن حلقه شده

[1] Giardia and trichomonads
[2] Polyvinyl Alcohol

باشد، زیرا محلول‌های شناورسازی هیپراسموتیک معمولاً تخم‌ها یا لاروهای انگل را ظرف چند ساعت پس از آماده‌سازی لام غیرقابل تشخیص می‌کنند. هرچند اسلایدهای حاصل از آزمایش‌های شناورسازی را می‌توان برای چند ساعت تا چند روز با قرار دادن آنها در یخچال در یک ظرف سرپوشیده حاوی حوله‌های کاغذی مرطوب برای حفظ رطوبت بالا نگهداری کرد. بهتر است برای جلوگیری از خیس شدن بیش از حد آن، میله های اپلیکاتور را زیر لام قرار دهید.

رویه های آزمایش مدفوع

قبل از انجام آزمایشـــات خاص بر روی نمونه مدفوع، باید به ظاهر کلی آن توجه داشـــت. قوام، رنگ و وجود خون یا مخاط ممکن اسـت نشـان دهنده عفونت های انگلی خاص باشـد. به عنوان مثال، بیماری کرم قلابدار در سـگ ها معمولاً مدفوع تیره و قیری رنگ تولید می کند، در حالی که مدفوع اسهالی ناشی از کرم شلاقی ممکن است حاوی مخاط اضافی و خون شفاف باشد. وجود انگل های بالغ یا قطعات کرم نواری نیز باید مورد توجه قرار گیرد.

فلوتاسیون مدفوع

تکنیکی که زیاد در دامپزشکی برای آزمایش مدفوع استفاده می شود، تست فلوتاسیون مدفوع[1] است. این رویه تخم و کیسـت‌های انگل را جمع می‌کند در حالی که آنها را از بقایای زیادی نمونه مدفوع جدا می‌کند. شـناورسـازی مدفوع بر این اصل استوار است که مواد انگلی موجود در مدفوع چگالی کمتری نسبت به محیط شناورسازی مایع دارد و بنابراین به بالای ظرف شناور می‌شوند، جایی که می‌توان آن را برای ارزیابی میکروسکوپی جمع‌آوری کرد. انجام تست‌های فلوتاسیون آسان و ارزان است، اما در محیط های حرفه ای پرمشغله، محلول فلوتاسیون و رویه تست اغلب مورد توجه قرار نمی‌گیرد، علیرغم تأثیر قابل‌توجهی که این انتخاب‌ها می‌توانند بر حساسیت آزمایش فلوتاسیون داشته باشد.

انتخاب و تهیه محلول های فلوتاسیون

برای سـاخت محلول های فلوتاسـیون می توان از مواد مختلف زیادی اسـتفاده کرد. هر چه وزن مخصـوص (SPG)[2] محلول شـناورسـازی بیشـتر باشـد، تنوع تخم‌های انگل شـناور بیشـتر خواهد بود. علاوه بر این، مطالعات نشـان داده‌اند که آزمایش‌های شناورسازی مدفوع تنها بخشی از هر نوع تخم انگل/کیست را در یک نمونه را به دلیل تنوع تخم‌ها، اتصال به باقیمانده‌ها و مانند اینها؛ بازیابی می‌کند. با افزایش SPG، بخش بازیابی شـــده افزایش می‌یابد، که در مواردی که تعداد تخم‌ها در نمونه کم باشـد، مهم اسـت. با این حال، با افزایش SPG، زایدات بیشـتری نیز شـناور می شـوند و خطر آسـیب به تخم ها در محلول هایپراسـموتیک نیز افزایش می یابد. این عوامل دامنه محلول های شـناورسـازی مفید را به SPG حدود ۱.۱۸ تا ۱.۳ محدود می کند. هر دو محلول شناورسازی نمک و شکر معمولاً در انگل‌شناسی دامپزشکی استفاده می‌شوند و فلوتاسـیون را برای انگل‌های معمولی با وزن مخصـوص پایین‌تر از محلول فلوتاسـیون فراهم می‌کنند (جدول ۱-۱). محلول های نمکی به طور گسترده‌ای در روش های فلوتاسیون استفاده می شود. یک محلول فلوتاسیون رایج که در ایالات متحده اسـتفاده می شـود، محلول نیترات سـدیم تجاری موجود اسـت (SPG 1.20). این محلول باعث شـناور شـدن تخم های کرم های رایج و کیسـت های تک یاخته ها می شـود. محلول تجاری یک محلول اشـباع شـده از نیترات سـدیم نیسـت (SPG

[1] Fecal Flotation
[2] Specific Gravity

1.33). اسلایدهای تهیه شده با هر محلول نمکی باید پس از آماده شدن نسبتاً سریع مورد بررسی قرار گیرند زیرا با خشک شدن اسلایدها کریستال ها تشکیل می شوند و ممکن است انگل ها آسیب ببینند و شناسایی آنها را دشوارتر می کند.

محلول سولفات روی (ZnSO4) در SPG حدود 1.2-1.18 یکی دیگر از محلول های شناورسازی نمکی است. SPG برابر 1.18 برای بازیابی ژیاردیا ترجیح داده می شود، اما نسبت بیشتری از سایر انگل ها را در SPG برابر 1.2 بازیابی می کند و احتمالاً بیشتر در این SPG استفاده می شود. این به صورت تجاری در دسترس است و هنگامی که آب طبق دستورالعمل به محلول نمک خریداری شده اضافه می شود، SPG حاصل ۱.۲ می شود.

جدول ۱-۱ وزن مخصوص تقریبی تخم های برخی از کرم های رایج

گونه ها	وزن مخصوص
Ancylostoma caninum	1.06[1]
Toxocara canis	1.09[1]
Toxocara cati	1.10[1]
Trichuris vulpis	1.15[1]
Taenia sp.	1.23[1]
Physaloptera	1.24[1]
Parascaris spp.	1.09[2]
Equine strongyles	1.05[2]
Anoplocephala perfoliata	1.06[2]

Sources: From [1]David E., and Lindquist W. 1982. Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. J. Parasitol. 68:916–919; [2]Norris J., Steuer A. et al. 2018. Determination of the specific gravity of eggs of equine strongylids, *Parascaris* spp., and *Anoplocephala perfoliata*. Vet. Parasitol. 260:45–48.

هنگامی که تشخیص ژیاردیا نیاز است، محلول سولفات روی ۳۳٪ (SPG 1.18) توصیه می شود زیرا باعث تخریب سریع کیست ها در مقایسه با سایر محلول های فلوتاسیون نمی شود و آنها در فرآورده فلوتاسیون به راحتی شناسایی می‌شوند.

محلول‌های اشباع شده کلرید سدیم (SPG 1.20) و سولفات منیزیم (نمک‌های اپسوم، SPG 1.32) کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما می‌توانند به راحتی تهیه شوند، ارزان هستند و در شناور کردن تخم کرم های رایج و کیست‌های تک یاخته‌ای مؤثر هستند.

هیچ یک از این محلول‌های شناورسازی نمکی بطور پایا باعث شناور شدن تخم اکثر ترماتودها، مقداری از تخم‌های کرم نواری و تخم‌ها یا لاروهای نماتد بسیار متراکم نمی شوند.

یکی دیگر از محلول های رایج مورد استفاده در آزمایشات شناورسازی معمول، محلول قند شیتر[1] است (SPG 1.25). به دلیل SPG نسبتاً بالاتر، محلول شیتر نسبت به محلول‌های نمکی معمولی، به‌ویژه کرم‌های نواری و تخم‌های نماتد متراکم‌تر، در بازیابی تخم کرم‌ها کارآمدتر است. علاوه بر این، تخم ها را به سرعت محلول های نمکی تخریب نمی کند. محلول شیتر به طور خاص برای بازیابی اووسیست های کریپتوسپوریدیوم در نمونه های مدفوع توصیه می شود، اما به نظر

[1] Sheather's Sugar Solution

نمی رسد به اندازه محلول ۳۳ درصد ZnSO4 برای تشخیص ژیاردیا موثر باشد. محلول شیتر ارزان و آسان تهیه می شود و همچنین به صورت تجاری در ایالات متحده موجود است، اما چسبناک تر و غلیظ تر از محلول های نمکی است. مزایا و معایب این محلول ها در جدول ۱-۲ نشان داده شده است و دستورالعمل های تهیه آنها در زیر آورده شده است.

جدول ۱-۲ مقایسه محلول های متداول فلوتاسیون

محلول فلوتاسیون	وزن مخصوص	مزایا	معایب
نیترات سدیم ($NaNO_3$) محصول تجاری	۱.۱۸ — ۱.۱۲	تخم و کیست کرم‌ها و تک یاخته های شایع را شناور می کند	تخم بیشتر کپلک ها، بعضی کرم های نواری و نماتدها را شناور نمی کند
$NaNO_3$ اشباع شده	۱.۳۳		
سولفات روی ($ZnSO_4$)	۱.۲ — ۱.۱۸	تخم و کیست‌های کرم‌ها و تک یاخته‌های رایج را شناور می‌کند. برای ژیاردیا و لارو برخی از کرم ریه‌ها ترجیح داده می شود	هنگامی که با SPG حدود ۱.۱۸ استفاده می شود نسبت کمتری از تخم کرم‌های معمولی را بازیابی می کند؛ تخم بیشتر کپلک ها و بعضی از کرم های نواری و نماتد را شناور نمی کند.
کلرید سدیم اشباع شده (NaCl)	۱.۲	تخم و کیست کرم و تک یاخته های شایع را شناور می کند	تخم بیشتر کپلک ها و برخی از کرم های نواری و نماتد را شناور نمی کند.
سولفات منیزیم اشباع شده (نمک های اپسوم)	۱.۳۲	تخم و کیست کرم و تک یاخته های شایع را شناور می کند، SPG بالاتر انگل ها را به طور موثرتری بازیابی می کند	هرچه SPG بالاتر باشد زایدات بیشتری را شناور می کند، تخم بیشتر کپلک ها و برخی از کرم های نواری و نماتد را شناور نمی کند.
محلول قند شیتر	۱.۲۸ — ۱.۲۰	تخم و کیست کرم ها و تک یاخته های شایع را شناور می کند؛ SPG بالاتر انگل ها را به طور موثرتری بازیابی می کند. برای اووسیست های کریپتوسپوریدیوم ترجیح داده می شود. به طور کلی آسیب کمتری نسبت به محلول های نمکی دارد.	تخم بیشتر کپلک ها و برخی از کرم های نواری و نماتد را شناور نمی کند؛ سطوح چسبناکی ایجاد می کند.

گرچه SPG محلول های فلوتاسیون اغلب در عمل اندازه گیری نمی شود، می توان آن را به راحتی با یک هیدرومتر ارزان قیمت از یک شرکت تامین کننده علمی تعیین کرد. یک هیدرومتر به طور نامحدود دوام خواهد داشت و باید بخشی از کنترل کیفیت برای آزمایشگاه دامپزشکی در نظر گرفته شود.

محلول سولفات روی ۳۳٪ (SPG = 1.18)

۱. مقدار ۳۳۰ گرم سولفات روی را با آب ترکیب کنید تا به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسید.
۲. برای دستیابی به SPG برابر ۱.۱۸ می توان آب اضافی یا سولفات روی اضافه کرد. اگر محلول سولفات روی با مدفوع فرمالینه شده استفاده شود، SPG باید به ۱.۲۰ افزایش یابد و SPG برابر ۱.۲ اغلب برای استفاده عمومی ترجیح داده می شود.
۳. SPG را با هیدرومتر چک کنید.

کلرید سدیم اشباع شده (NaCl، SPG 1.2) یا محلول سولفات منیزیم ($MgSO_4$، SPG 1.32)

۱. نمک را به آب لوله کشی گرم اضافه کنید تا زمانی که نمک دیگر به خورد محلول نرود و مازاد آن در ته ظرف ته نشین شود.
۲. برای اطمینان از اینکه محلول کاملاً اشباع شده است، باید اجازه داد تا یک شب در دمای اتاق بماند. اگر کریستال های نمک باقیمانده در طول شب حل شوند، می توان مقدار بیشتری اضافه کرد تا از اشباع بودن محلول اطمینان حاصل شود. نمک سفره حاوی یک ترکیب ضد چسبندگی است که حل نمی شود و نباید با

کریستال های کلرید سدیم باقی مانده اشتباه گرفته شود. نمک ترشی این ترکیب را ندارد.

۳. SPG را با یک هیدرومتر بررسی کنید، بایستی بدانید که SPG محلول های اشباع شده کمی با توجه به دمای محیط متغیر است.

محلول قندی شیتر (SPG 1.2-1.25)

۱. مقدار ۳۵۵ میلی لیتر (۱۲ اونس) آب و ۴۵۴ گرم (۱ پوند) شکر دانه ریز (ساکارز) را با هم ترکیب کنید. شربت ذرت و دکستروز جایگزین مناسبی نیستند.

۲. شکر را با هم زدن روی حرارت کم یا غیرمستقیم (مثلاً نیمه بالایی یک دیگ بخار) در آب حل کنید. اگر ظرف را روی منبع حرارت مستقیم با دمای بالا قرار دهید، ممکن است شکر به جای حل شدن در آب کاراملی شود.

۳. پس از حل شدن شکر و خنک شدن محلول تا دمای اتاق، ۶ میلی لیتر فرمالدئید USP را برای جلوگیری از رشد میکروبی اضافه کنید (۳۰ میلی لیتر فرمالین ۱۰ درصد نیز می توان استفاده کرد، با کاهش حجم آب به ۳۳۰ میلی لیتر).

۴. SPG را با هیدرومتر بررسی کنید.

رویه های شناورسازی

مهم نیست که رویه فلوتاسیون چگونه انجام می شود، اصل یکسان است. پس از مخلوط کردن محلول فلوتاسیون و نمونه مدفوع با هم، مواد با چگالی کمتر در نهایت به سمت بالا شناور می شوند. این فرآیند می تواند با قرار دادن مخلوط برای مدت زمان مشخص روی میز (فلوتاسیون غیرفعال) یا با سانتریفیوژ کردن مخلوط اتفاق بیفتد. سانتریفیوژ کردن باعث می شود که فلوتاسیون بدون توجه به محلول فلوتاسیون مورد استفاده، سریعتر و کارآمدتر اتفاق بیفتد. بسیاری از پزشکان دوست دارند از کیت های فلوتاسیون تجاری مناسب استفاده کنند که ظرفی برای جمع آوری نمونه و انجام آزمایش فراهم می کند. با این حال، راحتی کیت ها با از دست دادن حساسیت در رویه معاینه مدفوع جبران می شود. مقدار کمتری مدفوع استفاده می شود و آزمایش را نمی توان سانتریفیوژ کرد.

افزایش حساسیت رویه سانتریفیوژ کردن، به ویژه در عفونت هایی که شکل تشخیصی انگل ممکن است در تعداد کم وجود داشته باشد (برای نمونه، عفونت های تریکوریس و ژیاردیا[1] در سگ و گربه ها)، مهم است. سانتریفیوژ کردن هنگام استفاده از سولفات روی ۳۳٪ یا محلول شکر نیز بخاطر SPG اندکی کمتر محلول سولفات روی و ویسکوزیته بالای محلول قند ضروری است، که هر دو فرآیند فلوتاسیون را به تاخیر می اندازند. یک مطب دامپزشکی که آزمایش‌های فلوتاسیون را سانتریفیوژ نمی‌کند و بر تکنیک سنتی رومیزی تکیه می‌کند، حساسیت معاینه مدفوع را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد.

رویه فلوتاسیون مدفوع با سانتریفیوژ

این بهترین تکنیک برای تست فلوتاسیون مدفوع استاندارد بدون توجه به نوع محلول فلوتاسیون مورد استفاده است. استفاده از این روش با محلول‌های فلوتاسیون شکر شیتر و سولفات روی ۳۳٪ برای اطمینان از موثر بودن شناورسازی، بسیار مهم است:

۱. مقدار ۳–۵ گرم (حدود ۱ قاشق چایخوری) مدفوع را با مقدار کمی محلول فلوتاسیون در یک لیوان کاغذی

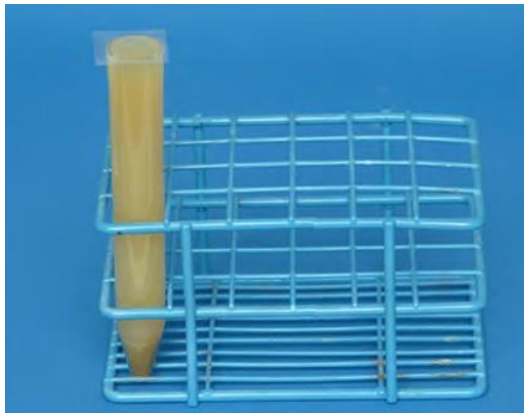
[1] Trichuris and Giardia

یا پلاستیکی مخلوط کنید. مدفوع گربه و مدفوع نشخوارکنندگان کوچک، که بسیار سخت بوده و به راحتی خرد نمی شوند را می توان با هاون و یا آسیاب برقی آسیاب کرد یا اجازه داد در آب خیس شوند، تا نرم تر شوند. اگر به نظر می رسد نمونه حاوی مقدار زیادی چربی یا مخاط است، یک شستشوی اولیه با آب انجام می شود و باید در مرحله ۱ از آب استفاده شود. برای اکثر نمونه های مدفوع دارای ظاهر طبیعی، مرحله شستشو با آب ممکن است حذف شود.

۲. مخلوط مدفوع و محلول فلوتاسیون (یا مدفوع و آب در صورت شستشو با آب) را از میان یک پارچه دو لایه پنیر سازی یا گاز عبور دهید. می توان از صافی چای نیز استفاده کرد.

۳. مخلوط را در یک لوله سانتریفیوژ ۱۵ میلی‌لیتری بریزید. اگر روتور روی سانتریفیوژ زاویه‌دار نباشد (برای نمونه، اگر لوله ها وقتی نمی چرخند، مستقیم آویزان باشند)، لوله سانتریفیوژ را می توان با محلول فلوتاسیون پر کرد تا زمانی که منیسک معکوس تشکیل شود و یک درپوش جلوگیری از ریزش اضافه شود (شکل ۱-۱). لوله با روکش چرخانده می شود. نیروی گریز از مرکز ایجاد شده توسط سانتریفیوژ، درپوش را در جای خود نگه می دارد. اگر سانتریفیوژ روتور زاویه‌دار دارد، لوله را تا حدود ۱۰ تا ۱۲ میلی‌لیتر پر کنید (تا حدی که از ریختن آن جلوگیری شود) و در سانتریفیوژ قرار دهید.

۴. مخلوط را در یک سانتریفیوژ رومیزی حدود ۵ دقیقه با سرعت تقریبی ۵۰۰–۶۵۰ گرم بچرخانید (650 × g معادل ۲۵۰۰ دور در دقیقه در روتور ۴ اینچی است)، صرف نظر از اینکه مدفوع با آب مخلوط شده باشد یا با محلول فلوتاسیون. اگر نمی توان یک نیروی و یا سرعت خاص را تعیین کرد، چرخاندن لوله با همان سرعتی که برای جدا کردن سرم از سلول های خونی استفاده می شود، کافی است. اگر چرخش اولیه شستشو با آب باشد، مایع رویی باید دور ریخته شود، رسوب مجدداً با محلول فلوتاسیون سوسپانسیون شود و مراحل ۳ و ۴ تکرار شود.



شکل ۱-۱ لوله سانتریفیوژ پر شده از محلول فلوتاسیون تا بالا و ورقه پوششی که در تماس با ستون مایع قرار گرفته است.

۵. اجازه دهید سانتریفیوژ بدون استفاده از ترمز متوقف شود. تکان های خفیف ناشی از استفاده از ترمز ممکن است انگل ها را از لایه سطحی خارج کند. اگر ترجیح داده شود، می توان به لوله اجازه داد تا ۵ تا ۱۰ دقیقه دیگر درجا بماند تا بازیابی مواد انگلی که ممکن است در مسیر شناور شدن از طریق ستون مایع به سطح هستند، شناور شده و تعداد آنها به حداکثر برسد.

۶. پس از سانتریفیوژ، روش های مختلفی برای برداشت لایه سطحی مایع حاوی تخم های انگل وجود دارد. اگر لوله در حالی که ورقه درپوش روی آن بوده، چرخانده شده است، درپوش روکش را از روی لوله بردارید و سریع آن را روی لام میکروسکوپ قرار دهید. هنگامی که لوله بدون درپوش روکش چرخانده شده، پس از چرخش لوله را از سانتریفیوژ خارج کرده و در قفسه لوله آزمایش قرار دهید. لوله را با محلول فلوتاسیون اضافی پر کنید تا منیسک معکوس تشکیل شود. یک ورقه درپوش روی لوله قرار دهید و اجازه دهید به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه دیگر بماند قبل از اینکه ورقه درپوش را بردارید و آن را روی یک لام قرار دهید.

روش دیگر، پس از توقف سانتریفیوژ، به آرامی سطح سیال داخل لوله را با یک میله شیشه ای، حلقه میکروبیولوژیک یا پایه یک لوله شیشه ای کوچک لمس کنید و سپس به سرعت میله را برای انتقال قطره یا دو مایع چسبنده به یک اسلاید میکروسکوپ بکشید. این رویه نسبت به گذاشتن ورقه درپوش و انتقال درپوش به لام میکروسکوپ، کارآمدی کمتری دارد.

رویه فلوتاسیون رومیزی (ساده یا انفعالی).

هنگامی که نتوان رویه فلوتاسیون با سانتریفیوژ را انجام داد، محلول نیترات سدیم و نمک اشباع شده را می توان در آزمایش فلوتاسیون روی میز استفاده کرد، اگرچه تعدادی از مطالعات نشان داده اند که این روش به طور قابل توجهی عفونت های انگل کمتری را نسبت به فلوتاسیون با سانتریفیوژ تشخیص می دهد. این تکنیک برای آزمایش با محلول فلوتاسیون سولفات روی ۳۳٪ یا محلول قند توصیه نمی‌شود:

۱. چند گرم (یک قاشق چایخوری) مدفوع را با محلول فلوتاسیون در یک فنجان مخلوط کنید.
۲. مخلوط را با پارچه پنیر یا صافی چای صاف کنید.
۳. آنرا داخل یک لوله آزمایش، ویال قرص یا ظرفی که در کیت تجاری ارائه شده است، بریزید. مقدار کافی مخلوط یا مایع فلوتاسیون اضافی روی آن بریزید تا زمانی که منیسک معکوس در بالای ظرف ایجاد شود. یک ورقه درپوش را روی سطح مایع در بالا قرار دهید.
۴. اجازه دهید فلوتاسیون حداقل ۱۰ دقیقه بماند، ورقه درپوش را بردارید، آن را روی یک اسلاید قرار دهید و بررسی کنید. اگر اجازه داده شود که آزمایش برای مدت طولانی بماند، نمک ممکن است در لبه‌های روکش متبلور شود به طوری که روی لام کاملا صاف قرار نگیرد.

اسلایدهای فلوتاسیون

اسلایدهای فلوتاسیون مدفوع باید با استفاده از عدسی شیئی ×۱۰ میکروسکوپ اسکن شوند (از آنجایی که اکثر میکروسکوپ ها دارای بزرگنمایی قطعه چشمی ×۱۰ هستند، استفاده از عدسی شیئ ×۱۰ بزرگنمایی کلی ×۱۰۰ را فراهم می کند). اگرچه اکثر تخم های کرم را می توان با بزرگنمایی ×۴ تشخیص داد، انگل های تک یاخته ای به راحتی از قلم می افتند، بنابراین از این توان کم نباید برای اسکن استفاده کرد. لنز ×۴۰ باید در مواقع عدم اطمینان در مورد هویت ساختارهای روی لام و برای اسکن اسلایدها از نظر اووسیست های کریپتوسپوریدیوم[1] استفاده شود. در برخی از مراکز، برای صرفه جویی در هزینه ها، از روکش استفاده نمی شود. هرچند اسلایدهای بدون پوشش سریع‌تر خشک می‌شوند، سطح فوکوس صافی ندارند، و نمی‌توان آنها را با لنز ×۴۰ بررسی کرد، در نتیجه برخی از انگل‌ها به اشتباه شناسایی می‌شوند

[1] Cryptosporidium Oocysts

یا به طور کامل از قلم می‌افتند.

رویه های شمارش تخم (آزمایشات کمّی مدفوع)

تکنیک‌های شمارش تخم نیز آزمایش‌های فلوتاسیون هستند و کاربردهای متعددی در حیوانات غذایی و اسب‌ها دارند. آنها را می توان برای ارزیابی میزان همیاری هر یک از حیولنات یا گروه های حیولنات در آلودگی مراتع با انگل ها، ارزیابی اثربخشی درمان دارویی (که در بخش بعدی این فصل مورد بحث قرار می گیرد) و در برخی موارد، برای تعیین سطوح نسبی استعداد هر یک از حیوانات به ابتلای به عفونت انگلی مورد استفاده قرار داد.

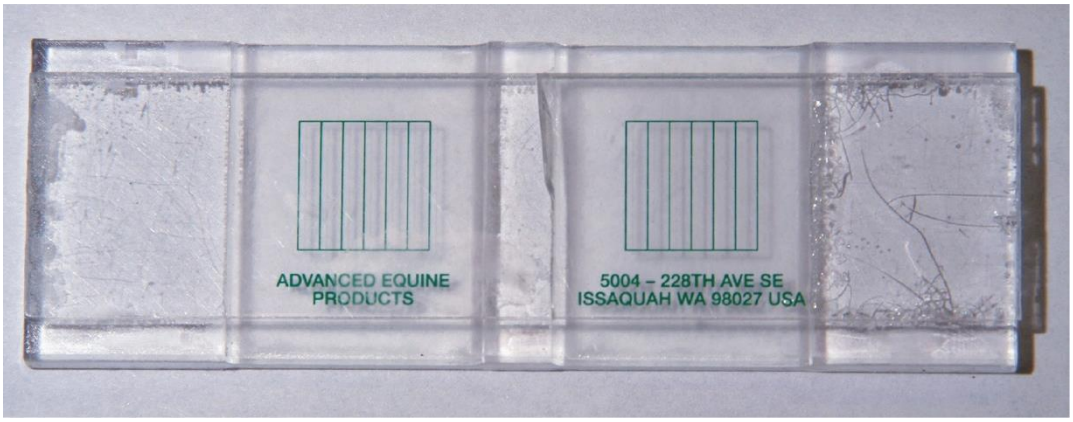
تعداد تخم‌ها در قضاوت در مورد وضعیت بالینی هر یک حیوانات ارزش محدودی دارد زیرا عوامل زیادی بر تولید تخم تأثیر می‌گذارند، از جمله گونه انگل، ایمنی فرد میزبان و مرحله عفونت. همچنین، شمارش‌های انجام‌شده روی نمونه‌های ترکیبی تعدادی از حیوانات ممکن است به‌طور صحیح منعکس کننده میزان انگلی بودن گله نباشد.

ساده ترین تست کمّی از نظر اجرا، تست مک مستر اصلاح شده[1] می باشد. این آزمایش مستلزم استفاده از اسلایدهای قابل استفاده مجدد است (شکل ۱-۲)، که می توانند از عرضه کننده های مختلف (از جمله Chalex Corporation، JA Whitlock & Co. www.mcmaster.co.za ،Focal Point ؛OR [www.vetslides.com] ،Wallowa ،Eastwood ،New South Wales ،Australia [www.whitlock.com.au]) خریداری کرد. ظرفیت محفظه شمارش و تعداد محفظه های شمارش شده در هر نمونه بر سطح تشخیص آزمایش تأثیر می‌گذارد. محلول های نمک اشباع معمولاً به عنوان محلول شناورسازی در این آزمایش استفاده می شود.

همانطور که بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد، آزمایش مک مستر اصلاح شده دارای سطح تشخیص ۲۵ یا ۵۰ تخم در هر گرم (EPG)[2] مدفوع است. این سطح در بسیاری از موقعیت‌ها قابل قبول است، زیرا برنامه‌های کنترل انگل معمولاً نیازی به تشخیص تعداد تخم‌های کمتر ندارند. هرچند صحت تست مک مستر زمانی کاهش می‌یابد که شمارش تخم‌ها کمتر از حد پایین دامنه تشخیصی باشد. زمانی که تعداد تخم‌های کمتر از ۲۰۰ EPG در گروهی از حیوانات در حال ارزیابی انتظار می‌رود (به عنوان مثال در گاو بالغ یا شتر)، یا زمانی که تشخیص دقیق‌تر تعداد کم تخم‌ها مهم است (مثلاً در آزمایش‌های کاهش تعداد تخم‌های مدفوعی [FECRTs])، اصلاح آزمون مناسب است. حساسیت و دقت آزمون مک مستر را می توان با استفاده از اسلایدهایی که امکان بررسی مقادیر بیشتری از مخلوط تخم /محلول شناورسازی را فراهم می سازد یا با شمارش مقادیر اضافی از نمونه بهبود بخشید.

بطور بدیل، رویه های دیگری که دامنه تشخیصی پایین‌تری دارند را می‌توان استفاده کرد، از جمله آزمایش فلوتاسیون قند ویسکانسین (روش سانتریفیوژ دوگانه) یا آزمایش شمارش تخم استول اصلاح شده. این رویه‌ها امکان تشخیص کمتر از ۱۰ EPG در مواد مدفوعی را فراهم می سازد، اما انجام آنها زمانبر است. رویه دیگر تست مینی فلوتاک[3] است که در اروپا ایجاد شده است. مطالعات متعددی دقت و صحت بالاتر مینی–فلوتاک در مقایسه با تست‌های مک مستر و ویسکانسین را نشان داده‌اند، اما فعلا بطور محدود در دسترس است و عمدتاً در ایالات متحده در کارهای تحقیقات استفاده می شود.

[1] Modified McMaster Test
[2] Eggs Per Gram
[3] Mini-FLOTAC Test



شکل ۱-۲ اسلاید مک مستر مورد استفاده در روش مک مستر اصلاح شده برای شمارش کمّی تخم ها

یکی دیگر از تست‌های تجاری موجود برای تعیین تعداد تخم‌های مدفوع اسب، پاراسایت[1] است (Lexington, KY [www.parasightsystem.com]). این سیستم شمارش تعداد تخم استرانگیل اسب و گونه های پاراسکاریس را فراهم می کند. یک نمونه مدفوع اسب با معرف ها مخلوط می شود و از تصویربرداری فلورسانس با یک الگوریتم شمارش نرم افزاری برای تولید شمارش تخم ها در مدفوع استفاده می شود.

صرف نظر از روشی که برای شمارش انگل ها استفاده می شود، مهم ترین عنصر ثبات و یکنواختی است. هر مرحله از رویه باید برای هر نمونه به روشی مشابه انجام شود.

تست مک مستر اصلاح شده

۱. برای نشخوارکنندگان، ۴ گرم از مواد مدفوعی را با ۵۶ میلی لیتر محلول فلوتاسیون ترکیب کنید تا حجم کل ۶۰ میلی لیتر به دست آید. این آزمایش همچنین می تواند با ۲ گرم مدفوع و ۲۸ میلی لیتر محلول فلوتاسیون زمانی که فقط مقادیر کمی مدفوع در دسترس است انجام شود. برای اسب ها، در ایالات متحده استفاده از ۴ گرم مدفوع و ۲۶ میلی لیتر محلول فلوتاسیون استاندارد است. برای محاسبات اصلاح شده به تبصره ۱ زیر مراجعه کنید. ترازوهای الکترونیکی قابل حمل که با فواصل ۰.۱ گرمی توزین می کنند، به طور گسترده در دسترس و ارزان هستند. اگر روشی برای توزین مدفوع در دسترس نباشد، می توان از افزودن پهن به محلول فلوتاسیون اندازه گیری شده تا رسیدن به حجم نهایی مطلوب نیز استفاده کرد (به عنوان مثال، پهن حیوان را به ۲۶ میلی لیتر مایع به حجم کل ۳۰ میلی لیتر اضافه کنید). این روش با مقایسه پهن اسب یا گاو با پهن پلت شده نشخوارکنندگان کوچک یا شترسانان دقیق تر است.

۲. آن را خوب مخلوط کنید و با پارچه پنیر یا صافی چای صاف کنید. لازم نیست مخلوط صاف شود، اما اگر قطعات بزرگ مدفوع و مواد برداشته شود، خواندن اسلاید بسیار آسان تر خواهد بود. یک جایگزین برای از صافی رد کردن، استفاده از پیپت فیلتر برای انتقال مواد به محفظه شمارش است (پیپت با مش سیمی ۱۲ سوراخ در سانتی متر در انتهای آن از JA Whitlock & Co. [www.whitlock.com.au] موجود است).

۳. فوراً هر محفظه اسلاید مک مستر را با استفاده از یک پیپت یا سرنگ با مخلوط پر کنید. کل محفظه باید پر

[1] Parasight

شود، نه فقط قسمت زیر شبکه. در صورت وجود حباب های بزرگ هوا، مایع را خارج کرده و دوباره پر کنید.

۴. اجازه دهید اسلاید حداقل ۵ دقیقه قبل از آزمایش بی حرکت بماند تا فرآیند فلوتاسیون انجام شود. تحقیقات محدودی در مورد حداکثر زمان مجاز برای بی حرکت رها کردن اسلایدها قبل از خواندن انجام شده است و هیچ توصیه استانداردی وجود ندارد. به نظر می رسد که سکون اسلایدها به مدت یک ساعت نتایج را تغییر نمی دهد.

۵. با لنز ×۱۰ به اسلاید نگاه کنید و روی لایه بالایی که حاوی حباب های هوا است، تمرکز کنید. در این سطح، خطوط شبکه نیز در کانون توجه قرار خواهند گرفت. تخم‌ها، اووسیست‌ها و سایر مراحل انگل را در هر خط دو محفظه بشمارید. هر نوع انگل باید جداگانه شمارش شود. در برخی موارد، تخم‌ها را می‌توان بر اساس جنس یا احتمالاً گونه‌ها (مانند استرانگیلوئیدها، تریکوریس و نماتودیروس[1]) شناسایی کرد، در حالی که بقیه باید به عنوان دسته‌ای از انگل‌ها (کوکسیدیا، تخم‌های استرانگیلوئید) در نظر گرفته شوند.

برای تعیین تعداد EPG انگلی مدفوع، شمارش را به هر دو اتاقک از نظر هر انگل اضافه کنید. پر استفاده ترین لام‌های مک مستر در ایالات متحده طوری کالیبره شده‌اند که تعداد تخم‌های شمارش شده در یک محفظه نشان‌دهنده تعداد موجود در ۰.۱۵ میلی‌لیتر مخلوط مدفوع است. اگر هر دو محفظه شمارش شوند و نتایج اضافه شوند، مجموع تعداد تخم‌های موجود در ۰.۳ میلی‌لیتر را نشان می‌دهد که برای مثال، ۱/۲۰۰ از حجم کل ۶۰ میلی‌لیتر است. بنابراین، تعداد تخم های شمارش شده باید در ۲۰۰ ضرب شود. اما اگر در مجموع از ۴ گرم مدفوع در آزمایش استفاده شده باشد، نتیجه باید بر ۴ تقسیم شود تا تعداد EPG مدفوع به دست آید. ضرب در ۲۰۰ و تقسیم بر ۴ برابر است با ضرب تعداد تخم های شمارش شده در ۵۰. بنابراین، هر تخم مشاهده شده نشان دهنده ۵۰ EPG در شمارش نهایی است. همان سطح تشخیص را می توان با استفاده از ۲ گرم ماده مدفوعی و ۲۸ میلی لیتر محلول فلوتاسیون به دست آورد. ممکن است هنگام ارزیابی بره های کوچک یا بچه ها، مقدار کمتر مدفوع ترجیح داده شود.

نکات بیشتر

۱. اگر سطح تشخیص ۲۵ EPG مورد نظر است، آزمایش مک مستر باید با ۴ گرم مدفوع و ۲۶ میلی لیتر محلول فلوتاسیون انجام شود (نتایج سپس در ۱۰۰ ضرب و بر ۴ تقسیم می شوند همانطور که قبلاً توضیح داده شد). سایر ترکیبات پهن و محلول فلوتاسیون نیز با محاسبات مناسب با استفاده از فرمول قابل استفاده است:

$$egg/g = [no.egg\ counted \times (T/V)]/F$$

که در آن T = حجم کل مخلوط مدفوع/ محلول فلوتاسیون، V = حجم نمونه مورد بررسی در لام، و F = گرم مدفوع استفاده شده.

۲. اگر مدفوع پلت شده خیلی سفت است، می توان ابتدا ۲ تا ۵ میلی لیتر آب اضافه کرد و حداقل به مدت یک ساعت رها کرد تا پهِن نرم شوند. سپس محلول فلوتاسیون به پهن نرم شده اضافه می شود (حجم محلول فلوتاسیون به اندازه مقدار آبی که برای نرم کردن مدفوع استفاده می شود، کاهش می یابد).

۳. برای همگن و یکدست سازی مدفوع و مایع می توان از روش های مختلفی استفاده کرد. به عنوان یک بدیل برای مخلوط کردن توسط زبانه تیغه یا ظروف دیگر، برخی آزمایشگاه ها از همزن مکانیکی یا دستی آشپزخانه برای

[1] Strongyloides, Trichuris, and Nematodirus

همگن کردن مدفوع و محلول آب/فلوتاسیون استفاده می کنند. تکان دادن پهن و مایع در یک شیشه با دانه های شیشه ای نیز استفاده شده است، اما همانطور که قبلاً گفته شد، هر روشی که استفاده می شود، باید در همه نمونه ها بصورت یکسان استفاده شود.

۴. در یک رویه دیگر برای تست مک مستر، مدفوع ابتدا با آب مخلوط شده، صاف شده و سانتریفیوژ می شود و مایع رویی دور ریخته می شود. محلول فلوتاسیون برای تعلیق مجدد رسوب اضافه می شود و مخلوط می شود و مخلوط برای پر کردن محفظه های شمارش استفاده می شود. به عنوان مثال، ۳ گرم مدفوع با ۴۲ میلی لیتر آب مخلوط می شود، صاف می شود و مایع برای پر کردن یک لوله سانتریفیوژ ۱۵ میلی لیتری استفاده می شود، که سپس در ۶۵۰-۳۰۰ × g به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ می شود. سپس مایع رویی دور ریخته می شود و محلول فلوتاسیون برای پر کردن تا حد لوله اضافه می شود که یا تکان داده می شود یا هم زده می شود تا رسوب مجدداً معلق شود. محلول فلوتاسیون اضافی برای پر کردن لوله اضافه می شود و محفظه شمارش پر می شود. اگر تخم‌ها در حجم ۰.۳ میلی‌لیتر شمارش شوند، تعداد تخم‌های مشاهده شده در ۵۰ ضرب می‌شود تا تعداد تخم‌ها در هر گرم به دست آید. EPG همچنین می تواند با استفاده از فرمول شرح داده شده در یادداشت ۱ محاسبه شود. این رویه موثرترین روش برای کاهش ضایعات محلول است اما زمان مورد نیاز برای انجام هر آزمایش را افزایش می دهد.

مینی فلوتاک

دستگاه Mini-FLOTAC و دستگاه Fill-FLOTAC که با هم در روش mini-FLOTAC استفاده می‌شوند، در آمریکای شمالی از دانشگاه جورجیا در دسترس هستند. آزمایش باید همانطور که در بروشور ارائه شده به همراه دستگاه تست توضیح داده شده، انجام شود. این روش عموماً نسبت به روش مک مستر اصلاح شده اولیه زمان‌برتر است، اما صحیح تر و دقیق‌تر است.

تست شمارش تخم ویسکانسین، کورنل ویسکانسین (رویه سانتریفیوژ دوگانه).

آزمایش شمارش تخم ویسکانسین[1] یا تست فلوتاسیون با سانتریفیوژ دوبله[2] برای تعیین کمیت تخم‌ها در مواقعی که انتظار می‌رود EPG پایین باشد، استفاده می‌شود. برخلاف آزمایش مک مستر، که تخم‌ها از بخشی از مخلوط مدفوع و محلول فلوتاسیون شمارش می‌شوند، محصولات تست ویسکانسین تخم‌ها را از کل مخلوط نمونه مدفوع/محلول فلوتاسیون جمع‌آوری می‌کند. از آنجایی که شمارش دقیق تخم‌های متعدد روی یک اسلاید بدون شبکه بسیار زمان‌بر و دشوار است، این آزمایش برای بسیاری از موقعیت ها که نیاز به شمارش کمّی است مناسب نیست. هر نوع محلول فلوتاسیون را می توان در این آزمایش استفاده کرد:

۱. مقدار ۱ تا ۵ گرم مدفوع و ۱۲-۱۵ میلی لیتر آب را در یک فنجان ترکیب کنید. آنرا مخلوط کنید و در یک فنجان دیگر صاف کنید، فنجان اول را با ۲ تا ۳ میلی لیتر آب بشویید و آبکشی کنید و مایع را در آن صاف کنید. داخل یک لوله سانتریفیوژ ۱۵ میلی لیتری بریزید.
۲. به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در ۶۵۰-۳۰۰ × g سانتریفیوژ (به درستی متعادل) کنید.
۳. پس از چرخش، مایع رویی را دور بریزید و پلت را مجدداً در محلول فلوتاسیون معلق کنید.
٤. یا لوله را با یک در پوشش در جای خود بچرخانید یا اجازه دهید پس از چرخش، همانطور که برای روش

[1] Wisconsin Egg-Counting Test
[2] Double Centrifugation Flotation Test

فلوتاسیون سانتریفیوژی توضیح داده شد، بیشتر انکوبه کنید.

۵. در پوش را بردارید و روی یک لام شیشه ای قرار دهید.
۶. با عدسی شیئی با بزرگنمایی ×۱۰ بررسی کنید.
۷. تعداد هر نوع تخم انگل/کیست دیده شده را بشمارید و ثبت کنید، اسلاید را به طور سیستماتیک اسکن کنید و تخمک ها یا کیست های هر گونه یا گروه انگل را جداگانه بشمارید. باید مراقب بود که هر میدان میکروسکوپی روی درپوش یک بار و فقط یک بار بررسی شود تا هیچ تخمکی از قلم نیفتد یا دو بار شمارش نشود.
۸. این تکنیک امکان کمّی سازی کمتر از یک EPG مدفوع را هم فراهم می کند.

نکات بیشتر

۱. در صورت تمایل می توان شستشوی اولیه با آب را حذف کرد و نمونه را مستقیماً با محلول فلوتاسیون مخلوط کرد و سپس سانتریفیوژ کرد.
۲. بطور بدیل، ۲۲ میلی لیتر محلول فلوتاسیون با ۵ گرم مدفوع مخلوط می شود و مخلوط حاصل بین دو لوله تقسیم می شود. این اصلاح دقت عمل را افزایش می دهد.

تست استول تعدیل شده

بسته به سطح تشخیص مورد نظر، نسخه های تعدیل شده زیادی از تست استول وجود دارد، از قبیل: آزمون مک مستر، رویه اصلاح شده شمارش تخم استول بر اساس تعیین تعداد تخم‌های موجود در قسمتی از مخلوط مدفوع/محلول فلوتاسیون آماده شده. در این رویه می توان از هر یک از محلول های فلوتاسیون مدفوع را استفاده کرد.

۱. پنج گرم مدفوع و ۲۰ میلی لیتر آب را در یک فنجان ترکیب کنید.
۲. با یک دوغاب مخلوط کنید و ۱ میلی لیتر از مخلوط را به یک لوله سانتریفیوژ منتقل کنید. اگر مخلوط صاف نشده باشد، برای انتقال مخلوط به یک پیپت صافی با دهانه گشاد یا مشبک نیاز است.
۳. لوله را با محلول فلوتاسیون پر کنید.
۴. لوله را در سانتریفیوژ قرار دهید و محلول فلوتاسیون را اضافه کنید تا یک هلال معکوس جزئی تشکیل شود.
۵. یک ورقه درپوش روی دهانه لوله قرار دهید. باید بدون ایجاد سرریز با مخلوط تماس پیدا کند.
۶. با دور g × 650–300 (به درستی متعادل) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
۷. درپوش را بردارید و روی یک لام شیشه ای قرار دهید.
۸. با لنز شیئی ×۱۰ بررسی کنید.
۹. تعداد هر نوع تخم/کیست انگل مشاهده شده را شمرده و ثبت کنید، اسلاید را به طور سیستماتیک اسکن کنید و تخم ها یا کیست های هر گونه یا گروه انگل را به طور جداگانه بشمارید. باید مراقب بود که هر میدان میکروسکوپی روی درپوش یک بار و فقط یک بار بررسی شود تا هیچ تخمی از قلم نیفتد یا دو بار شمارش نشود.

در این آزمایش، تمام تخم های موجود در ۱ میلی لیتر از مخلوط محلول مدفوع/فلوتاسیون پس از سانتریفیوژ شمارش می شوند. این نشان دهنده ۱/۲۵ حجم مخلوط است، بنابراین تعداد تخم های شمارش شده ضربدر ۲۵ نشان دهنده تعداد کل تخم های موجود است، اما باید بر ۵ (گرم مدفوع استفاده شده) تقسیم شود تا EPG حاصل شود. در این شرایط فاکتور ضرب ۵ و حداقل حساسیت تست ۵ EPG است. اگر حجم مایع اضافه شده به مدفوع در مرحله اول ۴۵ میلی لیتر باشد، فاکتور ضرب نهایی ۱۰ خواهد بود.

برای اطلاعات بیشتر در مورد روش های شمارش کمّی تخم، به منابع وروکای و همکاران[1] (۲۰۲۰)، نیلسن و راین مایر[2] (۲۰۱۸)، تیلور و همکاران[3]. (۲۰۱۵)، کولز و همکاران[4] (۲۰۰۶)، و وزارت کشاورزی، شیلات و مواد غذایی (۱۹۸۶) مراجعه کنید.

سایر رویه های آزمایش مدفوع

پروسیجرهای زیر برای شناسایی عفونت های انگلی خاص استفاده می شود.

اسمیر مستقیم و اسمیر مدفوع رنگ آمیزی شده

اسمیر مستقیم[5] برای شناسایی تروفوزوئیت های تک یاخته ای (ژیاردیا، تریکومونادها، آمیب ها و غیره) یا سایر ساختارهایی که کم شناور هستند یا به راحتی توسط محلول های فلوتاسیون مخدوش می شوند، استفاده می شود. چون از مواد مدفوع بسیار کم استفاده می شود، حساسیت این آزمایش کم است. برای آزمایشات روتین مدفوع توصیه نمی شود:

۱. مقدار بسیار کمی از مدفوع را با یک قطره سالین بر روی لام میکروسکوپ مخلوط کنید تا لایه ای ایجاد شود که از طریق آن همانند روزنامه خوانده شود. باید از سالین استفاده کرد زیرا آب تروفوزوئیت های تک یاخته ای را تخریب می کند.
۲. برای کنار زدن تکه های بزرگ دبریس به کناره ها و قرار دادن ورقه روکش روی لام از یک سرپوش استفاده کنید. با بزرگنمایی ×۱۰ و ×۴۰ بررسی کنید. لنز ×۱۰۰ (غوطه ور در روغن) را نمی توان به طور موثر در اسمیر مدفوع استفاده کرد.
۳. اگر لایه مدفوع بیش از حد ضخیم باشد، مشاهده تک یاخته های کوچک و بی رنگ در حال حرکت در میدان دید غیرممکن خواهد بود. حرکت مشخصه اصلی است که امکان تشخیص تروفوزوئیت ها را در اسمیر مدفوع تازه فراهم می کند. یک قطره ید لوگول ساختارهای داخلی کیست های تک یاخته ای را نمایان تر می کند اما تروفوزوئیت های موجود را نیز از بین می برد. برای به حداکثر رساندن کاربرد این آزمایش، بهتر است قبل از افزودن ید، به یک اسمیر بدون رنگ نگاه کنید.

اسمیر مدفوع را می توان برای شناسایی تک یاخته های روده رنگ آمیزی نیز کرد. برای شناسایی کریپتوسپوریدیوم می توان از چندین رنگ از جمله رنگ های Ziehl–Neelsen، Kinyoun، carbol-fuchsin و Giemsa استفاده کرد. از رنگ آمیزی تریکروم در پزشکی انسانی برای تشخیص کیست ژیاردیا استفاده می شود. با این حال، به طور کلی، رنگ ها به طور گسترده در رویه های دامپزشکی استفاده نمی شوند و برای شناسایی ارگانیسم های انگلی نیاز نیستند. برای جزئیات انجام این رنگ آمیزی ها، باید به یک متن استاندارد در مورد تشخیص انگل شناختی انسانی[6] مراجعه شود.

[1] Verocai et al.
[2] Neilsen and Reinemeyer
[3] Taylor et al.
[4] Coles et al.
[5] Direct Smear
[6] Human Parasitologic Diagnosis

سدیمانتاسیون مدفوع

از رویه رسوب یا سدیمانتاسیون مدفوع[1] برای جداسازی تخم‌های فلوکس، آکانتوسفالان‌ها و برخی کرم‌های نواری و نماتدهایی که تخم‌های آنها به آسانی در محلول‌های شناور معمولی شناور نمی‌شوند، استفاده می‌شود. در آزمایش رسوب ساده، آب لوله کشی با مدفوع ترکیب شده و اجازه داده می شود تا قبل از خارج شدن مایع رویی، برای مدت کوتاهی ته نشین شود. اینکار امکان حذف ذرات ریز را فراهم می‌کند، اما بر خلاف آزمایش فلوتاسیون، آزمایش‌های رسوبی توانایی تمرکز محدودی دارند. اگر آزمایش رسوب سانتریفوژی با استفاده از اتیل استات انجام شود، می توان چربی و مخاط را از نمونه مدفوع خارج کرد. متأسفانه اتیل استات سمی و بسیار قابل اشتعال است. باید در یک کابینت نسوز نگهداری شود و فقط در مکان هایی با تهویه مناسب استفاده شود. جایگزین اتیل استات، Hemo-De است که از طریق شرکت علمی فیشر (www.fischerscientific.com) در دسترس است، که به طور کلی به عنوان یک ترکیب بی خطر در نظر گرفته می شود و به نظر می رسد نتایجی معادل در یک روش سدیمانتاسیون سانتریفیوژی ارائه می دهد (نیمستر و همکاران[2] ۱۹۸۷ را ببینید).

دستگاه Flukefinder یک دستگاه تجاری موجود برای انجام آزمایش‌های رسوب‌گذاری در آزمایشگاه است. از چندین صفحه برای حذف سریع تکه های دبریس مدفوع استفاده می کند. این دستگاه در انجام تست های معمول مدفوع از نظر فلوک بسیار مفید است. اطلاعات مربوط به Flukefinder را می توان در www.flukefinder.com به دست آورد.

تست رسوب گذاری ساده

۱. حدود ۱۰۰ میلی لیتر آب را با حدود ۱۰ گرم مدفوع مخلوط کرده، آن را صاف کرده و در یک بشر یا ظرف دیگری بریزید.
۲. اجازه دهید مخلوط به مدت ۱ ساعت بماند و سپس مایع رویی را تخلیه کنید.
۳. آب بیشتری اضافه کنید، مخلوط کنید و پروسیجر سدیمانتاسیون را تکرار کنید.
۴. مخلوط باقیمانده را هم بزنید و چند قطره روی لام میکروسکوپ قرار دهید. در صورت تمایل، یک قطره متیلن بلو ۰.۱٪ اضافه کنید. متیلن بلو پس‌زمینه را آبی رنگ می‌کند، اما تخم‌های فلوک را که با رنگ قهوه‌ای مایل به زرد مشخص می‌شود، رنگ نمی‌کند.
۵. با سرپوش اسلاید را بپوشانید و با استفاده از لنز شیئی ×۱۰ اسکن کنید.

مقدار کمتر مدفوع و آب را نیز می توان استفاده کرد، در یک لوله آزمایش ریخت و بین مراحل تخلیه به مدت ۳ تا ۵ دقیقه رها کرد. اضافه کردن یک قطره صابون ظرفشویی به آب مورد استفاده در آزمایش به آزادسازی تخم‌ها از دبریس‌های اطراف کمک می‌کند.

تست سدیمانتاسیون با سانتریفیوژ

۱. یک گرم مدفوع را با حدود ۱۰ میلی لیتر فرمالین بافر ۱۰ درصد یا آب مخلوط کنید. مخلوط را در یک لوله سانتریفیوژ ۱۵ میلی لیتری (درپوش دار) بریزید تا یک دوم تا سه چهارم پر شود.
۲. اتیل استات (به بحث قبلی در مورد ایمنی مراجعه کنید) یا Hemo-De را اضافه کنید تا لوله تقریباً پر شود. از آنجا که حلال های آلی ممکن است برخی از لوله های سانتریفیوژ پلاستیکی را حل کنند، توصیه می شود برای انجام

[1] Fecal Sedimentation
[2] Neimester et al.

این آزمایش از لوله های شیشه ای یا پلی پروپیلن استفاده شود.

۳. درپوش لوله را گذاشته و تقریباً ۵۰ بار تکان دهید.

۴. به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در حدود g × 500 سانتریفیوژ کنید (مانند رویه فلوتاسیون سانتریفیوژی).

۵. هنگامی که لوله از سانتریفیوژ خارج می شود، دارای سه لایه خواهد بود: (۱) یک لایه بالایی حاوی اتیل استات، چربی و زایدات. (۲) یک لایه میانی حاوی فرمالین یا آب و ذرات ریز و (۳) یک لایه رسوب زیرین. با استفاده از یک چوب اپلیکاتور، تکه های دبریس بالایی را که به دو طرف لوله می چسبد، شل کنید، سپس مایع رویی را تخلیه کنید و فقط رسوب پایینی باقی بماند.

۶. رسوب را مجدداً در چند قطره آب یا فرمالین معلق کنید، یک یا دو قطره از رسوب را روی یک لام قرار دهید، ورقه اسلاید روی لام بگذارید و با میکروسکوپ شیئی ×۱۰ بررسی کنید.

تست ببرمن (بائرمن)

آزمایش بائرمن[1] (تست بائرمن) برای جداسازی لارو از نمونه های مدفوع استفاده می شود و اغلب برای تشخیص عفونت کرم ریه استفاده می شود. *تازه بودن نمونه مدفوع بسیار مهم است.* اگر مدفوع یک حیوان در حال چرا بررسی شود و از نمونه قدیمی استفاده شود، ممکن است تخم‌های استرونگیلید یا استرانگیلوئید[2] از تخم بیرون بیایند، یا نماتدهای آزاد به نمونه حمله کنند که شناسایی نماتد را بسیار دشوارتر می‌کند. در نمونه‌های حیوانات کوچک، تخم‌های کرم قلاب‌دار ممکن است خیلی سریع از تخم خارج شوند و با لارو کرم ریه یا استرانگیلوئیدها اشتباه گرفته شوند. کوپروفاژی و شکار همچنین می‌تواند منجر به حضور لارو انگل‌های کاذب در فرآورده آزمایش بائرمن شود. برای بحث در مورد شناسایی لاروهای نماتد به بخش «شناسایی لاروهای نماتد بازیابی شده با فلوتاسیون مدفوع یا رویه بائرمن» در این فصل مراجعه کنید.

یکی دیگر از ملاحظاتی که باید هنگام استفاده از تست بائرمن در تشخیص لحاظ شود، این است که کرم‌های ریه متااسترانگیلوئید معمولاً الگوهای ریزش لارو نامنظم را نشان می‌دهند. تغییرات چشمگیر روز به روز در ریزش لارو احتمال نتایج منفی کاذب تست مدفوع بائرمن را افزایش می دهد. بنابراین، تنها یک نتیجه منفی بائرمن شواهد ضعیفی برای رد عفونت کرم ریه در حیوانی است که علائم بیماری تنفسی را نشان می دهد. حساسیت تشخیص با انجام چندین (حداقل ۳) تست بائرمن افزایش می یابد.

آزمایش بائرمن به تجهیزاتی برای نگهداری نمونه مدفوع در آب نیاز دارد تا لاروها بتوانند به بیرون مهاجرت کرده و جمع آوری شوند. اکنون می توان این کار را با استفاده از یک لیوان شراب پلاستیکی با ساقه توخالی به راحتی انجام داد. در صورت عدم وجود لیوان های یکبار مصرف شراب، می توان از قطعه اصلی بائرمن استفاده کرد. این قطعه شامل یک قیف است که به یک پایه فلزی بسته شده است. یک قطعه لوله کوتاه با یک گیره به انتهای قیف متصل شده است. لاروهای موجود در مدفوع که در کاسه لیوان شراب یا قیف قرار می گیرند از نمونه خارج می شوند و در ساقه توخالی یا لوله بالای گیره می افتند، جایی که به راحتی می توان آنها را جمع کرد (شکل ۱–۳):

۱. حداقل ۱۰ گرم مدفوع را در یک پارچه پنیر دو لایه قرار دهید. پارچه پنیر را در اطراف نمونه جمع کنید تا کاملا محصور شود. از یک نوار لاستیکی برای بستن پارچه استفاده کنید و دو چوب اپلیکاتور، یک مداد یا

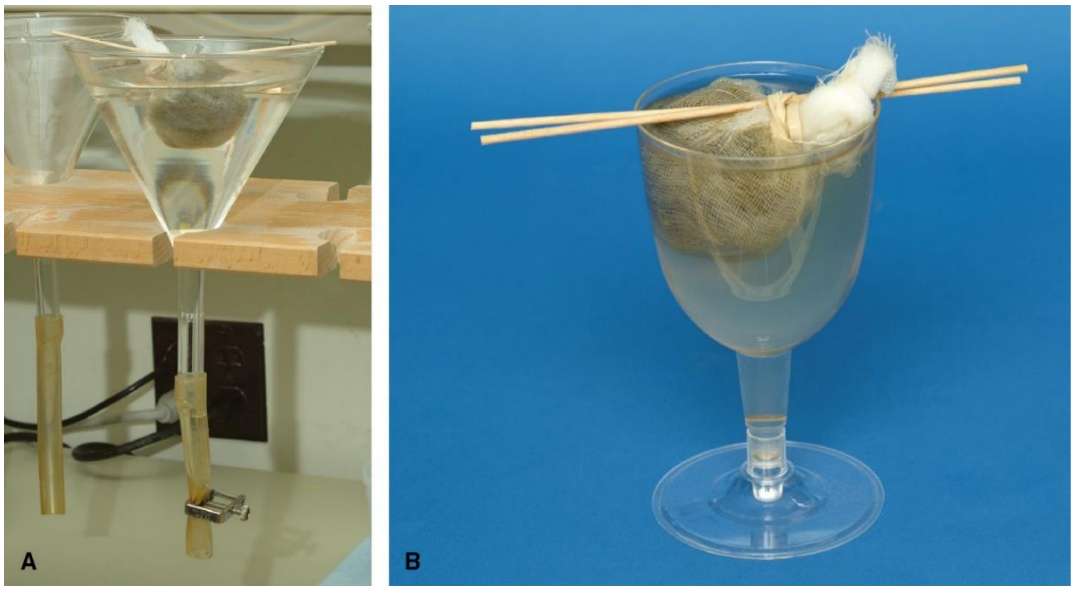
[1] Baermann Test
[2] Strongylid or Strongyloides

چیز دیگری را که روی لبه‌های لیوان یا قیف قرار می‌گیرد و نمونه را آویزان می‌کند، از نوار لاستیکی عبور دهید. روش دیگر، نمونه را روی یک تکه توری سیمی یا الک آویزان قرار دهید.

۲. قیف یا لیوان شراب را با آب ولرم پر کنید. دقت کنید که گوشه های پارچه پنیر روی لبه قیف یا لیوان آویزان نشوند، زیرا مانند فتیله برای آب عمل می کنند.

۳. اجازه دهید نمونه حداقل ۸ ساعت و ترجیحا یک شب بماند.

۴. در صورت استفاده از شیشه پلاستیکی یکبار مصرف، نمونه مدفوع را تخلیه و با استفاده از پاستور یا پیپت انتقال یا سرنگ، مواد باقیمانده در پایین ساقه توخالی جمع آوری کنید.



شکل ۱-۳ (A) دستگاه سنتی بائرمن شامل یک قیف آویزان با لوله های کلمپ شده متصل به آن است. برای آزمایش تشخیصی نمونه‌های مدفوع، انجام آزمایش بائرمن با یک لیوان شراب پلاستیکی یکبار مصرف (B) بسیار راحت‌تر است.

۵. مقداری از مایع را به یک اسلاید میکروسکوپ منتقل کنید، آن را بپوشانید و با عدسی شیئی ×۴ یا ×۱۰ بررسی کنید.

۶. در صورت استفاده از قیف، گیره را رها کرده و ۱۰ میلی لیتر اول مایع را در یک لوله سانتریفیوژ جمع کنید. مانند آزمایش فلوتاسیون بچرخانید، مایع رویی را دور بریزید و رسوب را بررسی کنید. بطور بدیل، دست کاملا ثابت می تواند گیره را با دقت شل کند و سه یا چهار قطره اول را روی یک لام میکروسکوپ جمع کند.

روش های ایمونولوژیک و ملکولی تشخیص انگل

روش‌های ایمونولوژیک سال‌هاست که در تشخیص انگل‌های خونی و بافتی حائز اهمیت بوده و امروزه به طور فزاینده‌ای برای شناسایی انگل‌های خاص در نمونه‌های مدفوع استفاده می شوند. روش های تشخیص ملکولی نیز در حال حاضر برای تشخیص انگل در نمونه های مدفوع استفاده می شود. اگرچه این تکنیک ها در حال حاضر نمی توانند جایگزین معاینه مورفولوژیک مدفوع به عنوان یک روش غربالگری معمول برای همه انگل ها شوند، اما برای تشخیص انگل های تک یاخته ای و کرمی خاص که در مدفوع شناسایی می شوند مفید هستند. برای بحث در مورد این رویه ها، به فصل ۴ مراجعه کنید.

کنترل کیفیت برای رویه‌های آزمایش مدفوع

اگرچه مفهوم کنترل کیفیت اغلب در آزمایشـــات مدفوع به کار نمی رود، توجه به تجهیزات و آموزش به اطمینان از درستی انجام معاینات مدفوع کمک می کند.

۱. میکروسکوپ ها را به خوبی تعمیر و نگهداری کنید. عدسی های شیئی و قطعات چشمی باید به طور معمول با پاک کننده لنز و کاغذ لنز تمیز شوند. هر چند سال یکبار میکروسکوپ ها را بصورت حرفه ای تمیز و بررسی کنید.
۲. SPG محلول های فلوتاسیون را در اولین آماده سازی با یک هیدرومتر بررسی کنید تا مطمئن شوید که آنها به طور موثر انگل ها را بازیابی می کنند. اگر یک محموله از محلول در یک دوره طولانی استفاده شود، SPG باید حداقل ماهانه بررسی شود.
۳. از یک میکرومتر چشمی (به بخش کالیبراسیون میکروسکوپ در ادامه این فصل مراجعه کنید) برای اندازه گیری ساختارهای مشاهده شده در آزمایش مدفوع استفاده کنید. در صورت امکان، میکروسکوپ را در فواصل منظم مجددا کالیبره کنید.
۴. اطمینان حاصل کنید که پرسنلی که آزمایش مدفوع را انجام می دهند به اندازه کافی آموزش دیده باشند. برای دستیاران آموزش ندیده غیرعادی نیست که در مورد انجام تست های فلوتاسیون آموزش های ابتدایی داده شود و سپس آنها را انجام دهند. تحت این شرایط، به سختی تعجب آور است که حباب های هوا به عنوان کوکسیدیا شناخته شوند و انگل های کوچکتر به طور کامل نادیده گرفته شوند.
۵. به عنوان چک صحت تشخیصی آزمایش مدفوع در کلینیک، به صورت دوره ای بخش های تکراری از نمونه های مدفوع را به آزمایشگاه تشخیصی دیگر ارسال کنید. هر دو نمونه منفی و مثبت باید ارسال شود.

استفاده از میکروسکوپ

هنگام استفاده از میکروسکوپ مرکب برای بررسی فرآورده های انگل ها، باید چندین نکته را به خاطر بسپارید:

۱. از لنز شیئی ×۱۰ میکروسکوپ برای اسکن اسلایدها استفاده کنید. این عمل بزرگنمایی کلی ×۱۰۰ را فراهم می سازد زیرا بیشتر قطعات چشمی میکروسکوپ ها حاوی یک عدسی ×۱۰ اضافی است. از یک گوشه شروع کنید و به طور سیستماتیک کل اسلاید را اسکن کنید. عدسی شیئی ۴۰ (با بزرگنمایی کل ×۴۰۰ با قطعه چشمی) برای بررسی دقیق تر یا جستجوی ارگانیسم های بسیار کوچک مانند ژیاردیا یا کریپتوسپوریدیوم[1] مفید است. لنز ×۱۰۰ (غوطه ور در روغن) نباید برای فرآورده فلوتاسیون استفاده شود. نه تنها این احتمال وجود دارد که محلول فلوتاسیون با لنز تماس پیدا کند و احتمالاً به آن آسیب برساند، بلکه فشار لنز بر روی درپوش یا لید روی لام باعث ایجاد جریان در مایع روی لام می شود و همه چیز را در حرکت نگه می دارد و بررسی ساختارها را دشوار می کند.
۲. بیشتر تخم ها و لاروهای انگل رنگ کمی دارند یا اصلاً رنگ ندارند و به خوبی نمایان نمی شوند، بنابراین بیشینه سازی کنتراست بین انگل ها و پس زمینه مهم است. اگر یک میکروسکوپ دارای کندانسور زیر صفحه باشد، می توان از آن برای افزایش کنتراست با تنظیم دیافراگم کندانسور یا قرار دادن کندانسور در

[1] Giardia or Cryptosporidium

موقعیت پایین استفاده کرد. حتی زمانی که یک کندانسور زیر صفحه در دسترس نیست، کاهش شدت نور ساطع شده روی اسلاید به طور کلی توصیه می شود، چه با کاهش تنظیم رئوستات میکروسکوپ یا با کاهش دیافراگم عنبیه دستگاه. البته قدرت بالاتری که برای بررسی دقیق استفاده می شود، به افزایش مقدار بیشتری نور نیاز دارد.

۳. هنگام خواندن یک اسلاید، فوکوس بالا و پایین با فوکوس دقیق مفید است تا سطح مقطع فوکوس تا حدودی تغییر کند. اغلب، تخم‌های کرم در سطح کمی متفاوت از کیست‌های تک یاخته‌ای یا اووسیست‌ها قرار می‌گیرند، و یک دستکاری کوچک در فوکوس ظریف ممکن است ساختارها را راحت‌تر نمایان کند (شکل‌های ۴-۱ تا ۶-۱).

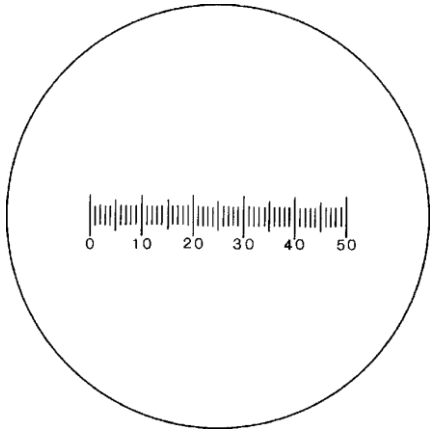


شکل‌های ۱-۴ تا ۱-۶ اهمیت تغییر جزئی فوکوس میکروسکوپ را می‌توان در این سه عکس از یک میدان در آزمایش فلوتاسیون مدفوع سگ مشاهده کرد. در هر بار دستکاری جزئی فوکوس ظریف، انگل متفاوتی را به نمای واضح‌تری می‌آورد (اول اووسیست‌های

سیستواسپورا[1]، سپس تخم‌های کرم قلاب‌دار و در نهایت تخم‌های توکسوکارا[2]) زیرا هر تخمک یا نوع اووسیست ممکن است در سطح اندکی متفاوت باشد.

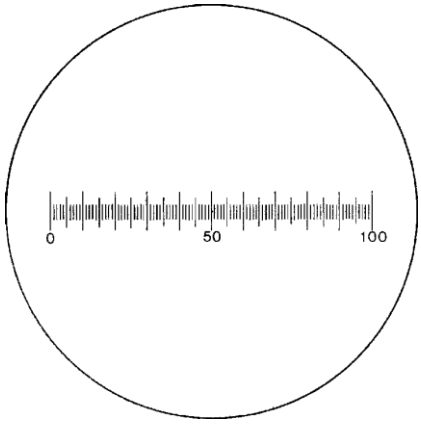
کالیبراسیون میکروسکوپ

توانایی اندازه‌گیری اندازه موجودات و ساختارهای انگلی هنگام شناسایی انگل‌های غیرمعمول یا جایی که ارگانیسم‌های مختلف از نظر ظاهری مشابه هستند، اما از نظر اندازه متفاوت هستند، بسیار مفید است. برای اندازه‌گیری، یک دیسک میکرومتر، که تحت عنوان رتیکل[3] (شکل ۱-۷) نیز شناخته می‌شود، در لوله چشمی میکروسکوپ قرار داده می‌شود و براساس یک مرجع معلوم به شکل یک میکرومتر صحنه کالیبره می‌شود (شکل ۱-۸). هر عدسی شیئی میکروسکوپ باید به طور جداگانه با ترکیب لنز چشمی/ میکرومتر مورد استفاده کالیبره شود و کالیبراسیون ها باید در نزدیکی میکروسکوپ قرار گیرند تا ارجاع آسان شود. کالیبراسیون فقط برای آن ترکیب چشمی و عینی میکروسکوپ خاص دقیق خواهد بود. حتی اگر هر عدسی با میکرومتر استیج کالیبره نشده باشد، شبکه چشمی مرجع ثابتی برای مقایسه اشیاء مشاهده شده در نمونه های مدفوع ارائه می دهد. این دیسک های میکرومتر چشمی و میکرومترهای مرحله ای گران نیستند و می توان آنها را از کاتالوگ های علمی که شامل تجهیزات میکروسکوپ است خریداری کرد.

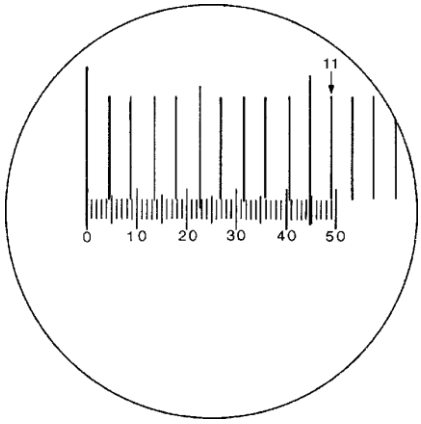


شکل ۱-۷ یک میکرومتر چشمی معمولی با ۵۰ درجه بندی. درجه بندی ها تا زمانی که در مقابل یک میکرومتر استیج کالیبره نشده اند، معنایی ندارند.

[1] Cystoisospora Oocysts
[2] Toxocara
[3] Reticle



شکل ۱-۸ یک میکرومتر استیج معمولی با طول کل ۱ میلی متر. هر درجه نشان دهنده ۱۰ میکرومتر است.



شکل ۱-۹ ظاهر در بزرگنمایی ×۴۰ میکرومتر چشمی که با یک میکرومتر استیج ۱۰ میکرومتر در هر درجه کالیبره شده است. به اتصال خط ۱۱ میکرومتر استیج با خط ۴۹ میکرومتر چشمی توجه کنید.

کالیبراسیون شی ×۴۰ رویه کالیبراسیون میکرومتر را نشان می دهد:

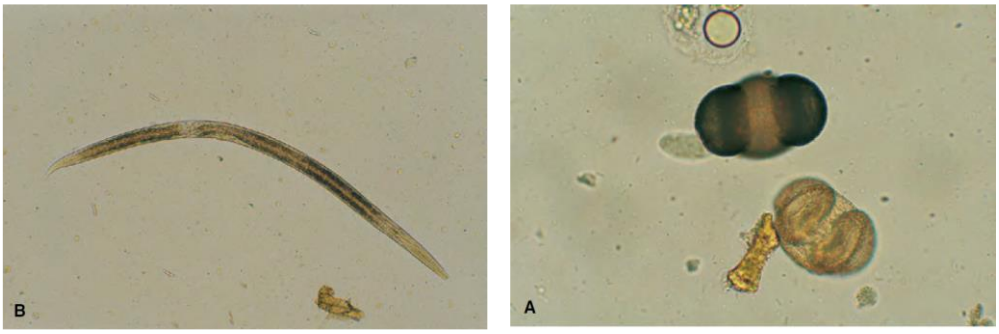
۱. برای کالیبره کردن شی ×۴۰، میکرومتر صحنه را روی صحنه میکروسکوپ قرار دهید و تا زمانی که خطوط واضح شوند، فوکوس کنید. در مثال (شکل ۱-۹)، میکرومتر صحنه ۱ میلی متر (۱۰۰۰ میکرومتر) طول دارد و به ۱۰۰ قسمت تقسیم می شود. بنابراین، هر بخش کوچک میکرومتر صحنه نمایانگر ۱۰ میکرومتر است.

۲. هر خط شماره گذاری مناسب میکرومتر چشمی (معمولاً علامت ۰) را روی یک خط مناسب از میکرومتر صحنه قرار دهید (اولین خط بزرگ در مثال). اکنون این فیلد باید شبیه شکل ۱-۹ باشد.

۳. دو خط را که دقیقا روی هم قرار گرفته اند را پیدا کنید. در مثال، خط ۴۹ میکرومتر چشمی دقیقاً روی خط ۱۱ میکرومتر صحنه قرار می گیرد. بنابراین، ۴۹ بخش از میکرومتر چشمی ناشناخته نشان دهنده ۱۱ بخش، هر یک ۱۰ میکرومتر طول، در مجموع ۱۱۰ میکرومتر است. برای تکمیل کالیبراسیون، ۱۱۰ میکرومتر را بر ۴۹ تقسیم کنید، در نتیجه ضریب کالیبراسیون ۲.۲۴ میکرومتر در هر تقسیم برای میکرومتر چشمی در مثال حاصل می‌شود.

۴. این رویه را برای هر عدسی شیئی که روی میکروسکوپ کالیبره می شود تکرار کنید.

برای استفاده از میکروسکوپ کالیبره شده، مقیاس میکرومتر چشمی را بر روی یک تخمک یا کیست قرار دهید و تعداد تقسیم‌بندی‌های نمونه را بشمارید، مثلاً ۱۲. عدد ۱۲ را در ضریب کالیبراسیون ضرب کنید (۲.۲۴ برای عدسی ×۴۰ در مثال؛ ۱۲ × ۲.۲۴ = ۲۶.۸۸ میکرومتر، اندازه جسم اندازه گیری شده).

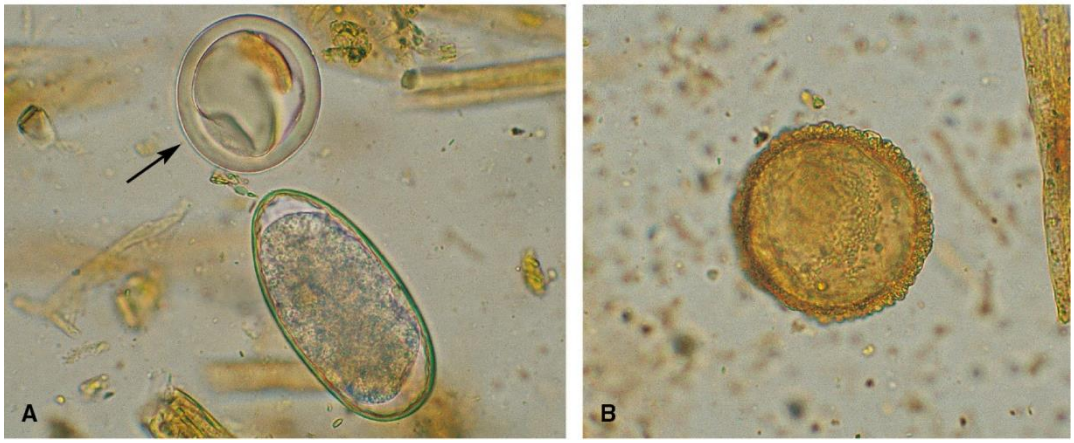


شکل ۱–۱۰ نمونه هایی از شبه انگل ها. (A) گرده کاج یک شبه انگل رایج است و در نمونه مدفوع بسیاری از حیوانات یافت می شود (×۴۰۰). (B) نماتدهای آزاد بالغ نیز معمولاً در نمونه های مدفوع جمع آوری شده از زمین یافت می شوند. این نماتدها می توانند به سرعت به مواد مدفوع حمله کنند. وجود حشرات بالغ و تنوع در اندازه و مورفولوژی (نشان دهنده مراحل مختلف چرخه زندگی) در تشخیص این کرم ها از لارو انگل کمک کننده است.

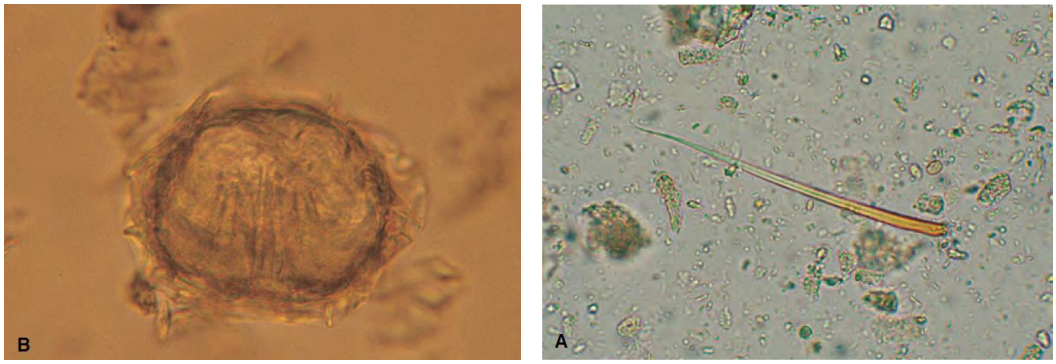
شبه انگل ها و انگل های کاذب

نمونه های مدفوع ممکن است حاوی «شبه انگل[1]» و «انگل های کاذب[2]» فریبنده باشد. شبه انگل ها اشیاء بلعیده شده ای هستند که شبیه اشکال انگل هستند. اینها شامل دانه های گرده، موهای گیاه، کنه های دانه، هاگ های کپک و انواع بقایای گیاهی و جانوری بی ضرر هستند (شکل های ۱–۱۰ تا ۱–۱۵). «انگل های کاذب» تخم های انگل یا کیست های یک گونه از میزبان هستند که ممکن است در مدفوع یک میزبان لاشخور یا شکارچی در نتیجه کوپروفاژی یا شکار یافت شوند (شکل های ۱–۱۶ تا ۱–۱۸). یکی از بهترین راه‌ها برای جلوگیری از شناسایی نادرست این شبه انگل‌ها و انگل های کاذب، شناخت انواع انگل‌هایی است که معمولاً گونه‌های میزبان را آلوده می‌کنند. اگر نمونه مدفوع حاوی یک شبه انگل یا انگل کاذب احتمالی باشد، بهتر است آزمایش را با نمونه دیگری که بعداً جمع آوری می شود تکرار کنید. برای محدود کردن فرصت‌های کوپروفاژی یا شکار که منجر به بلع شبه انگل و انگل کاذب اضافی می‌شود، حیوانات کوچک (سگ و گربه) باید فقط ۲ تا ۳ روز قبل از جمع‌آوری نمونه دوم محدود شوند یا با بند راه بروند.

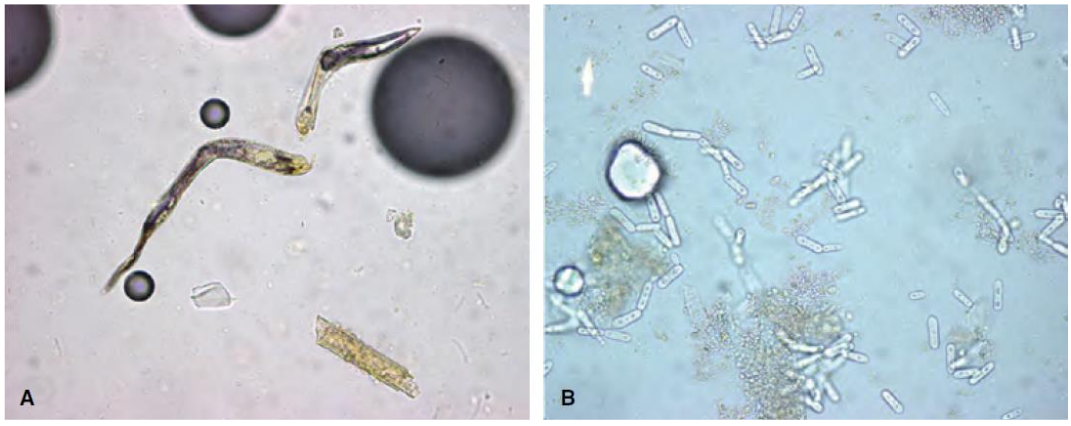
[1] Pseudoparasites
[2] Spurious Parasites



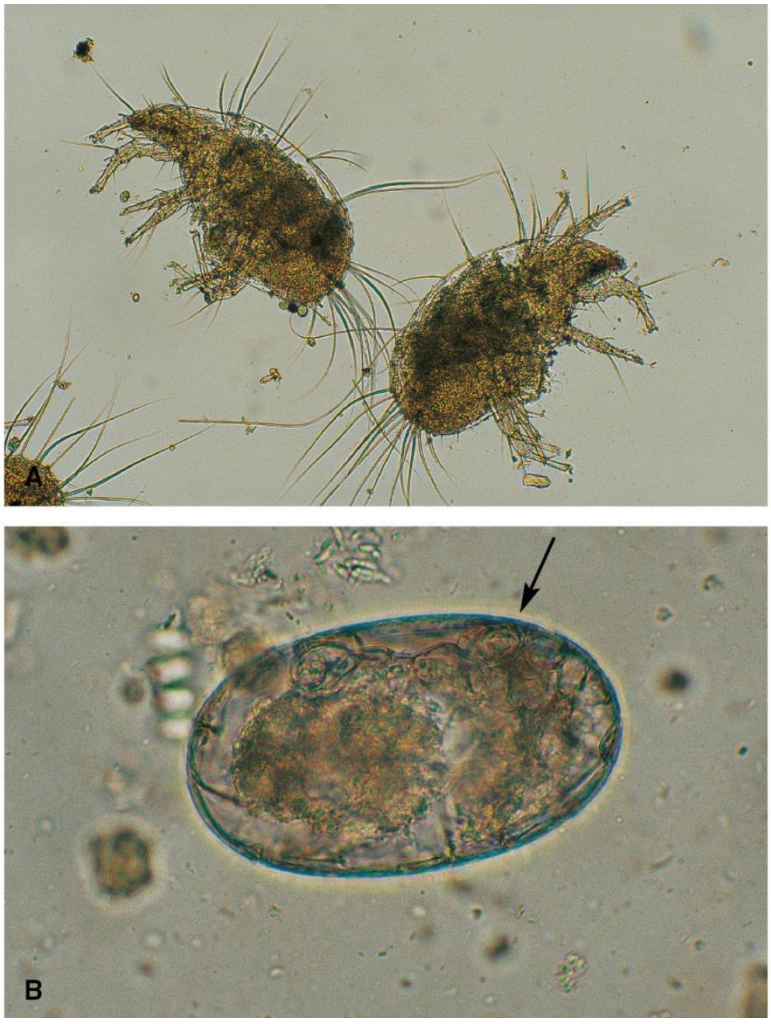
شکل ۱-۱۱ نمونه هایی از شبه انگل ها. (A) در این نمونه مدفوع گوسفند، هم یک تخم استرانگلید و هم شبه انگل (پیکان) وجود دارد. ویژگی های کمک کننده در شناخت شبه انگل ها فقدان ساختار داخلی واضح و ناپیوستگی در لایه بیرونی است. (B) شبه انگل، احتمالاً یک دانه گرده (۴۰۰×).



شکل ۱-۱۲ نمونه هایی از شبه انگل ها. (A) موی حشره از مدفوع پرنده حشره خوار. موهای حشرات و گیاهان ممکن است با کرم ها اشتباه گرفته شوند اما ساختار داخلی ندارند. (B) به نظر می رسد که این مصنوع در مدفوع نشخوارکنندگان دارای ساختارهایی شبیه قلاب های جنین کرم نواری است، اما جنین مشخصی وجود ندارد و لایه بیرونی با برجستگی هایی که از نظر اندازه و شکل متغیر هستند (۴۰×) واضح نیستند.



شکل ۱-۱۳ نمونه هایی از شبه انگل ها. (A) موهای گیاه و سایر مواد فیبری می توانند شبیه لاروهای نماتد باشند. آنها می توانند در اشکال و رنگ های مختلفی وجود داشته باشند، اما معمولاً می توانند به راحتی از نماتدها متمایز شوند زیرا فاقد ساختارهای داخلی شفاف مانند دستگاه گوارش هستند. همچنین، در حالی که یک انتهای آن مخروطی است، انتهای دیگر اغلب به نظر می رسد که از ساختار دیگری جدا شده است. (B) این عکس ساخارومایکوپسیس گوتولاتوس[1] را نشان می‌دهد، یک مخمر غیر بیماری‌زا که در خرگوش‌ها رایج است و گاهی در سگ‌ها دیده می‌شود (×۴۰۰).

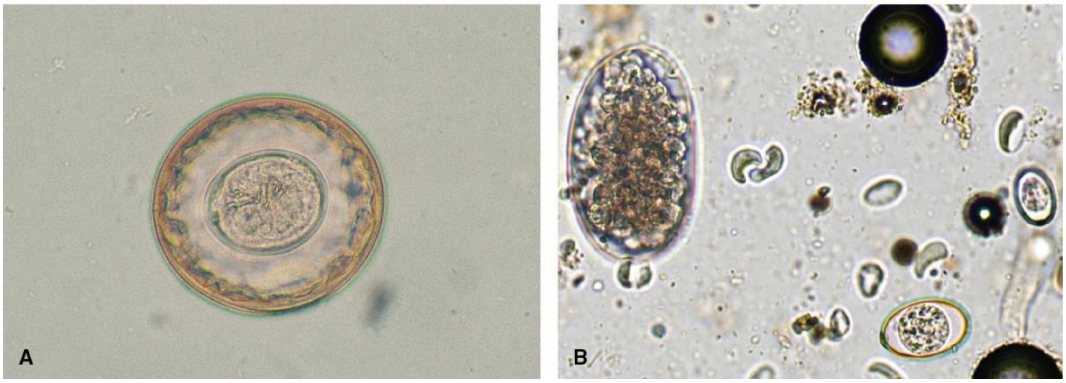


شکل ۱-۱۴ نمونه هایی از شبه انگل ها. (A) کنه‌های زنده آزاد که خوراک دام را آلوده می‌کنند را می‌توان در رویه های فلوتاسیون مدفوع یافت. برخلاف بسیاری از کنه‌های انگلی، گونه‌های آزادانه فاقد ساختارهای تخصصی روی پاهای خود (مکنده‌ها و غیره) برای چسبیدن به میزبان هستند. (B) تخم‌های کنه‌های آزاد نیز در محلول فلوتاسیون شناور می‌شوند. آنها معمولاً بسیار بزرگ هستند (بیش از ۱۰۰ میکرومتر). پاهای در حال رشد کنه گاهی اوقات در داخل تخم (پیکان) دیده می شود.

[1] Saccharomycopsis Guttulatus



شکل ۱-۱۵ نمونه هایی از شبه انگل ها. از جمله شایع ترین شبه انگل هایی که در مدفوع یافت می شوند، لارو حشرات است که ممکن است در زمان مشاهده هنوز زنده و متحرک باشند. لارو حشرات ممکن است در غذا بلعیده شوند یا در مورد مگس انگل، مانند آنچه در اینجا نشان داده شده است، تخم هایی که روی مدفوع گذاشته می شوند در هوای گرم به سرعت از تخم خارج می شوند. اسپیراکول ها در انتهای خلفی (راست) لارو قطعه بندی شده وجود دارند.



شکل ۱-۱۶ انگل‌های کاذب تخم‌های انگل یا کیست‌های میزبان دیگری هستند که از طریق شکار یا کوپروفاژی کسب می شوند و صرفاً از میان دستگاه گوارش حیوان مورد آزمایش عبور کرده‌اند. (الف) تخم کرم نواری در نمونه مدفوع گوساله یافت شد. اگرچه پیکربندی قلاب های داخل این تخم به وضوح آن را به عنوان یک کرم نواری شناسایی می کند، اما به احتمال زیاد تخم کرم گلوگاه جوندگان یا پرندگان است. (ب) انگل های کاذب در نمونه های سگ هایی که مواد مدفوعی را می بلعند، رایج است. تخم های گونه های استرانگلید دام را می توان در مدفوع سگ های کود خوار یافت. تخمهای استرانگلید نشخوارکنندگان و اسب شبیه تخم کرم قلابدار سگ هستند اما بزرگتر هستند و کوکسیدیای نشخوارکنندگان را معمولاً می توان بر اساس اندازه و شکل از گونه های سگ و گربه متمایز کرد.