

AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ

HELMİNTOLOJİ DERSİ UYGULAMA KİTAPÇIĞI



Öğrencinin

Adı:

Soyadı:

Şubesi:

Defter Puanı:

AYDIN

Uygulamanın adı	Helmintolojik tanı metodları ve Biyogüvenlik Uygulamaları
Yapılacağı hafta	1
Uygulamanın temel hedefi	Helmintoloji uygulamaları öncesinde bu alanla ilgili temel teşhis metodlarını hatırlatmak, Biyogüvenlik uygulamaları hakkında bilgi vermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Natif muayene metodu malzemeleri, flotasyon metodu malzemeleri, sedimentasyon metodu malzemeleri, dışkıda larva arama metodlarına ilişkin malzemeler, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ
Dışkı muayene teknikleri A- Makroskobik dışkı muayenesi: Dışkının kıvamı, rengi, kokusu, miktarı ve yapısı incelenir. Dışkının kanlı, mukuslu, sulu-ishalli veya katı olup olmadığına bakılır. Dışkı örneğinde çıplak gözle görülebilen cestod halkaları, ascarit gibi nematodlar aranır. B- Mikroskobik dışkı muayenesi: Mikroskobik muayenede dışkıda bulunabilen helmint yumurtaları ve larvaları aranır. Bu amaçla basit teknik dediğimiz natif muayene veya flotasyon ve sedimentasyon teknikleri ile larva göç ettirme metodları gibi kalitatif metodlar kullanılır. 1- Natif muayene: Basit teknik de denir. Bunun için pirinç veya mercimek tanesi kadar dışkı parçası alınır, lam üzerine konulur ve bir damla çeşme suyu ilave edilerek homojen hale getirilir. Kaba partiküller lamin bir ucuna çekilir ve sulu kısma bir lamel kapatılarak mikroskopta incelenir. Bu tekniğin avantajı kısa sürede yapılması, kolay olması ve fazla alete ihtiyaç duyulmamasıdır. Dezavantajı ise çok az miktarda dışkının incelenmesi, bu nedenle de hayvanın enfekte olmasına rağmen bazen yumurta veya ookiste rastlanmaması sonucu hayvanın sağlıklı kabul edilmesidir. 2-Zenginleştirme metodları Bu tekniklerin prensibi, yoğunluğu fazla olan yüzdürme sıvıları veya yoğunluğu az olan çöktürme sıvıları kullanarak yumurta veya ookistleri bir alanda toplayarak görmeye çalışmaktır. Yüzdürme sıvısı olarak ucuz olduğu için doymuş tuzlu su kullanılır. Bunun için bir litre suya 360 gr NaCl ilave edilir ve sıvının dansitesi 1.2'dir. Bundan başka yoğun çinko sülfat veya çinko klorür solüsyonları da kullanılmaktadır. Bir litre suya 703 gr ZnSO₄.H₂O veya 436 gr ZnCl₂ ilave edilerek yüzdürme sıvıları hazırlanmaktadır. Her iki sıvının da dansitesi 1.3 olmalıdır. a Flotasyon-Yüzdürme metodları

Bu teknikler nispeten küçük ve hafif olan nematod ve cestod yumurtalarını aramak için kullanılır.

a.1. Fulleborn Doymuş tuzlusu flotasyon tekniği-Kapta Flotasyon

Ceviz büyüklüğünde büyük hayvan (at, sığır) veya 3-4 kozalak küçük hayvan (koyun-keçi) dışkısı çapı 6-7 cm, yüksekliği 4-5 cm olan bir kaba alınır. Üzerine kabın yarısına kadar olacak şekilde bir miktar doymuş tuzlu sıvı ilave edilip homojen hale getirilir. Hazırlanan karışım aynı özellikte başka bir kaba süzülür. Dışkı kabının ağzına yaklaşık 1 cm mesafe kalacak şekilde üzerine doymuş tuzlu su ilave edilir. Üzerine yüzeye paralel, yüzecek şekilde iki lamel bırakılır ve yaklaşık 20 dakika sonra bırakılan lamel düz ağızlı bir pens yardımıyla sarsmadan ve alt yüzeyinde oluşan damla düşürülmeden alınarak bir lam üzerine yerleştirilir. Preparat mikroskopta incelenir. Helmint yumurtaları 10X büyütmede aranır ve 40X büyütmeli objektifle incelenir.

a.2. Santrifüjle flotasyon tekniği-Tüpte Flotasyon

Fındık büyüklüğünde dışkı parçası alınıp havan veya bir kapta doymuş tuzlu su ile ezilir. Üzerine hacminin 10 katı kadar yüzdürücü sıvıdan ilave edilir ve bir santrifüj tüpüne huni ve çay süzgeci yardımıyla süzülür. Tüp 2000 devir/dakika'da helmint yumurtaları için 3-5 dakika santrifüje edilir. Daha sonra bir öze yardımıyla tüp yüzeyinden bir damla sıvı alınıp lama konur ve üzerine lamel kapatılıp mikroskopta incelenir.

Diğer bir teknikte ise santrifüj tüpü ağzına kadar yüzdürücü sıvı ile doldurulur ve arada hava boşluğu veya hava kabarcığı kalmayacak şekilde bir selofan band yapıştırılarak tüp ağzı kapatılır. Santrifüj işleminden sonra selofan band yapıştırıcı iki ucundan açılarak ıslak tarafı alta gelecek şekilde bir lam üzerine yapıştırılır ve mikroskopta incelenir.

b Sedimentasyon-Çöktürme metodları

Bu teknikler büyük ve ağır olan trematod yumurtaları aranmasında kullanılır.

b.1. Modifiye Benedek sedimentasyon tekniği

Yaklaşık 6 gr kadar sığır veya 3 gr kadar koyun-keçi dışkısı bir kap içinde 60-100 ml çeşme suyu ile karıştırılarak homojen hale getirilir. Elde edilen karışım delik genişliği 250-300 mikronluk bir elek ya da çay süzgeci yardımıyla 250 ml'lik bir behere veya bir cam kavanoza süzülür. Beher ağzına kadar çeşme suyu ile doldurulur ve yaklaşık 10-15 dakika beklenir. Sonra dipteki tortu oynatılmaksızın ve dipte 1 cm yükseklikte sıvı kalacak şekilde üst kısım dökülür. Bu işlem üstte kalan sıvı berraklaşınca kadar birkaç kez tekrar edilir. Sonuçta dipte kalan tortu bir petri kutusuna konulup üzerine bitki parçalarını maviye boyayıp helmint yumurtalarının daha kolay görülmesini sağlamak için birkaç damla % 1'lik metilen mavisi ilave edilir. Alttan aydınlatmalı stereo mikroskopta veya şaryosu çıkarılmış ışık mikroskobunda 10X objektifle incelenir.

b.2. Petri kutusunda sedimentasyon

Bir dışkı kabına 3 gr kadar dışkı konur. Üzerine çeşme suyu ilave edilerek bir bagetle iyice karıştırılarak ezilir. Karışım bir süzgeçle petri kutusuna süzülerek 15 dakika beklenir. Bu sürenin sonunda üstteki sıvı kısım dökülür. Tortu koyu olursa bu işlem bir-iki kez tekrarlanır. Sonunda dipteki tortu bir önceki metotta olduğu gibi mikroskopta incelenir.

b.3. Teleman metodu

İnsan, maymun ve karnivor dışkısı gibi yağlı dışkıların muayenesinde uygulanan bir sedimentasyon metodudur. İncelenecek dışkının çeşitli yerlerinden mercimek tanesi büyüklüğünde 5-6 parça alınarak bir deney tüpüne konur. Üzerine 4-6 ml çeşme suyu ilave

edilerek iyice ezilir. Bunun üzerine tüpteki karışım kadar % 18'lik HCl ve yine aynı miktar eter ilave edilerek iyice karıştırılır. Karışım bir santrifüj tüpüne süzülür, 1500-2000 devir/dakikada 1-2 dakika santrifüje edilir. Bu esnada tüpte üç tabaka oluşur. En üstte yağları eriten eter tabakası, ortada proteinleri eriten asit tabakası, altta su tabakası ve en dipte de helmint yumurtalarının bulunduğu tortu vardır. Üstteki tabakalar bir pipet yardımıyla dipteki tortu oynatılmadan uzaklaştırılır. Tortu hafifçe karıştırılarak alınan 1-2 damla lam üzerine konur ve lamel kapatılarak mikroskopta sistematik bir şekilde incelenir.

c- Göç ettirme metotları

Bu teknikler akciğer kıl kurtları larvalarının aranmasında ve dışkı kültürü yapıldığı zaman çıkan larvaların elde edilmesinde kullanılır.

c.1. Baerman-Wetzel metodu

Suyu seven helmint larvalarının suya geçerek dar bir alanda toplanması ve incelenmesi esasına dayanır. Bir cam huni ucuna lastik hortum takılır. Hortumun alt ucuna ya bir tüp takılır ya da bir mandalla içindeki sıvı akmayacak şekilde hortumun ucu sıkıştırılır. Bu düzenek bir sehpaye yerleştirilir. Alt bölümlerinde hava boşluğu kalmayacak şekilde huni yarısına kadar ılık çeşme suyu ile doldurulur. Bir çay süzgeci içerisine veya tül bent bezine konulan 10-20 gr kadar dışkı suyla temas edecek şekilde huni üzerine yerleştirilir ve oda ısısında bir gece bekletilir. Bu süre esnasında dışkıda bulunan helmint larvaları hidrofob-suyu seven özelliklerinden dolayı suya geçer ve ağırlıkları nedeniyle dipte toplanırlar. Bekleme süresi sonunda tüp huniden ayrılır ve üstteki sıvı kısım atılır. Dipteki tortu bir bagetle karıştırılarak alınan 1-2 damla içerik lam üzerine konur. Lamel kapatılarak mikroskopta incelenir. Başlangıçta yılan gibi kıvrılarak hareket eden larvalar görülür. Larvaları daha iyi incelemek için lam-lamel arasına 1-2 damla % 10'luk lugol solüsyonu damlatılarak larvalar tespit edilir.

Eğer inceleme düzeneğinde hortum ucuna bir kışkaç veya mandal takılmışsa, bekleme süresi sonunda kışkaç hafifçe gevşetilerek lam üzerine 1-2 damla sıvı damlatılıp lamel kapatılarak mikroskopta incelenir. Baerman-Wetzel metodu 25 °C su ısısında 8-12 saatte sonuç verir, daha düşük ısılarda ise 24 saat beklemek gerekir.

c.2. Vajda metodu

Prencip Baerman-Wetzel metodundaki gibidir ve onun natif-basit şekli olarak da değerlendirilebilir ve her zaman kesin sonuç vermeyebilir. İki şekilde uygulanır.

c.2.a. Kozalak şeklindeki dışkıların muayenesi: Koyun, keçi, geyik, tavşan ve ceylan gibi dışkısı kozalak şeklinde olan hayvanlarda akciğer kıl kurdu enfeksiyonlarının teşhisinde uygulanır. Temiz bir lam üzerine 3-4 adet dışkı kozalağı konulup üzerine 2-3 damla serum fizyolojik veya çeşme suyu damlatılır ve 20-30 dakika beklenir. Sürenin sonunda dışkı kozalakları bir pens ile uzaklaştırılır ve lam üzerine bir lamel kapatılarak mikroskopta helmint larvaları yönünden incelenir.

c.2.b. Çamur kıvamındaki dışkıların muayenesi: Sığır gibi dışkısı çamur kıvamında olan hayvanlardaki akciğer kıl kurdu larvalarını aramak için uygulanan bir metottur. Bir petri kutusu içine sığır dışkısı doldurularak üst yüzeyi düzgün hale getirilir. Bir deney tüpünün arkası ile dışkı üzerinde çukurluklar açılır ve içlerine çeşme suyu doldurularak 20-30 dakika beklenir. Bu esnada dışkıda bulunan larvalar çukurluklardaki suya geçerler. Bekleme süresi sonunda çukurluklardan alınan 2-3 damla su bir lam üzerine konulur ve lamel kapatılarak mikroskopta incelenir.

Uygulamanın adı	Trematod yumurtaları
Yapılacağı hafta	2
Uygulamanın temel hedefi	Trematod sınıfına ait yumurtaların teşhis yöntemleri ve morfolojik ayırım kriterlerini öğretmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	<i>Fasciola hepatica</i> , <i>Dicrocoelium dendriticum</i> ve <i>Paramphistomum sp.</i> yumurtaları, lam, lamel, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ

Gösterilecek yumurtalar:

1. *F. hepatica*

Son konak;

Ara konak:

Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

*

*

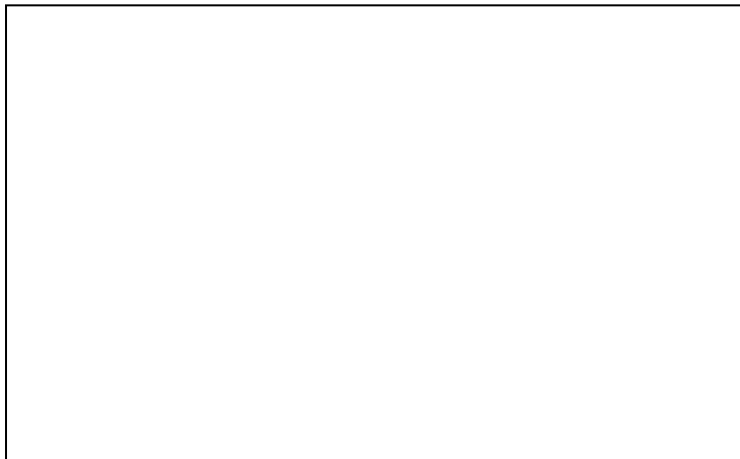
*

*

*

*

*



Öğrencinin çizimi

2. *D. dendriticum*

Son konak;

Ara konak:

Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

*

*

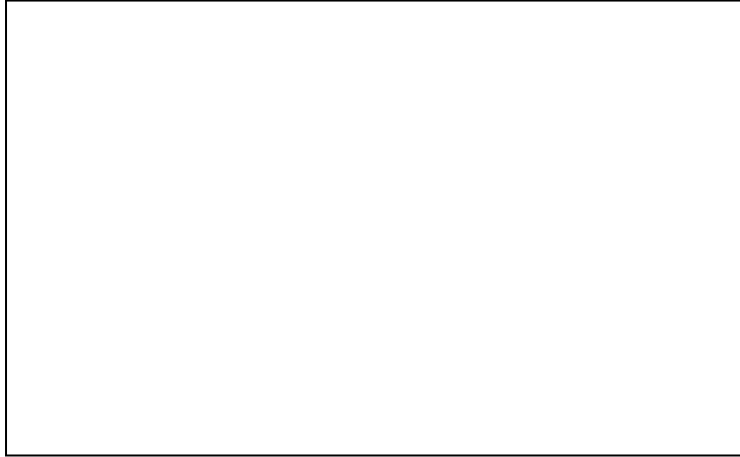
*

*

*

*

*



Öğrencinin çizimi

3. *Paramphistomum sp.*

Son konak;

Ara konak:

Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer:

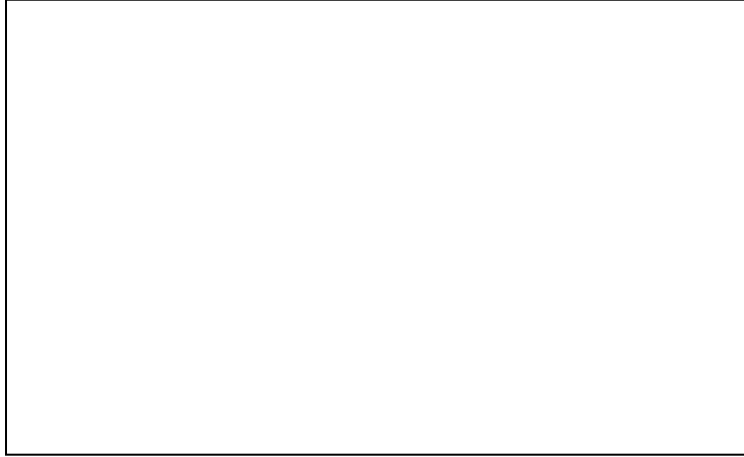
Yumurta özellikleri:

*

*

*

*



Öğrencinin çizimi

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

İMZA:

Uygulamanın adı	Fasciola ve Dicrocoelium enfeksiyonları ile ilgili film gösterimi
Yapılacağı hafta	3
Uygulamanın temel hedefi	Fasciola ve Dicrocoelium enfeksiyonlarının son ve ara konakları, biyolojileri, morfolojileri, teşhis ve tedavi seçenekleri ile ilgili bilgileri pekiştirmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Fasciola ve Dicrocoelium enfeksiyonları ile ilgili hazırlanmış filmler, bilgisayar, projeksiyon cihazı.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	-

UYGULAMA BİLGİSİ
-

Uygulamanın adı	Karaciğerin trematod enfeksiyonları açısından muayenesi, Fasciola ve Dicrocoelium erişkinlerinin morfolojik olarak incelenmesi
Yapılacağı hafta	4
Uygulamanın temel hedefi	Kasaplık hayvanlarda karaciğerin trematod enfeksiyonları açısından muayenesini ve Fasciola ve Dicrocoelium erişkinlerinin morfolojik olarak ayrımını öğretmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Koyun ya da sığır karaciğeri, eldiven, bistüri, lam, lamel, pens, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ

Gösterilecek erişkin trematodlar:

1. Fasciola hepatica (Yaprak kelebeği)

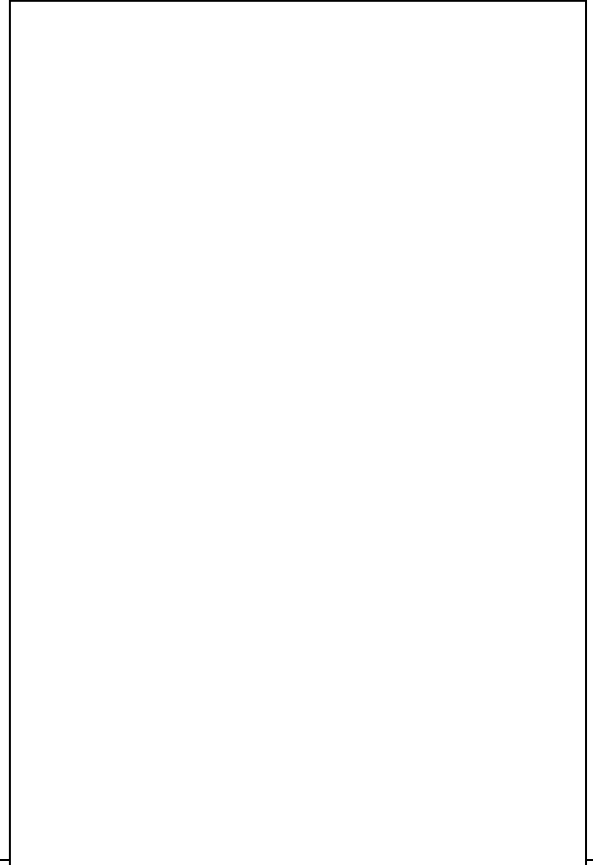
Son konak;

Ara konak:

Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer:

Parazitin morfolojik özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

2. *Fasciola gigantica* (Yılan kelebeği)

Son konak;

Ara konak:

Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer:

Parazitin morfolojik özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *
- *

3. *Dicrocoelium dendriticum* (Kum kelebeği)

Son konak;

Ara konak:

Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer:

Parazitin morfolojik özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

İMZA:

--

Uygulamanın adı	Cestod yumurtaları
Yapılacağı hafta	5
Uygulamanın temel hedefi	Cestod sınıfına ait yumurtaların teşhis yöntemleri ve morfolojik ayırım kriterlerini öğretmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	<i>Taenia sp</i> , <i>Dipylidium caninum</i> ve <i>Moniezia sp</i> yumurtaları, lam, lamel, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ
Gösterilecek yumurtalar: 1. <i>Taenia sp.</i> Son konak; Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer: Yumurta özellikleri: * * *

2. *Dipylidium caninum*

Son konak;

Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

*

*

*

*



Öğrencinin çizimi

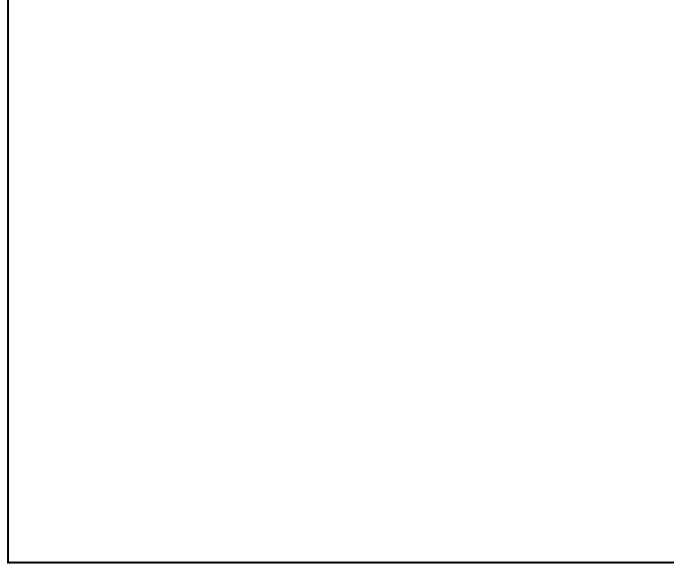
3. *Moniezia sp.*

Son konak;

Erişkin parazitin son konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

İMZA:

--

Uygulamanın adı	<i>Echinococcus granulosus</i> ile ilgili film gösterimi
Yapılacağı hafta	6
Uygulamanın temel hedefi	<i>Echinococcus granulosus</i> 'un son ve ara konakları, biyolojisi, morfolojisi, teşhis ve tedavi seçenekleri ile ilgili bilgileri pekiştirmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	<i>Echinococcus granulosus</i> ile ilgili hazırlanmış filmler, bilgisayar, projeksiyon cihazı.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	-

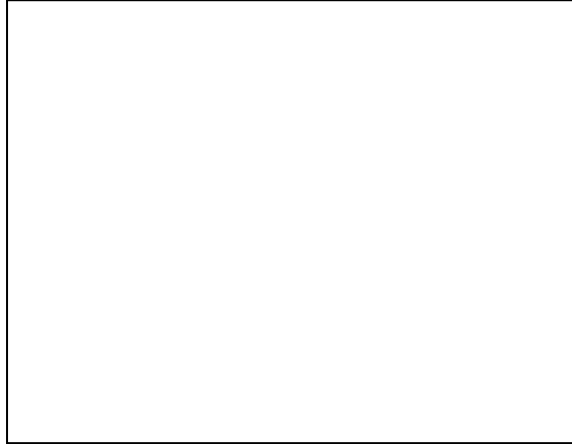
UYGULAMA BİLGİSİ
-

Uygulamanın adı	Echinococcus kistlerinin ve protoskolekslerin morfolojik yapısı
Yapılacağı hafta	7
Uygulamanın temel hedefi	<i>Echinococcus spp</i> için ara konak grubunda olan hayvanlarda kistlerin teşhisi, protoskolekslerin morfolojisi ve işlevini öğretmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Kistli organlar, protoskoleksli kist sıvıları, eldiven, bistüri, lam, lamel, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ

Echinococcus kist çeşitleri:

1. Uniloculer kist



Öğrencinin çizimi

2. Multikistik = Multiveziküler kist



Öğrencinin çizimi

3. Alveoler kist



Öğrencinin çizimi

***E. granulosus* kist kesiti:**



Öğrencinin çizimi

Protoskoleks:



Öğrencinin çizimi

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

İMZA:

<u>Parazitin adı</u>	<u>Sınıfı</u>	<u>Erişkin/Larva</u>	<u>Son konağı</u>	<u>Ara konağı</u>	<u>Yerleştiği organ</u>
----------------------	---------------	----------------------	-------------------	-------------------	-------------------------

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:
İMZA:

Uygulamanın adı	Nematod yumurtaları (<i>Nematodirus</i> , <i>Trichuris</i> ve <i>Oxyuroidea</i> yumurtaları)
Yapılacağı hafta	9
Uygulamanın temel hedefi	Trichostrongyloidea üst ailesi ve Oksisiroid yumurtaları ve <i>Trichuris</i> türlerine ait yumurtaların teşhis yöntemleri ve morfolojik ayırım kriterlerini öğretmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Trichostrongyloidea üst ailesi ve <i>Trichuris</i> türlerine ait yumurtalar, lam, lamel, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ
Gösterilecek yumurtalar: 1. Trichostrongyloidea Konak; Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer: Yumurta özellikleri: * *

Öğrencinin çizimi

2. *Nematodirus sp.*

Konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

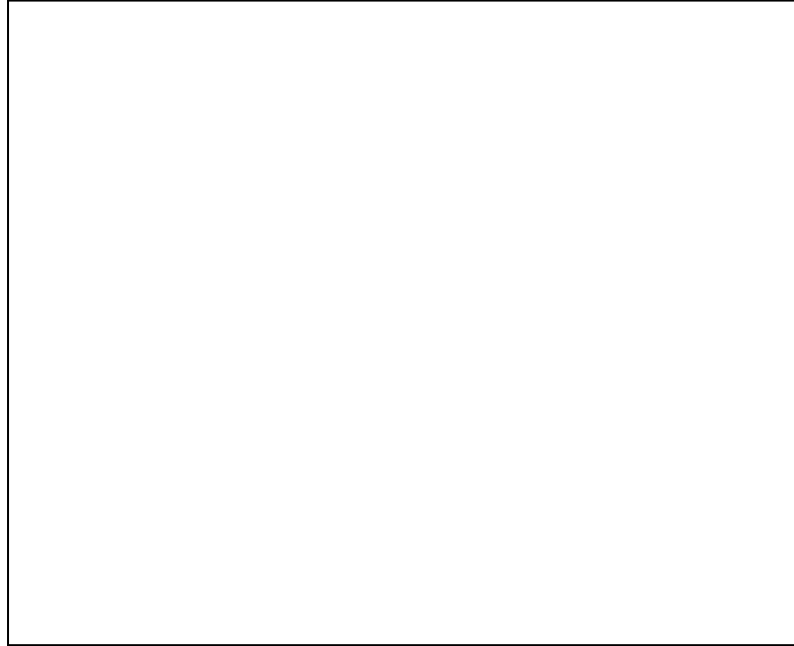
Yumurta özellikleri:

*

*

*

*



Öğrencinin çizimi

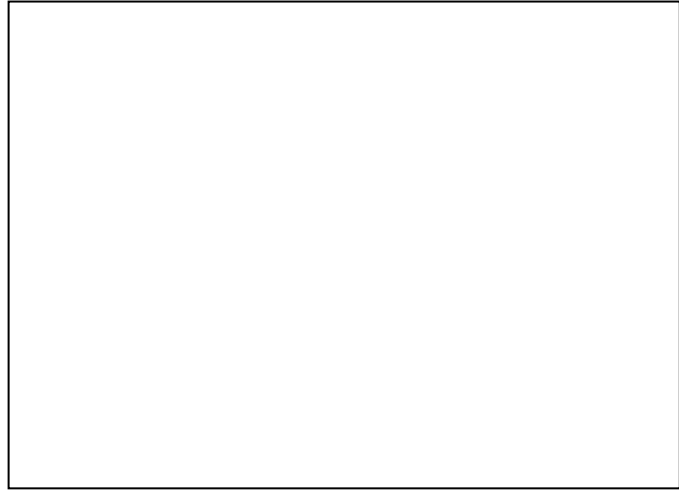
3. *Trichuris spp.*

Konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *



Oxyuroidea

1. *Oxyuris equi*

Konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri

- *
- *
- *
- *



*

2. *Enterobius vermicularis*

Konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

*

*

*

*

*



Öğrencinin çizimi

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

İMZA:

Uygulamanın adı	Nematod yumurtaları 2 (Askarit Yumurtaları)
Yapılacağı hafta	10
Uygulamanın temel hedefi	Ascarid yumurtalarının teşhis yöntemleri ve morfolojik ayrım kriterlerini öğretmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Ascaridoidea ve Oxyuroidea üst ailesine ait yumurtalar, lam, lamel, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ

Gösterilecek yumurtalar:

Ascaridoidea

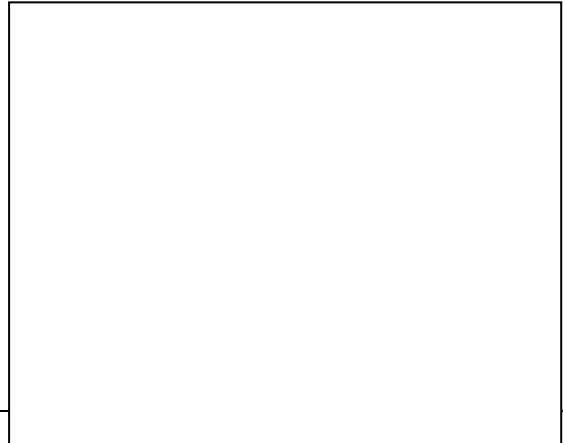
1. *Toxocara canis*

Son konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

2. *Toxocara cati*

Son konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

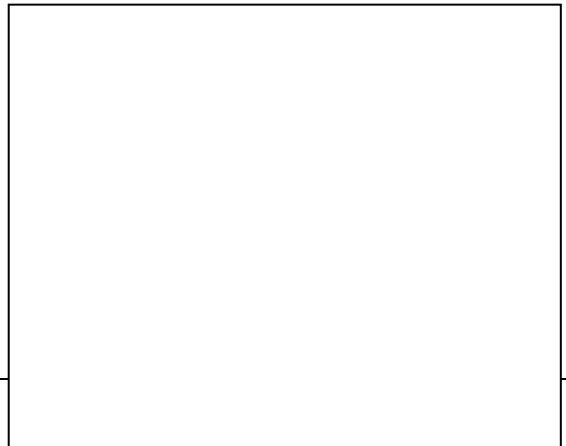
3. *Toxascaris leonina*

Son konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *
- *
- *



4. *Toxocara vitulorum*

Son konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

5. *Parascaris equorum*

Son konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

6. *Ascaris suum*

Son konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

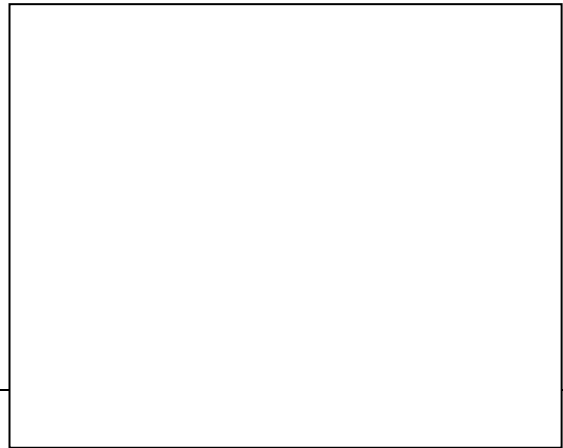
7. *Ascaris lumbricoides*

Son konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

8. *Ascaridia galli*

Son konak;

Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:

Yumurta özellikleri:

- *
- *
- *
- *



Öğrencinin çizimi

Kontrol eden öğretim elemanının adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

İMZA:

--

Uygulamanın adı	Metastrongyloidea larvalarının teşhisi
Yapılacağı hafta	11
Uygulamanın temel hedefi	Dışkıda metastrongylosus larvalarının teşhis yöntemleri ve morfolojik ayırım kriterlerini öğretmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Koyun dışkısı, helmintolojik iodine, lam, lamel, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ			
Dışkıda paraziter ve serbest nematod larvalarının ayırımı			
	Özefagus yapıları	Besin granülleri	Boyut
Serbest nematod			
Paraziter nematod			
Larvalarda ön uç morfolojisi:			
	Rabditiform tip	Filariform tip	

Öğrencinin çizimi

Birinci dönem Metastrongylidae larvalarının arka uç morfolojileri

Dictyocaulus sp. *Cystocaulus sp.* *Neostrongylus sp.* *Muellerius sp.* *Protostrongylus sp.*

--	--	--	--	--

Öğrencinin çizimi

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

İMZA:

Uygulamanın adı	Dirofilaria mikrofilierlerinin teŖhisi
Yapılacağı hafta	12
Uygulamanın temel hedefi	Kanda Dirofilaria mikrofilierlerinin teŖhis metodlarını öğretmek.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Enfekte kan, %2 formol, metilen mavisi, lam, lamel, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ

Kanda mikrofilier aranması:

Bu amaçla kan mikrofilierlerin en çok görüldüğü saat 16:00-18:00 arası alınması gerekir. Kan almadan önce hayvana 12-19 mg/kg dozda asetil kolin deri altı yolla uygulanır. Bu madde mikrofilierlerin kanda hemen yoğunlaşmasını sağlar. Bu amaçla birçok metot vardır.

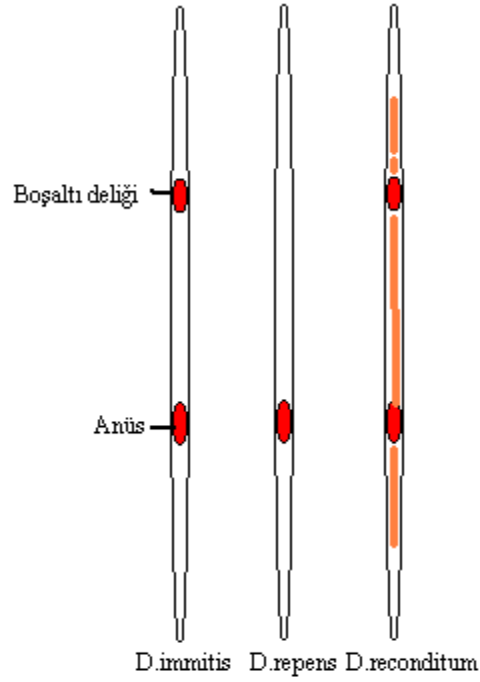
- Kanın doğrudan incelenmesi (Basit teknik):** Antikoagulantlı olarak alınan kan doğrudan lam lamel arasında incelenir. Bu teknikte mikrofilierler hareketli olarak görülür. Ancak tür ayrımı yapılamaz.
- Modifiye Knott Tekniği:** Bir zenginleştirme yöntemidir. Bu metotla hareketsiz ve boyanmış mikrofilierler görülür. Ancak bu yolla tür ayrımı sadece Dirofilaria immitis ve Dipetalonema reconditum görülen ülkelerde yapılabilir. Antikoagulantlı alınan kanın bir ml'si 9 ml %2'lik formalin ile karıştırılır. 3 dakika beklendikten sonra 2000 devir/dak 5 dakika santrifüje edilir. Santrifüj sonucunda üstteki sıvı atılır ve sediment üzerine %0.1 metilen mavisinden 1-2 damla ilave edilerek karıştırılır. Bu karışım lam lamel arasında mikroskopta incelenir. Dirofilaria immitis ve Dipetalonema reconditum mikrofilierlerinin birbirinden morfolojik ayrımı tabloda verilmiştir.

D.immitis ve D.reconditum mikrofilierlerin ayrımı

Uzunluk	Ön kısmı	Kuyruk
D.imm. >300 µm	Sivri ve kancasız	Düz
D.rec. <300 µm	Küt ve kancalı	Kıvrık

- Asit fosfataz tekniği:** Bu teknik bir zenginleştirme yöntemidir ve mikrofilierlerin hangi türe ait olduğunu belirlemede kullanılır. Teknik mikrofilierlerdeki enzim bulunan bölgelerinin boyanması temeline dayanır. Antikoagulantlı olarak alınan 2 ml kan üzerine 18 ml eritrositleri lize edici solüsyon (Triton X-Rom Haas®) ilave edilir. Karışım polycarbonat filtreden (Nücleopore, General Electric Co. USA) geçirilir. Üzerine 2-3 damla metilen mavisi konur. Filtre lam üzerine alınır ve mikroskopta bakılır. Filtrede mikrofilier görülüyorsa AS-TR fosfat enzimi içeren solüsyonla filtrenin boyaması yapılır ve mikroskopta tekrar incelenir. Dirofilaria immitis mikrofilierlerinin anüs ve anterior(Boşaltı deliği) kısımlarında kahverengi-kırmızı boyanmış noktalar görülür. Dirofilaria repens mikrofilierlerinin posteriorunda(Anüs)

tek enzim bandı oluşur. *Dipetalonema reconditum* mikrofilerleri tüm vücudu pembe kahverengi renk alır.



Asit Fosfataz Tekniği ile boyanan Mikrofilerlerin Ayırımı

Mikrofiler incelemesi:

Konak;
Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer:
Mikrofilerin tespit edildiği yer:



Öğrencinin çizimi

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

İMZA:	
Uygulamanın adı	Trichinella larvası ve Nematodlara ilişkin kolleksiyonların gösterimi
Yapılacağı hafta	13
Uygulamanın temel hedefi	Kas dokuda Trichinella larvalarının teşhisini yaptırmak ve Nematodların elimizde olan erişkin dönemlerini morfolojik olarak tanıtmak.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Trichinella larvalarının hazır preparatları, Nematodlara ilişkin koleksiyonlar, mikroskop.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Genel hijyen ve laboratuvar kurallarına uymak.

UYGULAMA BİLGİSİ
Trichinella larvası: Konak; Arakonak; Erişkin parazitin konakta yerleştiği yer: Larva döneminin konakta yerleştiği yer:  Öğrencinin çizimi

Gösterilen Nematodlar:

<u>Parazitin adı</u>	<u>Son konağı</u>	<u>Ara konağı</u>	<u>Yerleştiği organ</u>
----------------------	-------------------	-------------------	-------------------------

Kontrol eden öğretim elemanın adı soyadı:

Uygulama Haftası:

Tarih:

