التشخيص المخبري (2)

لجنة التدقيق العلمي:

1) الأستاذ الدكتور عزام الكردي – جامعة حماه – كلية الطب البيطري – قسم الأحياء الدقيقة.
2) الأستاذ الدكتور شريف شاهين . جامعة حماه . كلية الطب البيطري . قسم وظائف الأعضاء.
3) الأستاذ المساعد الدكتور سامر ابراهيم – جامعة حماه – كلية الطب البيطري - قسم الأحياء الدقيقة.

المدقق اللغوي :

الأستاذ الدكتور محمد عبدو فلفل – جامعة حماه – كلية الآداب – قسم اللغة العربية

منشورات جامعة البعث
المعهد التقاني للطب البيطري

التشخيص المخبري (2)

الدكتور

ناجح هبرة

أستاذ مساعد في قسم الأحياء الدقيقة – كلية الطب البيطري – جامعة حماه

الدكتور

محمد أحمد قباوي

مدرس في قسم الأمراض الباطنة – كلية الطب البيطري – جامعة الفرات

لطلاب السنة الثانية
قسم المخابر

مديرية الكتب والمطبوعات
2015-2014

مُقَدِّمَة

لا بد من التركيز عند تشخيص أي حالة مرضية على ثلاث نقاط رئيسة هي تاريخ الحالة المرضية والأعراض السريرية والتشخيص المخبري ويعد أي تشخيص لا يعتمد على النتائج المخبرية إنما هوتشخيص ناقص ومبتور حتى ولوكان صحيحاً، وقد تطور علم التشخيص المخبري في الاونة الأخيرة وأصبح جزءاً مكملاً لجميع العلوم الطبية البيطرية.

وقد راعينا في هذا الكتاب التركيز على تحليل المعطيات المخبرية ومناقشتها وربطها بالأمراض ذات العلاقة. هذا وقد تم ذكر آلية حدوث هذه الاضطرابات وذلك كمفهوم عام وليس كأمراض محددة.

وأضيف في هذا المؤلف العديد من الموضوعات التي كانت قد أغفلت في الطبعات السابقة مثل فيزيولوجيا الجهاز البولي وفيزيولوجيا التناسل والضرع وغيرها. بالإضافة إلى ذلك عدلنا الفصول الأخرى تعديلاً موافقاً للتطور الذي حصل في علم التشخيص المخبري وكلنا أمل أن نكون قد قدمنا إفادة للطالب الفني البيطري بما يحقق حماية الثروة الحيوانية وتحسينها في هذا الوطن الحبيب ونأمل أن نكون قد أضفنا مرجعاً هاماً للمكتبة العربية.

والله ولي التوفيق

المؤلفان

الفهرس

الجزء النظري

العنوان	المؤلف	الصفحة
الفصل الاول		
تقييم وظائف الجهاز البولي	د. ناجح هبرة	7
الكلية	د. ناجح هبرة	8
تحليل البول	د. ناجح هبرة	13
جمع وحفظ العينات البولية	د. ناجح هبرة	14
التقييم الفيزيائي أو الإجمالي للبول	د. ناجح هبرة	17
الفحص الكيميائي للبول	د. ناجح هبرة	23
الفحص المجهري لراسب البول	د. ناجح هبرة	34
اختبارات تقييم وظائف الكلية	د. ناجح هبرة	55
الفصل الثاني		
فحص السائل المنوي	د. محمد قباوي	69
الجهاز التناسلي الذكري	د. محمد قباوي	69
الفصل الثالث		
فحص الحليب	د. محمد قباوي	71
لمحة تشريحية وفيزيولوجية عن الضرع	د. محمد قباوي	71
الحليب	د. محمد قباوي	86
الاختبارات الحقلية لتشخيص التهاب الضرع	د. محمد قباوي	97
الفحص الفيزيائي للحليب	د. محمد قباوي	102
الفحص الكيميائي للحليب	د. محمد قباوي	107
الفحص الجرثومي للحليب	د. محمد قباوي	111

غش الحليب	د. محمد قباوي	121

الجزء العملي

الفصل الاول		
الفحص الفيزيائي للبول	د. ناجح هبرة	125
الفحص الكيميائي للبول	د. ناجح هبرة	129
الفحص المجهري لراسب البول	د. ناجح هبرة	141
الفصل الثاني		
فحص السائل المنوي	د. محمد قباوي	158
الفصل الثالث		
فحص الحليب	د. محمد قباوي	162
طرائق الفحوص الفيزيائية للحليب	د. محمد قباوي	162
طرائق الفحوص الكيميائية للحليب	د. محمد قباوي	173
طرائق الفحوص الجرثومية للحليب	د. محمد قباوي	179
طرائق الكشف عن غش الحليب	د. محمد قباوي	192
المصطلحات	د. ناجح هبرة	199
المراجع العربية		205
المراجع الأجنبية		206

تقييم وظائف الجهاز البولي

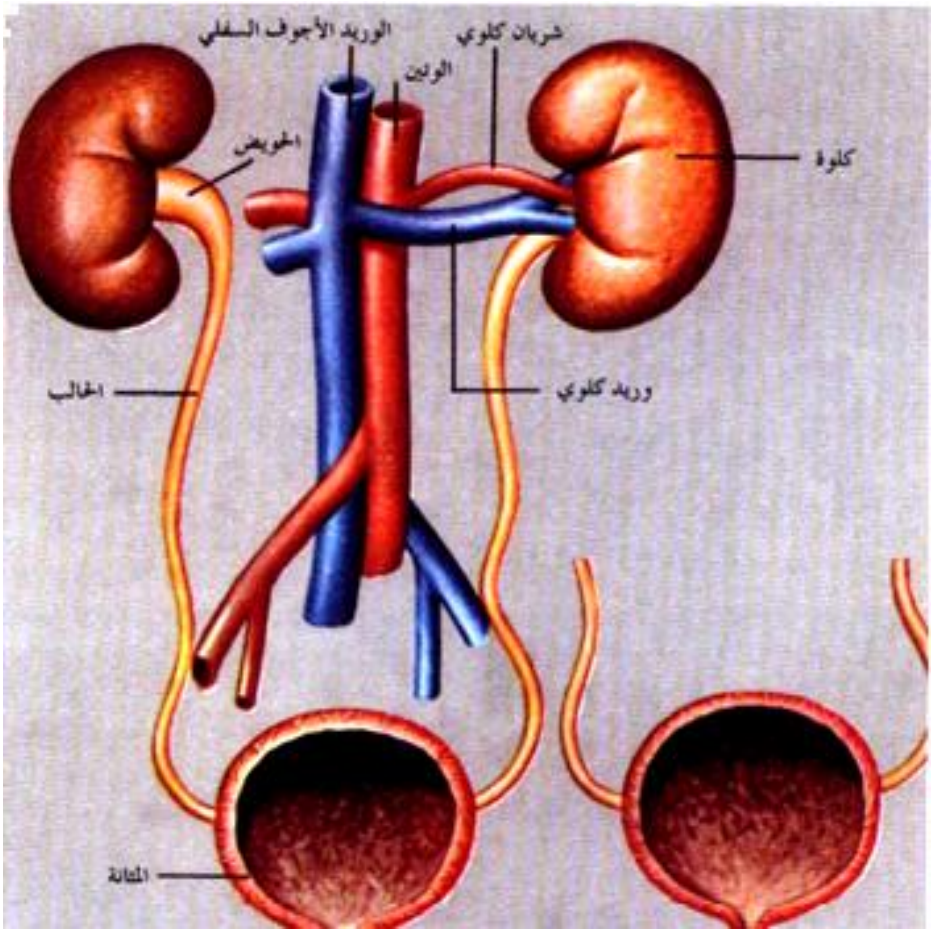
Evaluation of Urinary system function

تعريف الجهاز البولي :

هو الجهاز المسؤول عن تصنيع واطراح البول والفضلات الاستقلابية خارج الجسم

أجزاء الجهاز البولي :

يتكون الجهاز البولي من الكليتين والحالب والمثانة والإحليل .



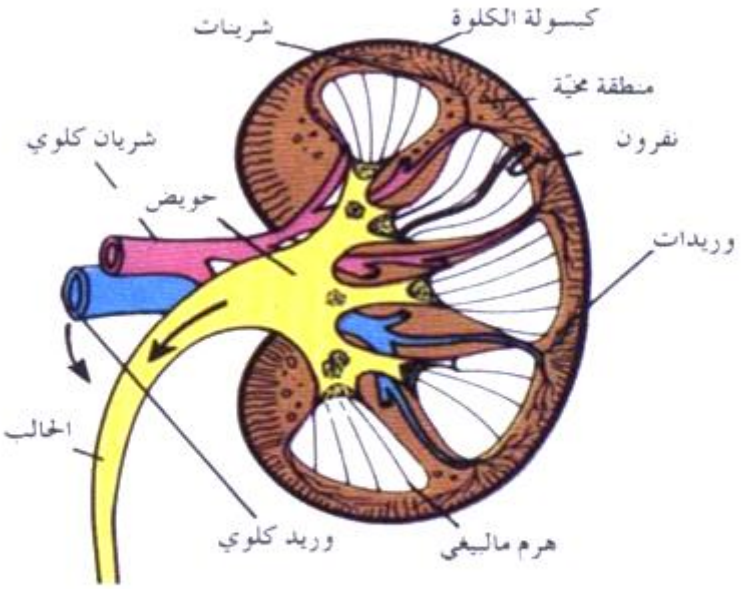
الشكل (1)

صورة ترسيمية للجهاز البولي

الكليـة
Kidney

البنية التشريحية للكلية:

حتى ندرك معنى النتائج الحقيقية لتحليل البول ، من الضروري تفهم القواعد الأساسية لآلية عمل الكلية . والكلية هي من الأعضاء الرئيسة في الجسم التي تساهم بتنظيم الوسط الداخلي للجسم . والبول هو النتيجة الثانوية للنشاطات التي تقوم بها الكلية .



الشكل (2)

تركيب الكلوة الداخلية

الكليتان عضوان لونهما بني محمر مائل للزرقة ، في الجزء الخلفي للتجويف البطني ناحية الظهر وعلى جانبي العمود الفقري أعلى البريتون ، والكليتان غير متناظرتين ، فالكلية اليمنى تقع إلى الأمام قليلاً من الكلية اليسرى . (عند الخنازير تكون في مستوى واحد) . ويحيط بكل كلية كتلة شحمية تسمى المحفظة الشحمية ، وفي كل الحيوانات المستأنسة تأخذ الكلية تقريباً شكل حبة الفاصولياء . ولكل كلية سطحان ظهري وبطني ،

وطرف الكلية الداخلي أو البطني مقعر يسمى السرة وعندها تدخل الاوعية الدموية. وتحاط كل كلية بنسيج ليفي رقيق يحتوي على القليل من الألياف المرنة والعضلية يسمى بالمحفظة الليفية للكلية وهذه المحفظة تغور عند السرة ليكون النسيج الخارجي لحوض الكلية ، وتتركب الكلية من جزئين رئيسين هما القشرة واللب ويعتبر النفرون الوحدة الوظيفية للكلية ، وتحوي كل كلية مليون نفرون تقريباً . ويظهر مقطع الكلية ثلاث طبقات هي :

1- قشرة ليفية خارجية

2- قشرة مخية

3- المنطقة النخاعية التي تغلفها القشرة المخية من كل جوانبها

وتتكون المنطقة النخاعية من عدد من التشكيلات المثلثية (الهرمية) تسمى أهرامات مالبيكي التي قد تبقى منفصلة أو تلتحم جزئياً أو كلياً حسب نوع الحيوان ، وتعرف قمة الأهرامات بالحلمة الكلوية ، فإذا التحمت هذه الحلمات لتكون حلمة كلوية واحدة تسمى الحلمة الكلوية العامة أو العرف الكلوي ومثل هذه الكلية تسمى بالكلية وحيدة الحلمة كما هو الحال عند الأغنام والجمال والكلاب ، أما إذا بقيت الحلمات منفصلة فتسمى الكلية بالكلية عديدة الحلمات كما هي الحال عند الأبقار والخنازير. أما القشرة فرخوة حبيبية لونها بني محمر وتقع على قواعد الأهرامات وتتميز بعروات صغيرة هي الكبيبات وهي تمثل وحدة التصفية أو النفرون .

النفرونات :

وهو الجزء المكون لمعظم بنية الكلية وإن معظم وظائف الكلية الحيوية تتم وتلتئم في النفرونات(الكلية تحوي الملايين من النفرونات) . ولذلك يطلق عليها وحدة الترشيح الكلوية .

أقسام النفرون :

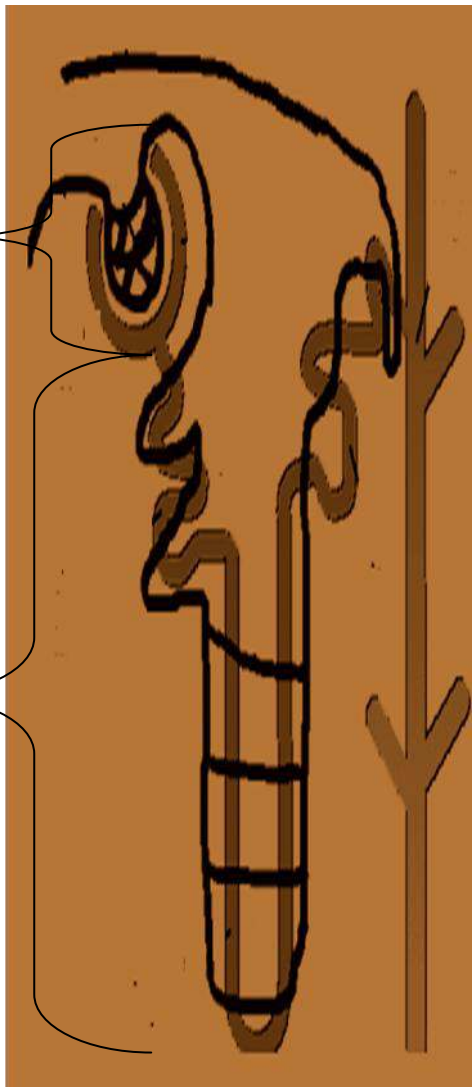
يتألف النفرون من جزيئين :

الجزء الكبيبي : Glomerula

هي كتلة مكونة من جزيئين الجزء الوعائي الدموي ومحفظة بومان، كلا الجزئيين يطلق عليه كبة مالبيكي وفيهما يتم ترشيح الدم ، والرشيح هنا يطلق عليه الرشيح الكبيبي.

الجزء الأنبوبي : Tubular

تقوم بدور إعادة امتصاص بعض المواد من الرشيح البولي التي يكون الجسم بحاجتها ولهذا يتم الحفاظ على الاتزان البدني والرشيح الكبيبي يعتمد على غزارة واتساع جريان الدم إلى الكلية أي إن عملية الترشيح تتم بين الكبة الوعائية (الجزءالدموي) ومحفظ بومان وهي عملية تبادل أسموزي بحتة



الشكل(3)

ألية تكوين الرشيح البولي:

وتتم على النحو الآتي :

بعد دخول الشريان الكلوي إلى الكلية ينقسم على التوالي إلى فرعين :

1- الشريان بين الفصي المقوس (يحيط بقشرة الكلية) .

2- الشريان بين الفصي المتفرع. هو يشكل الشريان الوارد إلى محفظة بومان، يتفرع بدوره إلى شريينات كثيرة ودقيقة فيشكل شبكة من الاوعية الشعرية داخل كبة مالبيكي ، وإن التصاق أو تماس جدران كل من الشريينات الدموية والطبقة الحشوية لمحفظة بومان يشكل جداراً نصف نفوذ تعبر من خلاله مكونات البلازما إلى التجويف الأنبوبي بعملية ترشيح بسيطة . ثم بعد ذلك تتحد هذه الاوعية الشعرية من جديد لتشكل الشرينات الكبيبية الصادرة ، وهذه يكون قطرها أصغر من قطر الشرينات الكبيبية الورادة وهذا الاختلاف في قطر الشرينات الدموية يساعد على حفظ الترشيح . والشرينات الصادرة هذه تمر بعد ذلك إلى النبيبات الكلوية وتشكل شبكة من الشرينات تحيط بالنبيبات الكلوية وتعمل على إعادة امتصاص المواد المفيدة للجسم من الرشيح الكبيبي وبنهاية المطاف تتحد الشرينات الصادرة لتشكل الضفيرة الوريدية وفيها تتحد لتشكل الوريد الكلوي

هذا الطريق المتعرج لتيار الدم داخل الكلية له أهميته من أجل كفاءة الكلية الوظيفية ولهذا فإن أي تغير حيوي للكلية أو مرض الكلية يحدث بسبب ضعف جريان الدم خلال الكلية الطبيعية .

يمكن تلخيص وظيفة االنبيبات الكلوية بما يلي :

- النبيبات القريبة Proximal tubules

تكون مسؤولة عن إعادة امتصاص المركبات أو المواد المفيدة للجسم مثل الغلوكوز – الحموض الأمينية – الصوديوم – البوتاسيوم .....الخ .

- أنشوطة هينل أو عروة هنيل : Loop of Henle

تعمل على ضبط الماء والكهارل ، ولكن هذه الوظيفة تتم بشكل أوضح في النبيبات البعيدة distal tubules والانابيب المجمعة للبول collecting tubules كما أن التوازن

البدني للأحماض والأسس يتم في النبيبات البعيدة وذلك باستبدال الهيدروجين بالبوتاسيوم وتخليق الأمونيا .

وظائف الكلية :Functions of kidney

تقوم الكلية بالوظائف التالية

1- طرح الكمية الزائدة من الماء عن حاجة الجسم والعمليات الاستقلابية .

2- اطراح العناصر اللاعضوية على حسب حاجة الجسم .

3- حجز المواد التي يكون الجسم بحاجتها للحفاظ على وظيفة الجسم الطبيعية مثل الأحماض الأمينة ، البروتينات والفيتامينات والهرمونات والغلوكوز والشوارد..... إلخ

4- اطراح المواد السمية الغريبة وتخليص الجسم منها .

5- تشكيل واطراح المواد مثل أيونات الهيدروجين والأمونيا . أي أن الكلية تؤدي دوراً هاماً في تنظيم توازن الماء وبالتالي الحفاظ على الضغط الأسموزي لسوائل الجسم وتوازن الحموض والأساس والكهارل المختلفة .

عموماً يعتمد تطبيق الطرق المخبرية على المظاهر الإكلينيكية التي تظهر على الحيوان فيما يخص هذا الجهاز أو أجهزة أخرى بالإضافة إلى ما قد يلاحظ على البول من تغيرات مثل :

أ- مكونات البول غير طبيعية .

ب- تغيرات في كمية البول المطروحة يومياً .

ج- صعوبة التبول .

د- عدم التبول .

تحليل البول
Urinalysis

يتضمن التحليل البولي من بعد جمع العينة البولية وحفظها الخطوات الآتية :

أ- الفحص الكيميائي للبول : Chemical examination

ب- الفحص الفيزيائي للبول : Phyisical examinatin

د- الفحص المجهري للبول: Microscopic examinatin

هـ- اختبارات وظائف الكلية : Renal function

وبإجراء هذه الاختبارات يمكن التوصل لتشخيص صحيح لأمراض الجهاز البولي . وهذه التحاليل تحدد من قبل الطبيب الفاحص وذلك على حسب الحالة المرضية الراهنة التي تم تشخيصها سريرياً . ومن أجل أن تكون النتائج المخبرية والتحاليل صحيحة لا بد من التعرض لكيفية جمع عينات البول وحفظها وإرسالها إلى المختبر .

جمع وحفظ العينات البولية:
Collection and preservation of urine

- اعتبارات عامة :

1- عند جمع العينات البولية من الحيوان يجب تنظيف الغلغة (Prepuce) أو الفرج لأن تلوث العينة سوف يغير من النتيجة.

2- عند استخدام القسطرة المبالية Catheterization .

يجب أن يؤخذ بالاعتبار أنه ممكن مشاهدة التالي في عينة البول :

- كريات حمراء في العينة بسبب جرح في مجرى القناة البولية التناسلية.
- وجود مواد دهنية في عينة البول نتيجة لاستخدام المواد المساعدة والمزلقة لإدخال القثطرة وهذا يفرض على جامع عينة البول أن يقوم بما يلي.

3- تعقيم القثطرة وغسل الغلغة وتعقيم الاواني الخاصة لجمع البول إذا كان الغرض من العينة الفحص الجرثومي .

4- استبعاد الدفقات الاولى من خروج البول

جمع البول من الحيوانات الصغيرة : Cystocentesis ويتم:

1- بواسطة محقن لسحب البول من المثانة مباشرة عن طريق جدار البطن المقابل للمثانة ، مع الأخذ بالاجراءات اللازمة للتطهير

2- بواسطة التدليك الخفيف حتى ترتخي العضلة القابضة للمثانة وينزل البول .

(التدليك يكون من الخارج وأمام منطقة المثانة) .

- جمع البول من الحيوانات الكبيرة : ويتم إما:

- باستخدام القثاطر المعدنية لإناث الحيوانات والقساطر المطاطية لذكور الخيل والكلاب
- أو عن طريق تدليك المثانة من خلال مستقيم الحيوان كما ذكر آنفاً .

كمية البول المراد جمعها :

من أجل التحليل الإجمالي للبول يلزم بصورة عامة أخذ عينة البول بالأحجام التالية :

100 – 200 سم3 من الحيوانات الكبيرة .

20 – 50 سم3 من الحيوانات المتوسطة الحجم .

5 – 10سم3 عند الحيوانات الصغيرة .

طرق حفظ عينات البول : Preservation

بعد الحصول على عينة البول يجب فحص العينة مباشرة حتى لا يحدث أي تغير في مكونات البول الأساسية وإعطاء نتائج مغلوطة وفي حال احتمال التأخير في إجراء الفحوص مباشرة يجب اتخاذ الاحتياطات اللازمة لحفظ عينات البول بإضافة بعض المواد الحافظة (البول يعتبر وسط ملائم لنمو الجراثيم) :

ومن المواد الحافظة للبول المواد التالية :

1- البراد : Refrigeration

وفيه لاتتأثر قيمة السكر بالبول عند الاشتباه بالزرب السكري .

2- حمض البوريك : Boric acid .

يضاف 0.3 غرام / 120سم3 بول يحفظ البول لمدة 4– 8 ساعات لا ينصح باستعماله عند فحص بلورات حمض البول

3- الفورمالين : Formalin %40 عند الفحص المجهري للبول يفضل استخدام الفورمالين بمعدل نقطتين / 30 سم3 بول (لا يستعمل عند الفحص الجرثومي للبول)

4- الكلورفورم : Chloroforme

أقل أنواع المواد الحافظة استعمالاً لأنه يؤثر على كشف السكر .

5- الثيمول Thymol

0.1 غرام لكل 100سم3 بول .(لا يستخدم لاختبار الزلال أو الألبومين في البول) .

6- التولوين Toluene

أكثر المواد الحافظة استعمالاً إذ يضاف كمية كافية منه لعينة البول بحيث يشكل طبقة فوق العينة تمنع التلوث .

الفحص الفيزيائي أو الإجمالي للبول
Physical examination

ويتضمن الفحص الفيزيائي للبول الكشف عن بعض التغيرات التي تحدث في الخواص الطبيعية للبول منها

1- حجم البول : Urine Volume

لتقدير حجم البول يلزم جمع عينات البول من الحيوان على مدار 24 ساعة ، ومن الناحية الفيزيولوجية يكون حجم البول معتمداً على عدة عوامل طبيعية منها كمية الماء والسوائل الأخرى المتناولة وحجم الحيوان ونشاطه والعامل الغذائي ودرجة حرارة الجسم والوسط المحيط . وحجم البول يختلف من حيوان إلى آخر والنسب التقريبية خلال 24 ساعة هي كمايلي :

الكلاب(0.5- 1.5 لتر) ، القطط (100- 20 سم3) ، الخيول(3- 12 لتر)
الأبقار (8 - 20 لتر) ، الماعز والأغنام (0.5 - 3 لتر) .

وحجم البول أو التغير في حجم البول مؤشر هام لأمراض الكلية والكثافة النوعية فإذا كان حجم البول كبيراً نقصت الكثافة والعكس صحيح .

دلائل حجم البول :

1- زيادة حجم البول : Polyuria

A- دلائل عارضة :

وتكون بسبب

1- زيادة في تناول أو شرب الماء والعليقة الخضراء
2- أخذ مدرات البول
3- حقن هرمون ACTH (adrenocorticotrophic hormone) أو حقن أو تناول المركبات الكورتيزونية Corticosteroid .

B- دلائل مرضية: Pathology

ويحدث بسبب أحد العوامل الآتية .

1 – التهاب النفرونات بين خلالي المزمن

2– الزرب السكري

3– الداء السكري التفه (diabetes insipidus)

4– الاستحالة النشوية المتقدمة للكلية .

2ً– قلة التبول oliquria

A– دلائل طبيعية: نتيجة

- قلة شرب الماء
- زيادة في درجة حرارة الوسط
- التمارين الرياضية .

B– دلائل مرضية : وتحدث لأحد الأسباب الآتية :

1– التهاب الكلية الحاد

2– الجفاف نتيجة (الإسهال ، القيء) .

3– النزف : المراحل المبكرة لقصور الكلية يكون مترافقاً مع فقد الدم وهذا يؤدي إلى قلة حجم البول .

3ً– عدم التبول : anuria

ويحدث إما لأسباب تتعلق بـ :

أ– بالكلية : بسبب إما :

1– تلف محفظة بومان كلياً أو

2– انسداد النبيبات الكلوية .

ب– بعد كلوي :

وفيه يكون هناك إما

1– انسداد كامل في كلا الحالبين بسبب حصوات أو انسداد كامل للمبال

2– تلف كامل بالمرشحات الكبيبية (نفرونات الكلية)

وجود مثل هذه الحالات يترتب علية حدوث تبولن للدم (Urimia) ، والنفوق هو النتيجة الحتمية للحالات .

2- اللون: Color

توضع عينة البول في أنبوب اختبار زجاجي وبالنظر اليها يسجل اللون الآتي :

- **بول أصفر** **Yellow**
- **بول عديم اللون** **Colorless**
- **بول أصفر شاحب** **Pale yellow**
- **بول أصفر غامق** **dark yellow**
- **بول أصفر مخضر** **greenish – yellow**
- **أحمر** **Red**
- **بول بني مصفر** **yellow – brown**
- **بني محمر** **Redish - brown**
- **بني إلى بني مسود** **Brown to brownish black**
- **أخضر** **Green**
- **أزرق** **blue**
- **حليبي** **milky**

لون البول الطبيعي يتراوح ما بين الأصفر الشاحب إلى البني المصفر ، واللون الأصفر في البول يعود لوجود الأصباغ الصفراوية urobilinogen urochrom ففي حالة زيادة نسبة هذه الأصباغ في البول يبدو بلون أغمق من الطبيعي ، أما نقصها فيظهر البول بلون شاحب. فيما يلي سنذكر دلائل كل لون يأخذه البول .

1- البول عديم اللون إلى الاصفر الشاحب

(يترافق مع زيادة التبول ونقص الكثافة النوعية)

ويحدث بسبب :

1- التهاب الكلية بين الخلالي المزمن .

2- الداء السكري التفه .

3- الزرب السكري

4- شرب كميات كبيرة من الماء والسوائل .

5- التهاب الرحم الصديدي .

2- البول لونه أصفر غامق إلى بني مصفر :

وهذا يكون بسبب تركز الأصباغ البولية urochrom ويتميز بارتفاع الكثافة النوعية مع قلة التبول و يلاحظ هذا في :

1- التهاب الكلية الحاد .

2- الجفاف أو القيء .

3- الحمى وقلة تناول السوائل والماء .

3- البول لونه بني مصفر إلى أصفر مخضر :

ويحدث نتيجة تحول الأصباغ الصفراوية إلى بيلفردين biliverdin بسبب أكسدة البيلبروبين وعند رج العينة تظهر رغوة بلون أصفر مخضر .

4- لون البول أحمر إلى بني محمر :

اللون الأحمر أو الخمري للبول يكون بسبب وجود الهيموغلوبين أو الكرات الدموية الحمراء

5- لون البول بني إلى بني مسود :

يمكن أن يكون هذا اللون طبيعياً بالنسبة لبول الخيول عند تخزينه فترة طويلة.وأيضا بوجود مرض البيلة الآزوتية Azoturia عند الخيول ، والتسمم بحمض الكربون

6- البول لونه أزرق مخضر: بسبب تناول أزرق المثلين والديزان لدواع علاجية

7- البول أخضر أو ضارب للخضرة : يكون بسبب تناول الإكريفلافين

3- الشفافية Transperancy :

وتقدر شفافية البول بالنظر إلى عينة البول في أنبوب الاختبار وتسحيل الآتي :

1- واضح Clear

2- غير رائق Cloudy

3- شمعي floculet

1- واضح :

بول كل الحيوانات المستأنسة والسليمة يكون رائقاً ما عدا بول الخيول فإنه غير رائق بسبب وجود بللورات كربونات الكالسيوم مع مخاط (الميوسين)

2- غير رائق (عكر): Cloudy

يكون بسبب وجود أحد المكونات العضوية مثل الخلايا البيض والظهارية (إجراء فحص الراسب للتأكد من ذلك)

3- شمعي floculet :

وجود الدهن في البول يعطيه اللون الأكمد الشمعي إذا وجد بكمية كبيرة

4- الرائحة : odor

يمكن أن نشم رائحة الأمونيا إذا تحولت اليوريا إلى أمونيا بفعل البكتريا، أو رائحة الفاكهة المتخمرة الوخاذة بسبب وجود الأجسام الكيتونية أو في حالة الزرب السكري .(الرائحة تختلف حسب نوع الغذاء).

5- لزوجة البول (قوامه) Aspect or Viscosity :

بول كل الحيوانات ذو قوام مائي ما عدا بول الخيول ، وعموماً فإن زيادة لزوجة البول مؤشر على احتوائه على الزلال(الالبيومين) والميوسين وهذا يحدث بسبب التهاب المثانة عند الكلاب والقطط وعند الأبقار بحالة التهاب الكلية وحوضها الجرثومي .

6- الرغوة Foam :

عند رج عينة البول في أنبوبة الاختبار نجد الآتي :

أ- البول الطبيعي يشكل رغوة بيضاء محددة (تزول بسرعة) .

ب- وجود الأصباغ الصفراوية يتشكل رغوة خضراء مصفرة

ج- وجود الهيموغلوبين بالبول يتشكل رغوة لونها أحمر إلى بني

7- الكثافة النوعية : Specific qravity

قياس الكثافة النوعية للبول يعني قياس نسبة المواد الصلبة المنحلة بالبول أي أنها مؤشر على درجة إعادة امتصاصها من النبيبات الكلوية وتقاس الكثافة إما بواسطة مقياس الانكسار refractometer أو بمقياس الكثافة البولية urinometer . وتختلف الكثافة حسب نوع الحيوان فهي تتراوح عند الخيول من 1.020– 1.060، ومجالهاعندالأبقار من 1.025 – 1.045 وعند الأغنام والماعز تتروح من 1.015 – 1.070 . (دلائل الكثافة النوعية المرضية سواء الزيادة أو النقصان سوف تشرح لاحقاً) .

الفحص الكيميائي للبول
Chemical Examination of urine

يحتوي البول على عدد كبير من المواد لعضوية . ولكن البعض من هذه المواد فقط هي التي لها دلائل تشخيصية عند تحليل البول. مثل البروتين– الغلوكوز– تفاعل PH – الدم– الأنديكان.

1– تفاعل PH

الاختلافات في درجة تركيز أيون الهيدروجين أو درجة تفاعل Ph يعكس في معظم الأحوال أمراضاً داخلية أكثر منها أمراضاً تتعلق بالجهاز البولي وتفاعل PH له علاقة بنوعية الغذاء الذي يتناوله الحيوان ، فهو قلوي عند الحيوانات العاشبة وحامضي عند الحيوانات اللاحمة .

ودرجة تفاعل pH الطبيعية هي :

عند الأبقار والأغنام والماعز ← 7.4 – 8.4

وعند القطط والكلاب ← 6 – 7

وعند الخيول ← 8

وعند الخنازير ← 8, 4 – 5, 5

تحليل النتائج Interpretation :

أ– البول حامضي :

ويكون للأسباب الآتية :

1– هو طبيعي عند الحيوانات اللاحمة والعجول والأمهار الرضيعة

2– نتيجة الجوع أو التغذية العالية بالبروتينات

3– الحمى .

ب– البول قلوي : ويكون نتيجة للآتي :

1– هو طبيعي عند الحيوانات العاشبة .

2– بسبب التهاب المثانة وهذا يعتمد على نوع الجرثومة .

2- البروتين Protein uria :

بول كل الحيوانات الطبيعي خال من البروتين لأن معظم البروتينات التي تعبر من خلال الرشيح الكبيبي يعاد امتصاصها بواسطة الأنيبيبات الكلوية .

ويمكن تقسيم أسباب وجود البروتين في البول إلى الأسباب الآتية

1- أسباب مؤقتة

وتكون بسبب :

أ- احتقان الشعيرات الدموية الأمر الذي يترتب عليه زيادة في نفاذية مرشحات الكبيبات للبروتين للأسباب الآتية :

- الإجهاد العضلي والجنسي ، أو التوتر والاضطراب أو التشنجات .
- زيادة تناول المواد البروتينية .

2- **أسباب كلوية: Renal Protein uria**

1- التهاب الكلية الحاد ويتميز بوجود البروتين+ أسطوانات .

2-التهاب النفرونات المزمن ويتميز بوجود البروتين+ كريات حمر وبيض

3- التهاب الكلية وحوضها ويتميز بوجود البروتين+كريات حمر+كريات بيض

4- الأدوية والمواد التي تسبب تلفاً شديداً للكلية مثل الرصاص ، الزرنيخ

5-الاستحالة النشويه للكلية : ويتميز بوجود البروتين + أسطوانات شمعية .

3- البروتين لأسباب بعد كلوية : Postrenal Protein uria

إما يكون كإفراز طبيعي من القناة البولية التناسلية أو نتيجة للاصابات التالية .

1- التهاب الحالبين والمثانة والإحليل

2- التهاب البروستات .

3- التهاب حوض الكلية .

4- البروتين ما قبل الكلية : Pre–Renal pratein uria

ويحدث لأسباب متعددة منها :

1- أمراض واضطرابات الجهاز الدوري كقصور القلب والتغيرات المورفولوجية للاوعية الدموية مما يزيد شدة نفاذية الاوعية للبروتينات فتختلط بالبول .

2- فقر الدم الانحلالي ينتج عنه زيادة تحرر الهيموغلوبين وظهوره في البول وكذلك وجود الميوغلوبين myoglobine في البول أثر مجهود عضلي عنيف (البيلة الآزوتية عند الخيل) وهذه تعطي تفاعل إيجابي للبروتين بالبول .

3- الدم في البول : Blood in urine

الدم في البول إما يكون على هيئة بيلة دموية Hematouria أو على شكل بيلة خضابية Hemoglobin uria ولهذا يجب التفريق بينهما لأن لكل منهما المسببات التي تختلف عن الأخرى فوجود البيلة الخضابية يعكس أمراضاً جهازية أما البيلة الدموية فتكون مؤشراً على أمراض تتعلق بالكلية وما بعدها أي بالقناة البولية التناسلية

البيلة الدموية : Hematouria

تظهر الكريات الحمر بالبول بشكلها السليم ويعود هذا للأسباب الآتية

1- التهاب الكلية الحاد .

2- أورام خبيثة في الكلية أو المثانة أو البروستات .

3- خراجات بالكلية .

4- التهاب الكلية وحوضها .

5- التسمم بالمواد الكيميائية مثل النحاس ، الزئبق ، السلفوناميد ،

6- التهاب المثانة .

7- الحصوات البولية بالحالب والمثانة والكلية .

8- التهاب الحالب والمبال .

9- التهاب البروستات .

10- الإصابة الشديدة بمرض الجمرة الخبيثة ، الليبتوسبيرا .

ب- البيلة الخضابية بالبول: Hemoglobin urea

وجود الخضاب في البول يكون نتيجة التحلل الشديد لكريات الدم الحمراء داخل الاوعية الدموية بسبب الإصابة ببعض الأمراض الداخلية والعوامل التسممية ويترافق وجود

الخضاب في البول مع الحالات الآتية : 1- البيلة الخضابية بعد الولادة عند الأبقار والجاموس وتكون مصاحبة لنقص الفوسفور بالدم وللتأكد من ذلك يجب

- أخذ تاريخ الحالة المرضية
- قياس الفوسفور غير العضوي بالمصل فالفوسفور ينقص إلى أقل من 2 ملغ بالدم (هذا المرض غير مصنف وغير معروف السبب)

2- البيلة الخضابية نتيجة الإصابة بعصيات المطثية المحللة

3- العدوى بعصيات المطثية ولشي (الحاطمة) نوع A

3- الاحتشاء Infestation نتيجة الإصابة بالطفيليات الدموية مثل البيروبلازموس أو البابيزيا.

4- التسمم وهذا يتضمن السموم االجرثومية والتسمم الكيميائي بالرصاص والنحاس والزئبق وللتأكد من ذلك لا بد من أخذ تاريخ الحالة ومعرفة البيئة القاطن بها الحيوان لاحتمال وجود نباتات سامة أو التسمم بالمبيدات الحشرية .

6- الحروق الشديدة .

7- التغذية بكميات كبيرة على تفل الشوندر aphosphorosis .

9- أحياناً تصاب العجول الصغيرة نتيجة شرب الماء البارد بكثرة.

4- ميوغلوبين العضلات في البول : Myoglobin uria

وجوده في البول دليل تخريب شديد بالعضلات كما هو الحال في مرض البيلة الآزوتية في الخيول Azoturia (تخريب العضلات بهذه الأمراض يكون مصاحب لتركيز عالي بحمض اللبن في العضلات) . وهناك مسببات أخرى تؤدي إلى وجود الميوغلوبين في البول مثل :

أ- الكدمة اليدوية .

ب- الصدمة بالتوتر العالي للكهرباء .

ج- بعض سموم الثعابين .

5- الغلوكوز : Glucose

يكون البول الطبيعي والمفرز من مرشحات الكبب خالياً من سكر الغلوكوز ، ولكن عند تطبيق الاختبارات الروتينية لإثبات وجود الغلوكوز في البول لا تظهر النتيجة في الحقيقة فقط سكر الغلوكوز بل تظهر عدداً من المواد الشائعة الموجودة في البول والقادرة على اختزال النحاس في المحلول القلوي الساخن، ولأن الغلوكوز هو السكر الوحيد الموجود في الدم والمهم من الناحية الإكلينيكية. لهذا يجب التفريق بين الغلوكوز والمواد الأخرى باستخدام شريط كروما توغرافي chromatography strip أو بالطرق الأنزيمية للتأكد من وجود الغلوكوز من عدمه، ومن المواد التي تعطي تفاعلاً إيجابياً كاذباً للغلوكوز والتي تختزل النحاس المواد التالية :

– المضادات الحيوية مثل الستربتوميسين ، أريوماسين ، ترامیسین – بنسلين .

– اللاكتور. – حمض اللبن . – المورفين . – الساليسيلات (عند الماعز لأكلها لشجر الصفصاف) أو العلاج بالأسبرين .

– دلائل وجود الغلوكوز بالبول :

بسبب أحد هذه العوامل :

1– في حالات الإجهاد ، الخوف ، النشاط الجنسي ، الغضب ، .

2– الزرب السكري.

3– تنخر المعثكلة الحاد .

4– فرط نشاط الغدة الدرقية.

5– بعد التخدير العام .

6– التهاب الكبد المزمن .

5– تناول وجبات غنية بالكربوهيدرات .

6– الأجسام الكيتونية Keton Bodies

الأجسام الكيتونية تتضمن حمض الخل والأسيتون وبيتا هيدروكسي حمض الزبدة وهذه كلها نواتج لاستقلاب الدهون وتراكم متمم أنزيم الأستيل غير المستخدم في تخليق الدهون أو دورة الدهن. وعندما تزداد كمية الأحماض الدهنية المستخدمة بالعليقة يزداد إنتاج هذه الأجسام وتراكمها بالدم ومن ثم تطرح في البول .

- دلائل وجود الأجسام الكيتونية بالبول :

1- الزرب السكري المترافق باستخدام ناقص لمواد الكربوهيدرات .

2- تناول وجبات غذائية غنية بالدهن .

3- تلف كفاءة الكبد (الفشل الكلوي) .

4- بعد التخدير بالكلورفورم والأثير .

5- الجوع والصيام اللذان يحصل بسببهما استنزاف لمواد الكربوهيدرات المخزونه ويسود استقلاب الدهن .

6- اضطراب الغدد الصم مثل فرط الهرمون الذكري (الأندروجينات)، فرط نشاط الفص الأمامي للغدة النخامية .

7-حمض اللبن في الأبقار، تخلون الدم عند المجترات ، التسمم الحملي عند النعاج (حمل التوائم)

7- الكلور في البول : urin chloride

يحوي البول على كميات معينة من كلور الصوديوم ويشكل هذا الملح النسبة العظمى بالنسبة للأملاح المعدنية الموجودة في البول إذ يحوي البول على كلوريد البوتاسيوم وكلوري الأمونيوم ، الكالسيوم ، المغنيزيوم .

- دلائل وجود الكلوريد بالبول : (موجودة بشكل طبيعي بالبول) .

1- نقص مستوى الكلوريد بالبول :

ويحدث لأحد الأسباب :

- الصيام والجوع .
- التقيؤ الشديد.
- الإسهال الشديد أو المستمر .
- الالتهابات الحادة والمترافقة بحدوث ارتشاحات أو وذمات .
- قصور القلب الاحتقاني .

2- زيادة مستوى الكلوريد بالبول :

للأسباب الآتية :

- تناول كميات عالية من الكلوريدات . (ملح الطعام) .

– مرض أديسون .

– أخذ المدرات البولية .

– التهاب الكلية الخلالي المزمن .

8– كالسيوم البول :Calcium in urin

يوجد الكالسيوم طبيعياً في البول بكميات تختلف من كائن إلى آخر كما هو مبين في الجدول التالي :

جدول رقم (1) يوضح كمية الكالسيوم الطبيعي في البول

النوع	الإفراز mEq / day
الكلاب	7.0 – 0.1
القطط	0.11
الأبقار	7.3 –4.5
الإنسان	18 –2

دلائل وجود الكالسيوم :

نقص كالسيوم البول:

يحدث عندما يكون

- مستوى كالسيوم مصل الدم تحت عتبة الكلية أي 7.5 ملغ /100 مل .
- نقص كالسيوم دم الأبقار ليس له دلائل حقيقية في التشخيص .
- قصور نشاط مجاورات الدرق .
- لين العظام

ارتفاع كالسيوم البول ،

- يكون مستوى كالسيوم المصل فوق 10.5 ملغ/ 100 مل
- بعد تعاطي محاليل الكالسيوم (زيادة الكالسيوم في الدم)
- حثل عظمي (فرط تنسج مجاورات الدرق مع قصور كلوي) .

- فرط نشاط الدرق

9- اليوروبيلينوجن : Urobilinogen

اليوروبيلينوجن هو صباغ يتشكل في الأمعاء بفعل الجراثيم المرجعة للبيلروبين ، إذ يفرز قسم منه في الأمعاء والقسم الآخر يمتص في الدورة البابية ويعود لينقل بواسطة الكبد إلى الدورة الدموية العامة ، وكمية قليلة منه تفرز في البول .

ملحوظة :

ارتفاع اليوروبيلينوجن في البول بكمية كبيرة يمكن اعتماده في التفريق بين اليرقان الانسدادي واليرقان بسبب المرض الكبدي أو بسبب تحلل الدم.أما إذا كان الانسداد في القنوات الصفراوية كاملا فلا يمكن للبيلروبين الوصول إلى القناة المعوية وبالتالي لا يتشكل اليوروبيلينوجن فغيابه من البول والبراز يعطي برازا شاحبا لأن نواتج أكسدته اليوروبيلين هي التي تعطي اللون البني للبراز .

دلائل وجود اليوروبيلينوجن في البول

نقص أوغياب اليوروبيلينوجن في البول

يعود للأسباب الآتية:

- ✓ نقص هدم الكريات الحمر
- ✓ الإخفاق في الامتصاص المعوي كما في حالة الإسهال
- ✓ بعض المضادات الحيوية خاصة الاورومايسين تمنع الجراثيم المعوية من التدخل في تشكيل اليوروبيلينوجن .

ارتفاع كمية اليوروبيلينوجن في البول :

ويكون للأسباب الآتية

- ✓ الالتهاب الكبدي فتخريب الخلايا الكبدية يجعلها غير فعالة في نقل اليوروبيلينوجن من الدورة البابية .
- ✓ تشمع الكبد .
- ✓ اليرقان التحللي (زيادة تحلل الكريات الحمر تؤدي إلى زيادة إنتاج اليوروبيلينوجن في الأمعاء ثم إلى ارتفاعه في البول

جدول(2) يظهر نسبة اليوروبيلينوجن والبيليروبين في البول تحت تأثير الإصابة بحالات مرضية مختلفة

المادة	مرض عادي	تحلل دموي	مرض كبدي	يرقان انسدادي
يوروبيلينوجن	طبيعي	عال	عال	منخفض
بيليروبين	سلبي	سلبي	إيجابي	إيجابي

10- **الأنديكان : Indican**

الأنديكان يشتق من الأندول الناتج من تعفن البروتينات في الأمعاء ثم يمتص الأندول بواسطة الدم ويتم أكسدته في الكبد ليتحول إلى أندوكسيل . هذا المركب يتحد مع سلفات البوتاسيوم ليشكل الأنديكان التي تطرح في البول . يتواجد بتركيز عال في بول الحيوانات العاشبة . ويوجد بكمية ضئيلة أو غائب في بول الكلاب والقطط .

- دلائل زيادة كميته في البول تتمثل بما يلي:
- الإمساك
- التهاب المعدة والأمعاء .
- التغذية العالية على البروتين
- انسداد الأمعاء
- عسر الهضم

الفحص المجهري لراسب البول
Microscopic examination of urine

الفحص المجهري لراسب البول له من الأهمية ما يجعل ضرورة إجرائه أمراً لا بد منه عند كل تحليل للبول ، كما ينصح بإجرائة بسرعة وبعد الحصول على العينة مباشرة لأن احتمال فساد العينة وتغير مكوناتها الخلوية يكون كبيراً ، وإذا تعذر ذلك يجب حفظه بالمواد الحافظة الآنفة الذكر ويمكن تقسيم عناصر راسب البول إلى

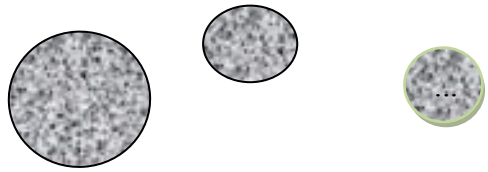
1- مكونات عضوية :

2- مكونات لاعضوية

اولاً – المكونات العضوية :

1- الكريات البيض (الخلايا القيحية) : Leucocytes or pus cell

تظهر تحت المجهر على شكل خلايا دائرية محببة أكبر من الكريات الحمر ، ممكن أن نميز النواة بداخلها وممكن عدم تميزها بسبب استحالتها وقد يختلط الأمر مع الخلايا الكلوية فنعمد إلى صبغ المحضر بصبغة أزرق الميثلين الطازج أو نضيف قليلاً من حمض الخل المخفف تحت الساترة فتبقى الكريات البيضاء. وفي البول القلوي تظهر الكريات البيضاء منتفخة وتلتحم في كتل . توجد الكريات البيضاء براسب البول بالأحوال الطبيعية ولكن بأعداد قليلة (7 خلايا وأقل). أما إذا زادت عن 10 خلايا في الحقل المجهري (التكبير القوي) فتكون مؤشراً على وجود مرض بالكلية وما بعدها



الشكل (4) رسم توضيحي للكريات البيض تحت المجهر

- دلائل وجودها هي :

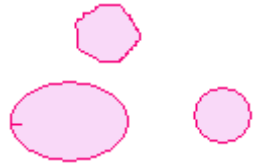
1- التقيح البولي pyuria دليل وجود إصابات قيحية في القناة البولية التناسلية .

2- التهاب الحالب والمثانة .

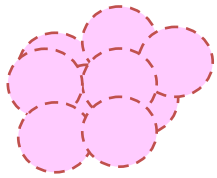
3- التهاب الكلية وحوضها .

4- التهاب الفرج والمهبل أو التهاب الرحم الصديدي وهذا يؤدي إلى تلوث البول أثناء مروره في هذه الاماكن.

2- الكريات الحمر Erythrocytes



الشكل (5)



الشكل (6)

تظهر الكريات الحمر تحت المجهر على هيئة خلايا كروية دائرية صغيرة وأصغر من الكريات البيضاء لا تحوي بداخلها تركيبات أو حبيبات معينة ، ذات لون أصفر إلى برتقالي أو ضارب للصفر، الشكل (5) أو تظهر على شكل ثمرة التوت اللامعة في تفاعل البول الحامضي ، الشكل (6) ، وممكن أن تظهر بدون لون إذا بقيت العينة فترة طويلة نتيجة لهرب الخضاب من الخلية أو تظهر بشكل بالون في البول المخفف وذي الكثافة المنخفضة عل هيئة كرات حلقية لا لون لها ،الشكل (7) وأيضاً ممكن أن تظهر بشكل مكرنش في البول المركز وذو الكثافة النوعية العالية ،الشكل (8)

الشكل (7)

الشكل(8)

رسم توضيحي للكريات البيض تحت المجهر

وقد يلتبس شكلها بشكل حبيبات الدهن أو الخمائر . وحتى تبعد الشك نضيف نقطة من حمض الخل المخفف أو محلول الصابونين تحت الساترة فتذوب الكريات الحمر أو تصبغ بصبغة سودان II للدهن .

دلائل وجودها :

من الممكن تواجد بضع كريات 1 – 2 كرية في الأحوال الطبيعية آتية من القناة البولية التناسلية أو نتيجة لاستخدام القسطرة المبالية ووجودها بأعداد كبيرة مؤشر على :

- احتشاء الكلية
- التهاب المثانة
- وجود حصوات في القناة البولية التناسلية
- اورام المثانة .

3ً– الخلايا الظهارية : epithelial cells

وهي كثيرة الأنواع وتشتق من كل أجزاء الجهاز البولي (الكلية ، الحالب ، المثانة ،الإحليل) ولكل منها أشكال وصفية تعرف جيداً بالممارسة

أ– الخلايا الظهارية الرصفية : Squamous cells

وهي خلايا ذات محيط متبدل غير منتظمة الشكل تظهر براسب البول اما مفردة أو مجتمعة مع بعضها ، تحوي نواة والسيتوبلاسما بها حبيبات .الشكل (9)

الشكل (9) رسم توضيحي للخلايا الظهارية الرصفية

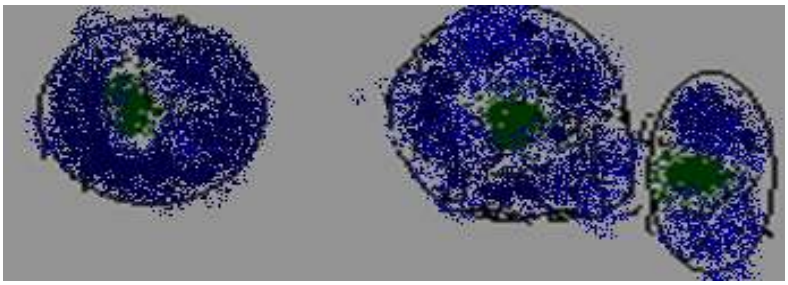
2ً–الخلايا الظهارية الانتقالية : Transitional epithelia

وهي خلايا تظهر براسب البول تحت المجهر إما بشكل مذنب أو مغزلي لها نواة والهيولا تحوي حبيبات الشكل(10)

الشكل (10) رسم توضيحي للخلايا الظهارية الانتفالية

3ً- الخلايا الظهارية الكلوية : Renal epithelial cells

وهي خلايا دائرية أكبر من الكريات البيض وقد تشتبه معها ، لها نواة والسيتوبلاسما تحوي حبيبات غليظة . وجود هذه الخلايا له دلائل إكلينيكية ، وشدة الإصابة تعتمد على كمية هذه الخلايا.الشكل (11)



الشكل رقم (11) رسم توضيحي للخلايا الظهارية الكلوية

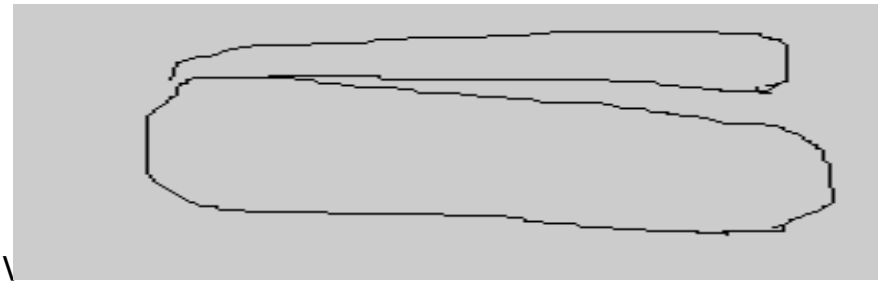
4ً- الأسطوانات : Casts

الأسطوانات هي أجسام أسطوانية تظهر في راسب البول ولهذا سميت بهذا الاسم . وتتكون الأسطوانات البولية من مادة هيالينية لا بلورية تأخذ قالب نبيبات الكلية المفرزة أي أنها تتشكل في لمعة النبيبات الكلوية البعيدة والمجمعة للبول وقد يترسب عليها عناصر متعضية مختلفة كالخلايا الظهارية أو الكريات الحمر أو البيضاء أو الدهن مما يجعل لها أسماء وأنواعاً شتى .

أنواع الأسطوانات Types of casts :

1- الأسطوانة الزجاجية : Hyalin cast

نصف شفافة ليس لها لون ولها حواف منتظمة أو متوازية ونهايات مدورة ، تشاهد بشكل جيد في الحقل المجهري المظلم . الشكل(12)



\

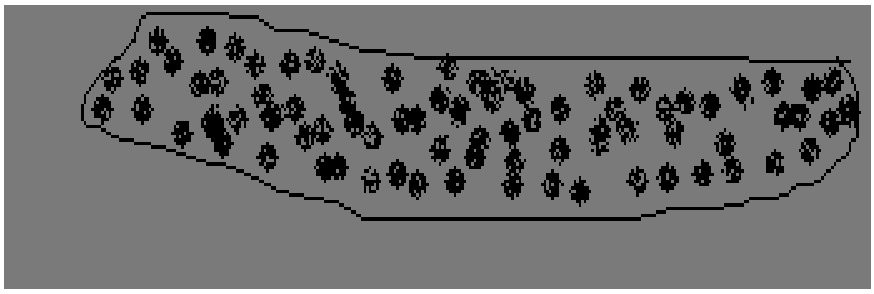
الشكل (12) رسم توضيحي للأسطوانة الزجاجية

دلائل وجودها :

- ممكن مشاهدتها في البول الطبيعي (بول الحيوانات الكبيرة) .
- في حالة تهيج الكلية المتوسط .
- بعد التخدير .

2- الأسطوانات الحبيبية : granular cast

هي من أكثر الأنواع شيوعاً في راسب بول الحيوانات العاشبة ، تحوي بداخلها حبيبات ناعمة أو غليظة. الشكل (13)



الشكل (13) رسم توضيحي للأسطوانة الحبيبية

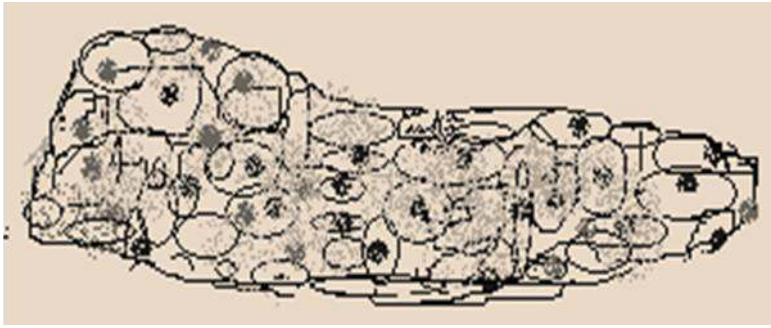
دلائل وجودها : يشير

1-إلى التهاب الكلية ولكن بشكل أشد من وجود الأسطوانةالزجاجية

1- تشاهد في راسب البول لوجود التهاب الكلية بين الخلالي الحاد

3- الأسطوانة الظهارية : epithelial Cast

الخلايا ضمن الأسطوانة ممكن أن تكون بيضاوية متطاولة أو مسطحة .أما الأسطوانة فتكون قصيرة وعريضة أحدى نهايتيها مدورة و الأخرى مقطوعة بشكل مائل.الشكل (14)



الشكل (14) رسم توضيحي للأسطوانة الظهارية

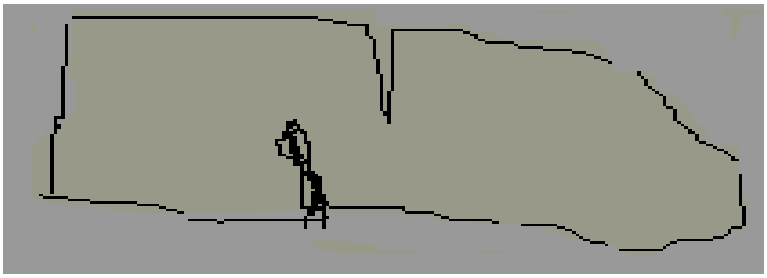
دلائل وجودها :

1- التهاب النفرونات الحاد .

2- التهاب الكلية القيحي .

4- الأسطوانة الشمعية : Waxy cast

هي أسطوانة تأخذ اللون الأصفر أو الأشهب الفاتح . تحوي بداخلها بعض الحبيبات وأحياناً خلايا .الشكل (15)



الشكل (15) رسم توضيحي للأسطوانة الشمعية

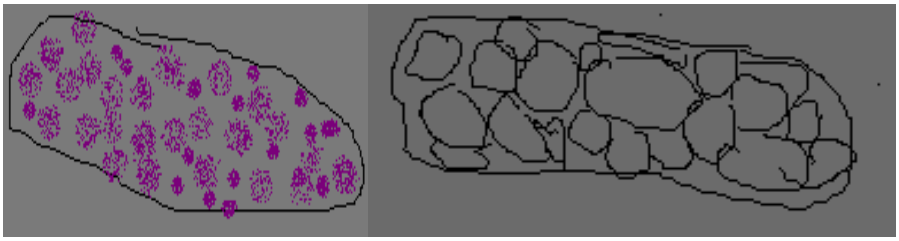
دلائل وجودها :

2- في حالة التهاب النفرونات الشديد والمتقدم.

3- استحالة الكلية النشواني Amyloidosis .

5ً- الأسطوانة الشحمية أو الدهنية : Fatty cast

هي أسطوانات تحوي بداخلها حبيبات دهنية متعددة عديمة اللون وتصبغ بلون أحمر أو برتقالي عند صبغها بصبغة سودان 3 . الشكل (16)



الشكل (16) رسم توضيحي للأسطوانة الدهنية

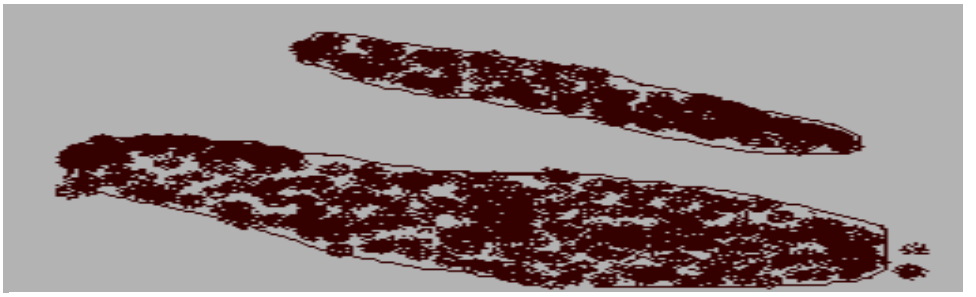
دلائل وجودها :

1- استحالة النبيبات الكلوية والمصاحبة بترسيب المواد الدهنية في النبيبات الكلوية .

2- أحياناً توجد في الكلاب المصابة بداء الزرب السكري .

6ً- الأسطوانة الدموية : Blood Cast

هي كتلة أسطوانية متجانسة شديدة الاصفرار الشكل (17)



الشكل (17) رسم توضيحي للأسطوانة الدموية

دلائل وجودها: يشير إلى وجود نزيف في النبيبات الكلوية أو الكبب

7- الأسطوانة القيحية (أسطوانة الخلايا البيضاء) : Bus cast

تتميز بوجود العديد من الخلايا القيحية المندمجة معاً ، ووجودها يشير إلى وجود خراجات في الكلية أو الكلية وحوضها . الشكل (18)

الشكل (18) رسم توضيحي للأسطوانة القيحية

8- الأسطوانات الكاذبة : ومنها

1- الشبيه بالأسطوانية : Cylindroid

وهي تشبه الأسطوانة الزجاجية إلا أن أحد أطرافها رفيع مثل الخيط الدقيق .دلائل وجودها نفس أسباب وجود الأسطوانة الزجاجية الشكل (19)

الشكل (19) **رسم توضيحي للأسطوانة الكاذبة**

2- المخاط أو الخيوط الزلالية أو المخاطية :

تظهر بشكل خيوط طويلة ورفيعة وملتوية تشبه الشريط و تشاهد عادة وبشكل طبيعي في بول الخيول ووجودها في بول بقية الحيوانات المستأنسة دليل تهيج المبال أو التهاب المثانة وحوض الكلية وقد توجد في البول نتيجة تلوث العينة بواسطة الإفرازات التناسلية .

الشكل (20)

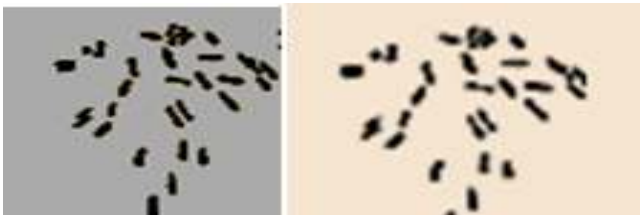
الشكل (20) رسم توضيحي للخيوط الزلالية

5- الكائنات الدقيقة Microorganisms :

1- الجراثيم Bacteria :

هي من أصغر الأجسام المشاهدة في راسب البول ويمكن التعرف عليها عند فحص راسب البول بحركتها النشيطة ويمكن تمييزها بصبغ شريحة من راسب البول بصبغة غرام

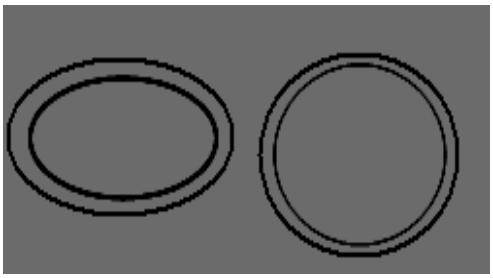
الشكل (21)



الشكل (21) رسم توضيحي للجراثيم

2- الخمائر : Yeasts :

هي عديمة اللون أو شفافة تظهر بشكل دائري أو بيضاوي مختلف الحجم ولها جدار مضاعف ، ووجودها يشير إلى احتمالات تلوث العينة لأن عدوى القناة البولية بالخمائر المرضية نادر في الحيوانات المستأنسة . الشكل (22)



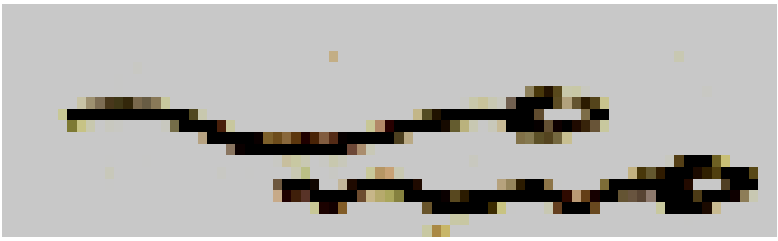
الشكل (22) **رسم توضيحي للخمائر**

3- الفطور : Fungs :

وهي تتميز بكونها مقسمة ، ووجودها ليس له دلائل إكلينيكية هامة وغالباًً ما يكون وجودها بسبب التلوث .

4- العدوى بالاوليات Protozoa inffection :

تكون نادرة ، وتوجد نتيجة التلوث بالبراز ولكن وجود الحيوانات المنوية في راسب البول يكون بسبب إفراز طبيعي من البربخ . الشكل (23)



الشكل (23) رسم توضيحي للحيوانات المنوية

5- الطفيليات Parasites :

يمكن مشاهدة بيوض بعض الطفيليات في راسب البول وهذا يتضمن : Dia etophyma renalتصيب الكلية في الكلاب والقطط و Cappilaria aplica تصيب المثانة في الكلاب والقطط .

الرواسب غير العضوية
unorganized sediments

وجود البلورات براسب البول يعتمد على تفاعل البول (pH) وعلى تركيز وكمية هذه البلورات وأشباهها . ووجودها يمثل دلائل تشخيصية بسيطة.

1- البول الحامضي : Urin Acid

يتواجد فيه:

اليوريت غير المتبلورة – حمض البول– وبشكل قليل بلورات الكالسيوم وحمض الهيبيوريك

2- بللورات البول القلوي : Urine Alkolic

تحوي :

الفوسفات الثلاثية – الفوسفات غير المتبلورة وكربونات الكالسيوم وقليلاً من بلورات اليوريت .

تتواجد تلك البللورات بنوعيها الحامضي والقلوي بشكل غير طبيعي بحالة وجود الحصوات المبالية واضطراب استقلاب الكلية .

3- تواجد بلورات الليوسين والتيروزين دليل إصابة مرضية

4- بلورات السيستين مؤشر غير طبيعي.

ب- الدهن : Fat :

الحبيبات الدهنية تظهر في راسب البول على شكل حبيبات دائرية. يمكن صبغها بصبغة سودان III فتأخذ اللون البرتقالي المحمر .

دلائل وجودها :

1- بسبب استحالة لدهنية في النبيبات الكلوية ا .

2- بحالة البدانة والسمنة وتناول وجبات غنية بالدهن.

3- قصور نشاط الغدة الدرقية .

4- الزرب السكري .

أنواع البلورات

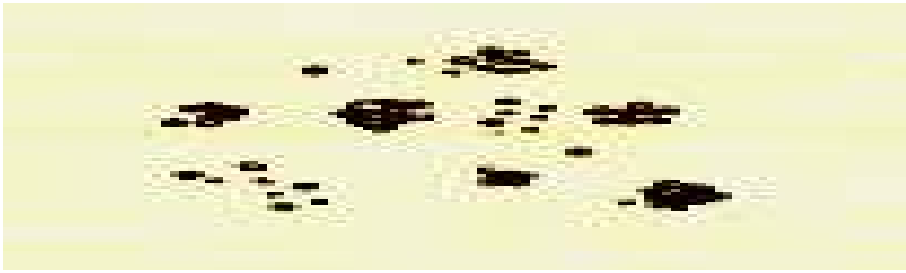
1- بلورات حمض البول : Uric Acid

بلورات تتواجد طبيعياً في البول الحامضي(بول اللواحم) صفراء تذوب بماءات الصوديوم ولاتذوب بحمض الخل أو التعرض للحرارة تاخذ شكلاً معيناً أو على شكل صفائح منتظمة أو هرمية أو على شكل وردة . الشكل(24)

الشكل (24) رسم توضيحي لبللورات حمض البول

1- اليورييت غير البلورية : Crystales Amorphus Uriate

تتواجد بالبول الحامضي القرنفلي اللون تذوب بالحرارة أو بالقلويات ولاتذوب بالحرارة أو بحمض الخل تظهر تحت المجهر على شكل حبيبات تتواجد في بول اللواحم نتيجة لزيادة نشاط تحلل البروتين . الشكل (25)



الشكل (25) رسم توضيحي لبللورات اليورييت غير البللورية

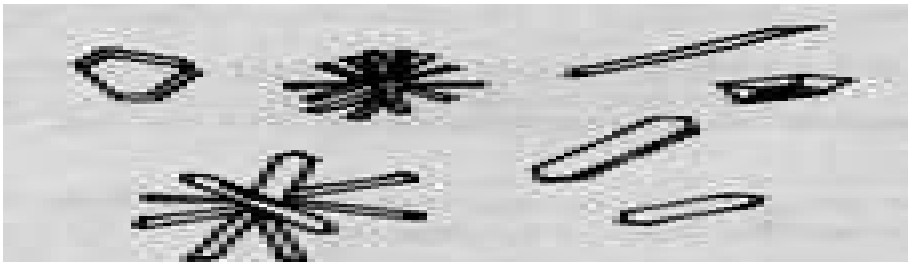
3- حماضات (أكزالات) الكالسيوم : Calcium Oxalat

بللورات شفافه لا لون لها تتواجد في البول وهي ذات التفاعل الحامضي أو المعتدل أو القلوي وتأخذ البللورات شكل مربع يغطيها خطان، وتذوب بحمض كلور الماء والآزوت ولا تذوب في حمض الخل ، ووجودها مؤشر على الزرب السكري والتهاب الكلية المزمن . الشكل (26)

الشكل (26) رسم توضيحي لبللورات حماضات الكالسيوم

2- حمض الهبيوريك : Hipiuric Acid

تتواجد في البول وهي ذات تفاعل حامضي أو معتدل أو قلوي والراسب عديم اللون وشكلها هرمي أو مخروطي أو صفيحات إبرية، تذوب بحمض الخل وتتواجد عند إعطاء الساليسيلات ومشتقات البنزديك . الشكل (27)



الشكل (27) رسم توضيحي لبللورات حمض الهبيوريك

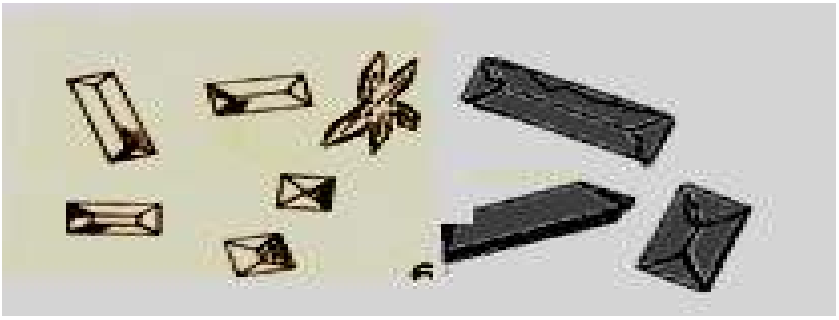
3- كربونات الكالسيوم : Calcium Carbonate

تتواجد في البول القلوي والراسب عديم اللون وشكلها كروي أو بيضاوي أو على شكل كرتين متصلتين وتكون هذه البللورات مغطاة بخطوط شعاعية تذوب في حمض الخل وغيابها من بول الحيوانات العاشبة مؤشر مرضي . الشكل (28)

الشكل (28) رسم توضيحي لبللورات كربونات الكالسيوم

4- الفوسفات الثلاثية :Triphosphate

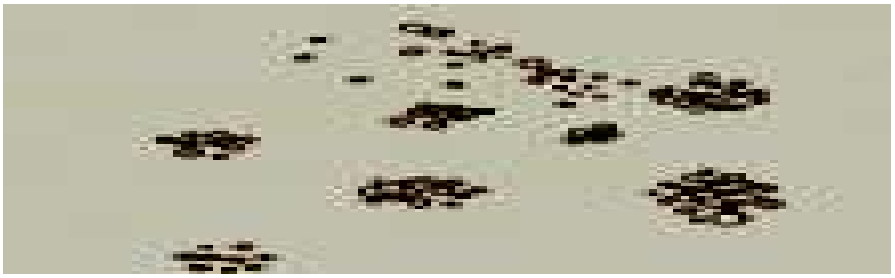
تتواجد في البول القلوي والمعتدل والحامضي والراسب عديم اللون والبللورات لها شكل الموشور أو غطاء التابوت أو الريشة وتذوب في حمض كلور الماء وحمض الخل ولاتذوب في الوسط القلوي أو الماء الساخن ، وتواجدها بكثرة دليل التهاب جرثومي بالمثانة أو حوض الكلية . الشكل (29)



الشكل (29) رسم توضيحي لبللورات الفوسفات الثلاثية

7- الفوسفات غير المتبلورة : Non Crystales phosphate

توجد في البول القلوي والراسب عديم اللون وتأخذ البلورات شكل حبيبات في كتل وتذوب بحمض كلور الماء وحمض الخل ولاتذوب بالحرارة وليس لها دلائل تشخيصة هامة . الشكل (30)



الشكل (30) رسم توضيحي لبللورات الفوسفات غير البللورية

8- يوريت الأمونيوم : Amonium uriate

توجد بالبول القلوي و الراسب أصفر اللون والبلورات تكون كروية مغطاة بأشواك أو كريبتين متصليتين ، تذوب بحمض كلور الماء وحمض الخل ولاتذوب بالحرارة ويعتبر دلائل وجودها على حدوث عملية تخمر في حالة التهاب المثانة أو التهاب الحويضة أو التهاب الكلية وحوضها. الشكل (31)

الشكل (31) رسم توضيحي لبللورات يورييت الامونيوم

9- البيليروبين : Bilirubine

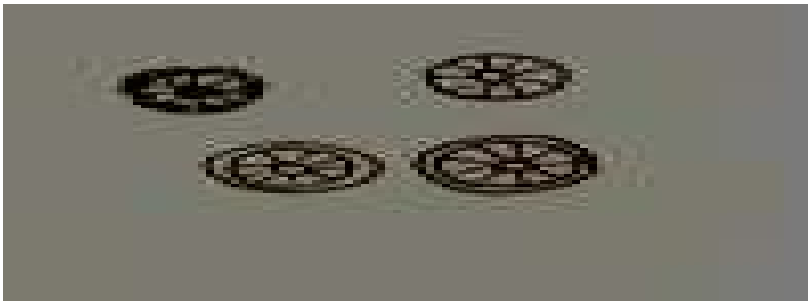
تواجدها في البول الحامضي غير طبيعي وراسبها أصفر أو أحمر غامق ، وتاخذ بلورتها شكل الإبر أو صفائح أو حبيبات حمراء برتقالية تذوب بتفاعل البول القلوي ، ووجودها في البول مؤشر على اضطراب استقلاب الصفراء ينتهي بتشكل الحصوات المبالية . الشكل (32)

الشكل (32) رسم توضيحي لبللورات

10- الليوسين : Lyiocine

تواجدها في البول الحامضي غير طبيعي وراسبها أصفر ، وهي كروية مغطاة بأشواك أو خطوط شعاعية . تذوب في ماءات الصوديوم ولاتذوب بحمض كلور الماء ووجودها مؤشر على التهاب الكبد أو التسمم بالفوسفور أو زيادة تحلل البروتين نتيجة التفسخ .

الشكل (33)

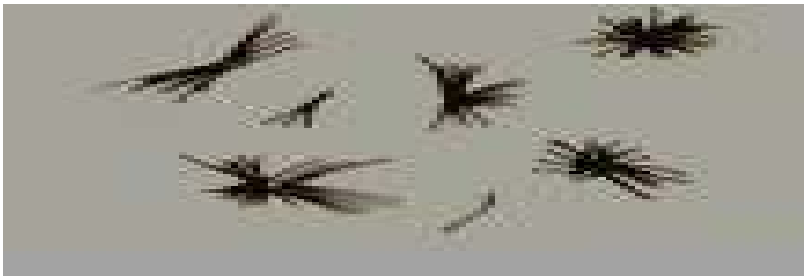


الشكل (33) رسم توضيحي لبللورات الليوسين

11- التيروزين: Tyrisine

تواجدها في البول الحامضي غير طبيعي وراسبها عديم اللون وهي على هيئة خيوط أو إبر رقيقة تجتمع في المنتصف على شكل الصليب ، تذوب في ماءات الصوديوم ولاتذوب بحمض الخل ، وجودها مؤشر على إصابة الجهاز العصبي أو التهاب الكبد .

الشكل (34)



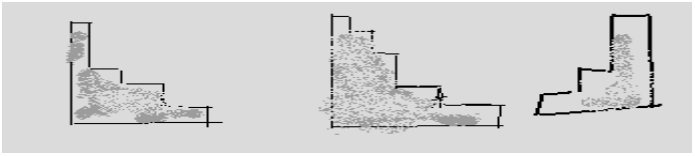
الشكل (34) رسم توضيحي لبللورات التيروزين

12- الإنديكوتين : Indicotine

تواجدها في البول القلوي غير طبيعي وراسبها أزرق وبلورتها تاخذ شكل الشفرات أو الإبر الرفيعة ، تذوب بالكلوروفورم ولا تذوب بحمض الخل وتواجدها دليل التهاب المثانة أو اضطراب الأمعاء أو اضطراب الكبد

13- الكلوليستيرين :

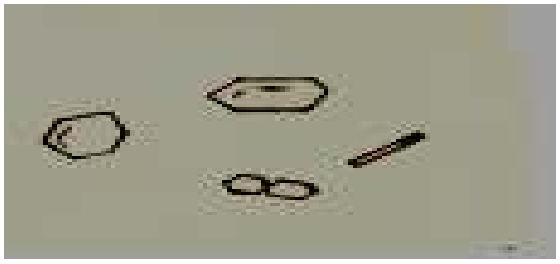
تواجد بللورات الكلوليسترين في البول القلوي غير طبيعي وراسبها أحمر عند اضافة حمض الكبريت وبلورتها تاخذ هيئة صفائح على شكل هندسي قائم الزوايا تذوب بالاثير ولاتذوب بحمض الخل ، وجودها دليل إصابة الكليتين أو إصابة الكبد أو التهاب الكلية وحوضها . الشكل (35)



الشكل (35) رسم توضيحي لبللورات الكلوليسترول

السيستين :Cystine

هي ألواح سداسية عديمة اللون وللتفريق بينها وبين حمض البوليك يضاف حمض كلور الماء 30% فتذوب بلورات السيستين ولاتذوب بللورات حمض البوليك وتواجدها مؤشر على قصور الكلية الحاد أو التهاب الكبد واليرقان . الشكل (36)



الشكل (36) رسم توضيحي لبللورات السيستين

اختبارات تقييم وظائف الكلية
Kedney function tests

هي اختبارات تجرى للاستدلال على كفاءة الكلية الوظيفية من أجل التعرف على طبيعة الإصابة في الجهاز البولي على الرغم من أن الفحوص الفيزيائية والكيميائية والفحص المجهري لراسب البول قد يكفي في بعض الأحيان من أجل تشخيص المرض ، إلا أنه يجب إجراء هذه الاختبارات وخاصة عندما تكون الأمور متعلقة بالكلية بشكل خاص. وهذه الاختبارات يمكن تقسيمها على حسب الآتي :

1- اختبارات تجرى على البول وأهمها اختبار الكثافة النوعية .

2- اختبارات تجرى على مصل الدم لقياس تركيز اليوريا والكرياتينين

3- اختبارات تجري على الدم والبول (اختبارات التصفية) : Clearance test

1- اختبار الكثافة النوعية: Specifie granity of urine

هو اختبار سريع وعملي يجرى لقياس تركيز أو درجة تركيز الكلية للمواد الصلبة في البول . أي أن هذا الاختبار ومؤشر على درجة إعادة الامتصاص من النبيبات الكلوية ومن ثم تركيز البول . ولذلك تختلف مستويات الكثافة على حسب كمية البول فكلما كان حجم البول كبيراً كانت الكثافة أقل والعكس صحيح . و هذا ليس بقاعدة عامة لأنه في حالة الزرب السكري نجد أن كمية حجم البول ودرجة الكثافة مرتفعتان.

وعموماً تتراوح درجة الكثافة عند الحيوانات ما بين 1.015 – 1.045 (تقاس الكثافة النوعية بمقياس الانكسار urinometer) .

تحليل النتائج :

أً- زيادة الكثافة النوعية : Increased Specific gravity

زيادة مؤقتة للكثافة وتحدث بشكل طبيعي نتيجة لـ :

1- قلة السوائل المتناولة .

2- زيادة درجة حرارة الوسط المحيط .

زيادة مرضية تحدث في الحالات الآتية :

1- الجفاف الناتج عن الإسهال والتقيؤ المستمرين .
2- الاوديما المترافقة بقصور الدورة الدموية .
3- الحروق المصحوبة بفقد السوائل .
4- الأمراض الحموية (زيادة مؤقتة) .
5- التهاب الكلية بين الخلالي الحاد
6- الزرب السكري.
7- زيادة البروتين في البول

2- نقص الكثافة النوعية : Decreased Specific gravity

نقص الكثافة النوعية يمكن أن يحدث مؤقتاً بسبب :

1- زيادة شرب الماء أو إعطاء السوائل .
2- إعطاء مدرات البول .
3- إعطاء أو حقن هرمون الحاثة الكظرية ACTH أو المركبات الكورتيزونية .

وعموماً إنه تقدير الكثافة النوعية لعينة البول بشكل روتيني وانخفاض الكثافة النوعية يدلان للطبيب على وجود مرض بالكلية يجب اختباره وتقييمة علماً أن معظم الأمراض التي تسبب انخفاض الكثافة هي :

1- التهاب الكلية المزمن .
2- استحالة الكلية النشويه المتقدم .
3- الأمراض الوراثية .
4- أمراض قشرة الكظر .
5- مرض السكر الكاذب بسبب نقص هرمون المانع للتبول (ADH)
6- التهاب الرحم الصديدي مع بعض أمراض الكبد .

ملحوظة هامة :

في حالة مرض الكلية المزمن تصبح الكثافة النوعية ثابتة بمعدل 1.008 – 1.012 وهذا المعدل يكون تقريباً نفس معدل الكثافة النوعية لرشيح الكبب ولهذا فإنه في أي عينة بول لها نفس هذا المعدل لكثافة البول يكون مؤشراً على وجود خلل في عمل الكلية يجب

معرفته بشكل دقيق . كما تظهر إلى جانب ذلك علامات الجفاف على الحيوان مع وجود بعض النتائج المخبرية قبل زيادة مكداس الدم (P.C.V) مع زيادة البروتين الكلي بالبول بسبب عجز الجسم عن حفظ سوائل أو ماء الجسم لاضطراب الكلية وعدم استجابتها لهرمون ADH .

ومن الاختبارات الهامة لتقيم عمل الكلية ودرجة تركيزها للمواد مايلي :

1- اختبار منع الماء Water deprivation test :

ومبدأ هذا الاختبار يعتمد على قاعدة تحرر هرمون ADH من الفص الخلفي للغدة النخامية تحت ظروف منع الماء عن الحيوان .

طريقة الاختبار :

1- يمنع الحيوان (الكلب) من شرب الماء ويقدم له طعام محتويات الماء به قليلة (ممكن تفريغ المثانة عند بدء التجربة) .

2- يوزن الحيوان عند بدء التجربة لتقييم جفاف الحيوان (يجب إيقاف التجربة عند ظهور علائم غير طبيعية على الحيوان) .

3- يسحب البول بالقسطرة بعد 12 ساعة من بدء التجربة ثم تقاس الكثافة النوعية للبول المسحوب .

تحليل النتيجة :

1- إذا كانت الكثافة النوعية فوق 1.025 يجب إيقاف التجربة لأن هذا مؤشر على مقدرة الكلية على تركيز البول .

2- إذا كانت الكثافة أقل من 1.025 يعمل على الاستمرار بالتجربة 12 ساعة أخرى حتى 24 ساعة ونعيد قياس الكثافة 3 – 4 مرات ففي نهاية 24 ساعة إذا كانت الكثافة 1.025 وما فوق توقف التجربة ولكن إذا بقيت أقل من 1.025 فهنا يجب على الطبيب أن يقيَم الحالة العامة للحيوان وليدعم تشخيصه بتقدير يوريا الدم والكرياتينين ومن كل هذا (إذا بقيت الكثافة أقل من 1.025) نستخلص النتائج الآتية :

1- ربما يكون في إفراز هرمون ADH خلل، وذلك لمرض بالغدة النخامية (الفص الخلفي) يسبب مرض السكر الكاذب وهنا تكون الكثافة النوعية للبول أقل من كثافة

الرشاحة الكبيبية ما بين 1.001 – 1.006 فلا تستطيع الكلية تركيز البول لوجود ماء كثير (كثافة رشيح الكبب ما بين 1.008 – 1.012) .

2– مقدرة الكلية على تركيز البول تكون ضعيفة لسبب وجود مرض عام بالكلية .

3– الهرمون المانع للتبول ADH يفرز ولا تستجيب له النفرونات وهذا ما يسمى أيضاً بمرض السكر الكاذب ، فإذا ما اشتبه بهذا المرض فلابد من إجراء اختبار آخر للكشف عنه وذلك باستخدام اختبار الفاسوبروسين

– اختبار الفاسوبروسين :

بهذه الطريقة يحقن الحيوان بمحلول هرمون الفاسوبروسين .

الطريقة :

1– يحقن تحت الجلد ¼ وحدة من محلول هرمون الفاسوبروسين / كغ من وزن الجسم على ألا تتعدى الجرعة 5 وحدات .

2– يمنع إعطاء الحيوان السوائل والطعام أثناء إجراء الاختبار .

3– نبدأ بتفريغ المثانة من البول بفواصل زمنية على التوالي 30،60 ،90 ، 120 دقيقة من بدء الحقن وتقدر الكثافة النوعية لكل عينة أخذت على التوالي .

تحليل النتيجة :

أ– إذا كان الحيوان طبيعياً يعطى بولاً ذا كثافة نوعية أعلى من كثافة الرشاحة الكبيبية تتراوح من 1.020 – 1.035 وهذا مؤشر للاستجابة لهذه المادة .

أ– الكثافة النوعية أقل من 1.020 مؤشر على وجود مرض بالكلية وعدم قدرتها على الاستجابة لهذه المادة وبالتالي مرض السكر الكاذب موجود .

2– الاختبارات التي تجري على الدم : Test on Blood

لفظ N. P. N في الدم يستخدم ليتضمن كل المواد النتروجينية غير البروتينية وهي تمثل الناتج النهائي لاستقلاب الأنسجة وهدم البروتين . ومن أهم هذه المواد اليوريا – الكرياتين – حمض البول – الأمونيا – الأحماض الأمينية . لكن الأكثر شيوعاً وأهمية بالنسبة لبحثنا اليوريا والكرياتنبن لأن ارتفاع نسبتهما في الدم يدل على عدم كفاءة الكلية في إطراحهما ، واليوريا من أهم هذه المواد وتشكل 50% من نسبة المواد النتروجينية غير

البروتينية وتتكون وتتشكل في الكبد وتمثل الناتج النهائي لهدم البروتين ويمكن تلخيص تشكل اليوريا على النحو الآتي :

الاورنثيين + أمونيا + غاز ثاني أوكسيد الكربون ← ستيرولين .

سيترولين + أمونيا ← حمض أميني + أرغونين .

الأرغونين **أنزيم تحليل اليوريا** ← **الاورنيثين**

وهذا الأخير **(الاورنيثين)** يعود ليشترك في الدورة من جديد .

جدول رقم (3) يظهر القيمة النسبية لليوريا بالنسبة لبقية المواد

اليوريا	% 50
الكرياتين	%50
الأمونيا	
الأحماض الأمينية	
حمض البول	

BUN (يوريا نتروجين الدم) تساوي نصف اليوريا على حسب المعادلة الآتية :

$$\text{اليوريا الإجمالي} = \frac{\text{BUN ملغ \%}}{2,14}$$

جدول (4)القيم الطبيعية لليوريا ويوريا نتروجين الدم (BUN) في الدم

نوع الحيوان	اليوريا مغ %	يوريا نتروجين(BUN)
كلاب + قطط	40 – 1	20 –5
الخنزير	45 – 16	22 – 8
الخيل	50 – 25	25 – 12
الأبقار	40 – 12	20 – 6
أغنام + ماعز	40 –16	20 – 8

تحليل النتائج :

مستوى اليوريا واليوريا نتروجين في الدم لايتأثر فقط بالتغيرات الوظيفية للكلية ولكن يمكن أن تتأثر بعوامل طبيعية معينة أو نتيجة لأمراض لا يكون منشأها الكلية .

اولاً– زيادة قيم اليوريا : تحدث في الحالات الآتية :

أ– زيادة المواد البروتينية في العليقة يزيد نسبة اليوريا فقد لوحظ أن اليوريا تزداد بمعدل 10 ملغ/ د.ل إذا كانت تغذية الحيوان غنية بالمواد بالبروتينات بينما على العكس ينقص مستوى اليوريا بالدم بانخفاض التغذية على المواد البروتينية . ولإثبات هذا لوحظ أنه إذا حرم الحيوان (الكلب) من الطعام 24 ساعة فإن مستوى اليوريا ويوريا نتروجين الدم (BUN) يكون نصف المستوى الذي كان عندما يتغذى الحيوان على البروتين . ولوحظ أيضاً بان النسبة العظمى لمستوى اليوريا نتروجين بالدم تحدث بعد 2 – 6 ساعات من تناول الوجبة الغذائية ويدوم هذا المستوى في الدم 9 ساعات في دم الحيوانات المعتمدة على نسبة معتدلة من المواد البروتينية بينما يدوم هذا المستوى 21 ساعة إذا كانت الوجبة الغذائية غنية بالمواد البروتينية ، ومثل هذه الملاحظات يجب مناقشتها عندما يراد قياس مستوى اليوريا نتروجين بالدم . ولذا ينصح بتصويم الحيوان 12 – 18 ساعة قبل تقدير مستوى اليوريا . وهناك بعض العوامل مثل التخريب الهدمي للانسجة نتيجة الحمى

(الارتفاع بدرجة الحرارة) أو الكدمات أو التسمم الدموي يمكنها أن تسبب زيادة في تركيز مستوى اليوريا نتروجين بالدم .

II – زيادة اليوريا لأسباب كلوية ومنها :

1- التهاب النفرونات سواء كان الالتهاب حاداً أو تحت حاد أو مزمناً إلى جانب التهاب الكلية بين الخلالي . فقد لوحظ أن الهدم المتوسط للأنسجة الكلوية بسبب رفع مستوى اليوريا وهذا يتناسب مع شدة الهدم فمثلاً :

- ارتفاع مستوى اليوريا فوق 200 ملغ /دل دم دليل تلف الكلية الشديد .
- ارتفاع مستوى اليوريا فوق 300 ملغ /دل دم دليل موت الكلية وسوف ينتهي الحيوان بالموت .

لهذا يجب فحص النسبة كل يوم أو يومين لمعرفتها ولمعرفة كفاءة العلاج ولهذا يعتبر مؤشراً هاماً .

2- الإصابة بالليبتوسيبرا يزيد نسبة اليوريا بشكل متوسط وهذا يتوقف على نوع ومرحلة الإصابة .

وأيضاً الإصابة باليرقان يلاحظ زيادة خفيفة لمستوى اليوريا في المرحلة الاولى للإصابة ولكن المراحل الأخيرة للمرض تكون الزيادة فيها ملحوظة لنسبة اليوريا .

III – زيادة اليوريا لأسباب خارج كلوية :

أ- عوامل قبل كلوية : ويكون بسبب اختزال عملية الترشيح من خلال الكبب وضعف انسياب الدم خلال الكلية ويحدث هذا نتيجة :

1- الصدمة ، الجفاف ، قصور القلب الإحتقاني – قصور نشاط الكظر (الادرينالين) (يحدث اضطراب بوظيفة الكلية بسبب نقص جريان الدم خلال الكلية)

2- نزف في القناة المعدية المعوية .

3- تناول بعض الأدوية التي تزيد هدم البروتين مثل خلاصة الدرق – الكورتيزون

4- التغيرات في توازن السوائل يؤثر على مستوى تركيز BUN فيزداد مستوى اليوريا (زيادة خفيفة) بنقص أملاح البلازما بسبب الإسهال والتقيؤ والتعرق الشديد – زيادة التبول .

ملحوظة :

في حال نترجة الدم Azotemia بسبب الحالات الآنفة الذكر تكون الكلية سليمة ولكن جريان الدم خلال الكلية إما بطيء أو معدوم إلى حد ما فيترتب على ذلك قصور في عمل الكلية فإذا عولجت مثل هذه الحالات بسرعة فإن الكلية تعود إلى وظيفتها الطبيعية .

IV – زيادة اليوريا لأسباب بعد كلوية : ومنها :

1– انسداد القناة البولية الذي يمنع اطراح البول أو انفجار الممر البولي بسبب الحصوات المبالية المشرشرة أو الملساء وفي أي مكان على طول القناة البولية .

2– فرط نشاط غدة البروستات يترتب عليه تضخم هذه الغدة وحدوث انسداد مجرى البول .

3– الاورام التي تضغط على كلا الحالبين .

4– شذوذات وراثية .

بهذه الحالة من الإصابات تكون الكلية مبدئياً سليمة ولكن إذا استمر انسداد القناة البولية فترة طويلة تحدث تغيرات مرضية في الكلية .

ثانياِ– نقص مستوى اليوريا بالدم :

أ– سوء التغذية بالبروتين وهذا يعود إما إلى :

– قلة تناول البروتين بالعليقة .

– عجز امتصاص البروتين .

ب– اضطراب الكبد وتلف خلاياه يسبب ضعف تشكل اليوريا .

2ً– الكرياتينين : Blood creatinin :

يتشكل من الناتج النهائي لاستقلاب العضلات الكرياتينين والفوسفور كرياتتين . وإن قياس مستوى الكرياتينين بالدم مؤشر صريح على عمل مرشحات الكبب . وإن معظم العوامل التي تؤثر على مستوى الكرياتينين في الدم متشابه إلى حد ما مع العوامل التي تؤثر على مستوى اليوريا بالدم ولكن باستثناء العوامل الآتية :

1- الكرياتينين لا يتأثر بالغذاء (البروتين واستقلابه) .
2- الإنتاج اليومي للكرياتينين من استقلاب العضلات ثابت نسبياً .
3- إنتاج الكرياتينين لا يتأثر بسهولة بعملية الهدم المتسببة عن الحمى ، التسمم الدموي ، إعطاء العقاقير .
4- العمر ، الجنس ، التمارين الرياضية .

عموماً الكرياتينين هو سريع الاطراح من الكلية أكثر من اليوريا فربما تكون الكلية مريضة ولا يحدث ارتفاع شديد لمستوى الكرياتينين بالدم ولكن من الطبيعي أن يحدث هذا الارتفاع إذا ما تقدم المرض بالكلية وأصبحت كفاءة الكلية الوظيفية غير متوازنة . أي أن زيادة مستوى الكرياتينين مؤشر هام لأمراض الكلية وكفاءتها .

والمستوى الطبيعي للكرياتينين في مصل الدم هو :

الخيل : 1.2 – 1.9 ملغ /د.ل

القطط : 1 – 2 ملغ /د.ل

الكلاب: 0 – 1.2 ملغ /د.ل

الأبقار: 1 – 2.1 ملغ /د.ل

الأغنام: 1.1 – 1.9 ملغ /د.ل

الماعز 0.9 – 1.8 ملغ/د.ل

ملحوظة : زيادة الكرياتينين في مصل الدم إلى 5 – 18 ملغ / 100 مل دم دليل تلف خطير في الكلية .

3- اختبارات تجرى على البول والدم معاً :

ويطلق عليها اختبارات التصفية Clearence tests وتتلخص بحقن الحيوان مواد صباغية تطرح من أنسجة الكلية وإن أي تأخير أو اضطراب في طرحها مع البول مؤشر على إصابة الكلية .

ومن أكثر الصبغات شيوعاً صبغة سلفوفتالين P. S. P (Phensulph ftaline) فهذه الصبغة تتحد مع بروتينات البلازما وبعد فترة من الزمن يطرح 95% منهما عن طريق الكلية .

طريقة الاختبار :

1- نفرغ المثانة من البول بواسطة القسطرة المبالية أو تسمح للكلب بالتبول (المقصود هنا هو تفريغ المثانة من الجزء الأكبر من البول) .

2- نحقن 6 ملغ من الصبغة P. S. P داخل الوريد مع تسجيل وقت الحقن بالضبط .

3- نسحب محتويات المثانة من البول بعد 10 دقائق بواسطة القسطرة (يمكن تثبيت القسطرة بحيث تصل بين عنق المثانة إلى خارج المبال) .

4- نغسل المثانة بـ 10 – 15 مل من محلول فسيولوجي معقم ونكرر ذلك 3 مرات أو أكثر ثم نضع كل البول المجموع من السحب في دورق (حساب الوقت هام بالنسبة لهذه التجربة ويجب إنهاء التجربة بعد 20 دقيقة من الحقن) .

5- حساب كمية الصبغة التي طرحت يكون على الشكل الآتي :

أ- نضع كل البول والصبغة المجموعة من المثانة في حوجلة زجاجية سعة 1 لتر ثم نخفف حتى 400 مل بالماء الفسيولوجي .

ب- نضيف 10 مل ماءات الصوديوم تركيز 10% ثم نمزج جيداً فيتكون لون قرنفلي فإذا كان اللون القرنفلي غامقاً نضيف كمية كافية من الماء حتى يصبح الحجم الكلي 500 مل .

وحساب كمية الصبغة يكون بالقراءة على جهاز السبكتروفتومتر على طول موجة 560 نانومتر بالمقارنة مع ألوان قياسية أخرى معروفة كمية الصبغة بها .

(أجمع كثير من الباحثين أن 33 – 55% من الصبغة تطرح خلال 20 دقيقة فإذا نقص اطراح الصبغة فذلك بسبب قصور كفاءة الكلية نتيجة بعض الأمراض مثل أمراض الكلية العامة – الجفاف – قصور القلب- اضطراب في النبيبات الكلوية) .

الحصاة البولية :Urine Stone

تتواجد الحصى البولية في كل أجزاء أعضاء الجهاز البولي تقريباً من الكليتين والحالبين والمثانة ، وهي تتكون بشكل دائم من المواد المفرزة طبيعياً في البول مع كمية معينة من مادة بروتينية وتكون الحصاة بأحجام مختلفة من ذرات الرمل وحجم العدس إلى حجم بيضة الدجاج وهي كثيرة الأشكال . وسطحها أملس وقد يكون محبباً ومشرشراً وهي ذوات نتوءات كثمرة التوت . وهي بألوان مختلفة إما بيضاء أو صفراء محمرة أو مسمرة وتكون

قاسية أو هشة . ومكسرها إما أن يكون بلا شكل غالباً وقليل منها بلوري . وإذا قطعت بالمنشار يظهر فيها طبقات متعاقبة ولها مركز . والمركز أو النواة مؤلفة من خثرة دموية أو من كتلة من الجراثيم أو غير ذلك . أما تركيبها فيختلف باختلاف الاوصاف المتقدمة آنفاً إما أن تكون الحصاة البولية مكونة بلورات حمض البول والبولات ومن فوسفات الكلس أومن فوسفات الأمونيوم والمغنزيوم أومن حماضات الكالسيوم . وعموماً يندر أن تكون الحصاة نقية من نوع واحد ولكن تكون مختلطة ولكن تتغلب إحدى المواد على الأخرى . فمثلاً نجد حصاة مؤلفة من حمض البول وهو الغالب ومن قليل من الحماضات وأثار من الفوسفات .

تحليل الحصاة البولية : Analysis of urinary stone

قبل أن نحلل الحصاة لابد من ذكر الصفات العامة التي تتميز بها أنواع الحصاة البولية المختلفة .

- حصاة حمض البول واليوريت تحترق احتراقاً كاملاً إذا تعرضت للحرارة .
- حصاة يوريت الأمونيوم تحترق احتراقاً كاملاً وإذا عولجت بالصودا تعطي النشادر الحر الذي يعرف بكواشفه الخاصة .
- حصاة الفوسفات لا تحترق ولكن تنحل بحمض كلور الماء بدون فوران .
- حصاة كربونات الكلس لا تحترق ولكنها تنحل بحمض كلور الماء مع حدوث فوران.

عملية التحليل :

تطحن الحصاة لتصبح على شكل بودرة في جفنه ثم يؤخذ قسم من البودرة بحجم حبة الحمص وتوضع في أنبوب اختبار مع 5 – 10 قطرات من حمض الآزوت وقليل من الماء وتغلى (يلاحظ الفوران لإثبات وجود الكربونات) ثم يضاف إليها 2 – 3 مل ماء ويعاد غليها ثم ترشح بورق الترشيح ثم تقسم الرشاحة على عدة أنابيب وجفنه بحيث يوضع في كل وعاء 2 مل من الرشاحة ثم :

1– يضاف إلى الأنبوب الاول 1 مل من محلول مولبيدات الأمونيوم وحمض الآزوت ويسخن . حصول راسب أصفر دليل وجود الفوسفات .

2- يضاف إلى الأنبوب الثاني 2 مل من خلات الصوديوم المشبع بالبرودة . حدوث راسب أبيض دليل وجود حمض الحماض . وعدم حدوث راسب يضاف إليه قليل من محلول حماضات الأمونيوم فحصول راسب أبيض يدل على وجود الكلس .

3- نضع الجفنة ومحتوياتها على حمام مائي حار ويبخر محتوياتها حتى الجفاف . ظهور لون أحمر أجري (كاشف موركسيد) دليل وجود حمض البول وعدم تلوينه ينفيه وإذا ثبت وجوده يضاف إلى ناحية من اللون قطره من الصودا فتقلب إلى أحمر بنفسجي . وبإضافة قطره من الأمونيا يظهر اللون الأحمر الليلكي .

4- نضع جزء من بودرة الحصاة في أنبوب اختبار مع محلول البوتاس الكاوي ثم نغلي الأنبوب فنشم رائحة الأمونيا ثم نضع ورقة ترشيح مبللة بمحلول نسلر فوق فتحة الأنبوب تلونها باللون الأصفر مؤشر على وجود أملاح الأمونيوم ثم يبرد المحلول ويرشح ثم يقسم إلى أجزاء لاختبارات أخرى :

1- يعالج قسماً من الرشاحة بكاشف فولن لحمض البول وكمية من سيانيد الصوديوم والبولة .حصول لون أزرق مؤشر على وجود البولات

2- نمزج قسماً من الرشاحة بحجم مساو لمحلول الصودا الكاوي N10 (عشر نظامي N/10) ثم تضاف عدة قطرات من محلول خلات الرصاص ثم يغلي المزيج . تكون لون أسود أو راسب أسود دليل وجود السيستين .

4- جزء من الرشاحة يعامل بحمض الخل فيترسب الليفين مع تصاعد غاز كبريت الهيدروجين .

الفصل الثاني

فحص السائل المنوي
Semen Examination

الجهـــاز التناســـــلي الذكـــري

Male Reproductive System

لمحة تشريحية وفيزيولوجية عن الجهاز التناسلي الذكري:

إنتاج النطاف الوظيفة الأساسية للجهاز التناسلي الذكري ومن ثم نقلها إلى الجهاز التناسلي الأنثوي وذلك لتشكيل البيضة المخصبة الناتجة عن اندماج البيضة الناضجة من الأنثى مع الحوين المنوي Sperm وبالتالي تشكيل حياة جديدة من نفس النوع الذي أتت منه البويضة والحوين المنوي.

يتألف الجهاز التناسلي الذكري من الخصيتين وقناة الأسهر والقضيب، و يحوي على الغدد الملحقة كالحويصل المنوي والغدد البصلية التكهفية والبروستات....

الملامح التشريحية للخصية وكيس الصفن :

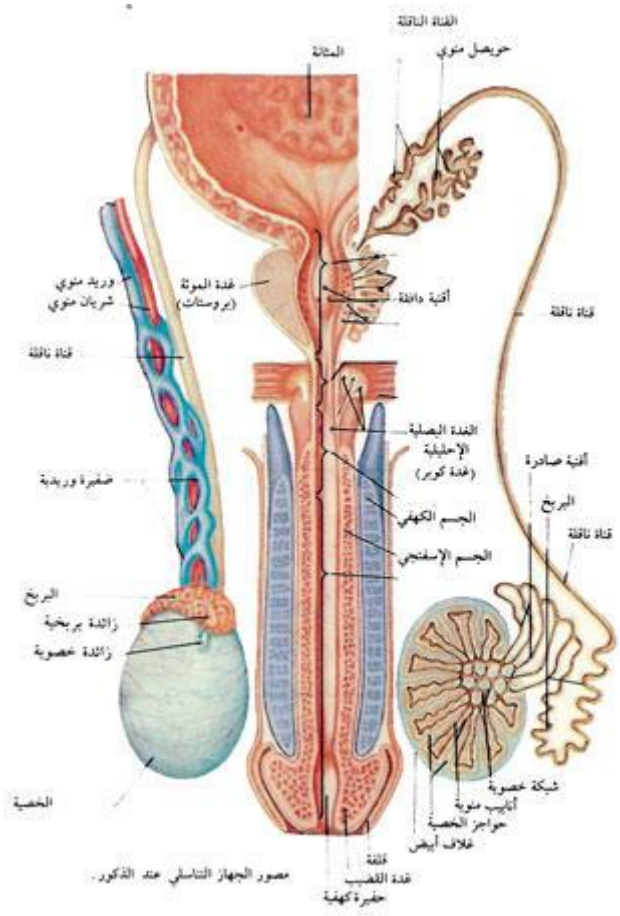
اولاً: الخصيتان Testicles

تتوضع الخصيتان عند معظم ذكور الحيوانات الأهلية خارج التجويف البطني ضمن كيس الصفن، وإن وجود كيس الصفن خارج التجويف البطني آلية مهمة جداً في عملية الإنطاف من خلال تأمين الحرارة المناسبة لذلك. والخصيتان غدد مختلطة (داخلية الإفراز – صماء – وخارجية الإفراز)، وهي تختلف شكلاً وحجماً وموقعاً باختلاف النوع ولكنها تتشابه جميعها من حيث التركيب.

الوظيفه:

1- إنتاج الحيوانات المنوية.

2- إفراز الهرمونات الذكريه.



الشكل رقم – 37 –

التركيب النسيجي: تتركب الخصية من مجموعه من النبيبات المنوية الناقلة Seminiferous Tubules التي يتم فيها تكوين الحيوانات المنوية Spermatogenesis بانقسام الخلايا المبطنه لتلك النبيبات.

تنتج النبيبات المنوية يومياً 10X2 8 نطفة ويقدر طول النبيبات المنوية في الخصية الواحدة بـ 250 م تبطن بظهارة مطبقة تدعى ظهارة إنتاشية أومنوية Germinal or

Seminal Epithelium يغطى الغشاء القاعدي في هذه الظهارة بنسيج ضام ليفي، تحتوي طبقته الداخلية على خلايا مسطحة هي خلايا شبه عضلية Myoidcells تسمح بتقلصات ضعيفة للنبيب المنوي.

تتركب النبيبات من نوعين من الخلايا هي :

4) خلايا غير منقسمة داعمة هي خلايا سيرتولي Sertoli cells
5) خلايا متكاثرة تدعى سلسلة الخلايا المولدة للنطاف، فتنتج خلايا تصبح في المستقبل خلايا نطفية ويتم إنتاج النطاف من خلال عمليتين :

الاولى هي : الإنطاف Spermatogenesis وتشمل الانقسام الفتيلي والمنصف للخلايا.

والثانية : تكون النطاف Spermiogenesis وتشمل التمايز النهائي للخلايا المنتشة أحادية الصيغة الصبغية.

6) **الإنطاف Spermatogenesis** :

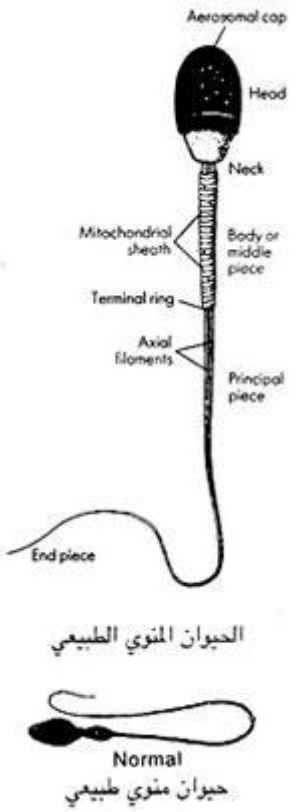
تبدأ عملية الإنطاف بعد البلوغ بخلية منتشة بدائية تدعى بذرة النطفة Spermatogonium وهي خلايا دائرية صغيرة نسبياً قطرها 12 ميكروناً تتوضع بالقرب من الغشاء القاعدي للخلايا، تعد خلايا بذرة النطفة ذات النوى البيضاوية الداكنة خلايا جذعية تنقسم بشكل غير متماثل لتعطي خلايا جذعية جديدة وبذرات نطفية شاحبة ذات نوى بيضاوية تنقسم بسرعة لتعطي خلايا بذرة النطفة نمط A- Spermatogonia Type A والتي تخضع لأنقسامات نسيلية عديدة نوعية. تبقى مجتمعة لتشكل خلايا بذرة النطفة نمط - B Spermatogonia Type B. يطرأ على خلايا بذرة النطفة نمط B انقسام فتيلي نهائي لتنمو وتصبح خلايا نطفية أولية Primary Spermatocyte يتضاعف الـ DNA في الخلايا النطفية الاولية للنمط B –Type B – وتدخل مرحلة الانقسام المنصف الذي ينتج عنه خلايا ذات صيغة صبغية مفردة.

تستغرق الأحداث الخلوية التي تحدث بين الانقسام المنصف النهائي لخلايا بذرة النطفة وأرومة النطفة مدة 60 – 74 يوماً.

7) **تكون النطاف Spermiogenesis** :

تتحول في هذه المرحلة أرومات النطاف إلى نطاف عالية التخصص ولا تحدث أية انقسامات خلوية في هذه المرحلة.

تتوضع الأرومات النطفية بالقرب من لمعة النبيبات المنوية وتشمل عملية تكون النطاف تشكل جسيم طرفي وتكثف وتطاول النواة وتطور السوط وفقدان كميات كبيرة من الهيولى.



الشكل رقم – 38 –

وتحاط الخصية من الداخل إلى الخارج بالأغشيه التاليه:

أ- الغلالة الغمدية Tunica Vaginalis : وهي الطبقة الغمدية للخصية وهي امتداد للبريتوان ولاتحيط بالخصية إحاطة كاملة.

ب- الغلالة البيضاء Tunica Albuginea : طبقة من نسيج ضام كثيف يحوي أليافاً بيضاء وأليافاً عضلية ناعمة وعديداً من الاوعيه الدموية، وتمتد هذه الطبقه داخل الخصية مكونة حواجز تقسم الخصية إلى فصوص كل منها يحوي مجموعة من الأنابيب المنوية وتتجمع الأنابيب الآتية من الفصوص مكونة الشبكة الخصوية Rete Testis، وتخرج من منطقة هذه الشبكة عدد من القنوات (6-12) تعرف بالقنوات الخارجة Efferent Ductuli تتحد مكونة قناة البربخ Duct of Epididymis المؤدية إلى رأس البربخ.

ثانياً: البربخ Epididymis:

- الشكل: يبلغ طوله 33-35 متراً في الثور- يتكون من ثلاث مناطق هي :

الرأس Caput الجسم Corpus الذيل Cauda

- التركيب: تبطن معظم قناة البربخ خلايا إفرازية- وفي منطقة الرأس توجد خلايا مهدبة.
- الوظائف:

1- نقل الحيوانات المنوية من مؤخرة الخصية إلى الوعاء الناقل.

2- تركيز الحيوانات المنوية وذلك بامتصاص الماء من إفرازات الخصية المصاحبه للحيوانات المنوية.

3- إنضاج الحيوانات المنوية نتيجة لإفرازات خلايا البربخ.

4- تخزين الحيوانات المنوية في منطقة الذيل قبل قذفها، عند ربط البربخ فى الثور تبقى الحيوانات المنوية في البربخ قادرة على الإخصاب 60 يوماً، وبعد ذلك تضمحل وتمتص.

- يتصل الرأس بنهاية الخصية عند الجزء الذي يدخل منه الاتصال الدموي واللمفاوي والعصبي للخصية.
- يمتد الذيل مكوناً أنبوبه تمتد بجانب جسم البربخ موصلةً إلى الوعاء الناقل.

ثالثاً: الوعاء الناقل (الأسهر) Vas Deferens :

- أنبوبة عضليه تكون سميكه عند لاتصالها بالقناة البولية التناسلية مكونة غدة الأمبولا Ampulla.
- ينقل الحيوانات المنوية من ذيل البربخ إلى القناة البولية التناسلية.
- مبطن بنسيج طلائي عمودي مهدب Ciliated، كما يوجد فى الجدار عضلات ملساء تساهم بإنقباضها في عملية القذف (تنقل الحيوانات المنوية من البربخ إلى مجرى البول).

الحبل المنوي Spermatic Cord

ينضم الوعاء الناقل مع الشرايين والاوردة والأعصاب والعضلة الداخلية المعلقة للخصيه Internal Cremaster Muscle وتغلف بالطبقة الغمدية Tunica Vaginalis مكونة الحبل المنوي الذى يمر خلال القناة الإربية Inguinal Canal إلى قناة الحوض.

رابعاً: القناه البولية التناسلية (الإحليل) Urethra :

- ممراً للحيوانات المنوية وبلازما السائل المنوي وكذلك البول، وتمتد من عنق المثانه حتى نهاية القضيب.
- وتكون مبطنة بنسيج طلائي انتقالي وفي رأس القضيب تبطن بنسيج حرشفي مركب.

وتقسم إلى ثلاثة أجزاء:

1) Pelvic Urethra وهوالجزء الحوضي ويوجد فى منطقة الحوض وطوله فى الثور 15–20 سم.
2) Ischial Arch Urethra وهوالجزء الموجود حول منحنى S (Sigmoid Flexure).
3) Penial Urethra وهوالجزء الموجود بالقضيب.

ويصب فى القناة البولية التناسلية عدة فتحات هي :

القناه البولية الداخلية – فتحتا غدتي الأمبولا– فتحتا الحويصلات المنوية – عدة صفوف من الفتحات تصب عن طريقها إفرازات الموثة (البروستات) – فتحتا غدتي كوبر.

خامساً: القضيب penis :

وهو عضو الجماع في الذكر ويمكن تقسيمه إلى ثلاث مناطق هي :

1) جذر Root: وهو الجزء المتصل بالحوض بالعضله الوركية Ischiocavernosus.
2) جسم Corpus: وهو الجزء الأساسي للقضيب، يمتد من الجذر إلى رأس القضيب.
3) رأس Glans Penis وهو الطرف الحر للقضيب. ويختلف رأس القضيب بدرجه كبيره من نوع لآخر، ففي نهاية قضيب الكبش توجد زائده تسمى "شاخصة مجرى البول" ويبدو أنها تدخل إلى عنق الرحم للأنثى عند التلقيح بينما يتميز رأس القضيب فى الثور بالشكل المخروطي.

سادساً: كيس الصفن Scrotum :

هوامتداد جلدي لجدار تجويف البطن ينشأ من منطقة العانة ويهبط ويتدلى بين الفخذين على شكل كيس جلدي يأخذ شكل وحجم الخصيتين ويحيط بهما ويتكون من الطبقات التاليه من الخارج للداخل:

أ) جلد قابل للتمدد والانكماش وتكثر فيه الغدد العرقيه والدهنيه.
ب) الغلالة السلخية Tunica dartos بها ألياف عضليه ناعمه ونسيج ضام مرن ومن هذه الطبقه يتكون حاجز يقسم كيس الصفن إلى قسمين كل منهما يحوى خصيه.
ج) الغلالة الغمدية Tunica Vaginalis وهي امتداد للبريتوان، وهي مؤلفة من طبقتين: الطبقة الداخلية تحيط بالخصية، والخارجية مبطنة لكيس الصفن وبينهما إفرازات مصلية تسهل حركة الخصية داخل كيس الصفن.

وظائف كيس الصفن

1) حمل الخصيتين وحمايتهما خارج الجسم.
2) تنظيم درجة حرارة الخصية – لتكون أقل من درجة حرارة الجسم بحوالي 1-8° م _ وذلك ضروري لتكوين الحيوانات المنوية ويرجع ذلك إلى:

أ) وجود الخصية بعيداً عن الجسم.
ب) النظام العضلي المعلق للخصية، الذي ينقبض ويرتخي تبعاً لحرارة الجوالخارجي وطبقة الغلالة السلخية Tunica dartos
ج) نظام الإمداد الدموي للبربخ الكثير الالتواء على سطح البربخ.

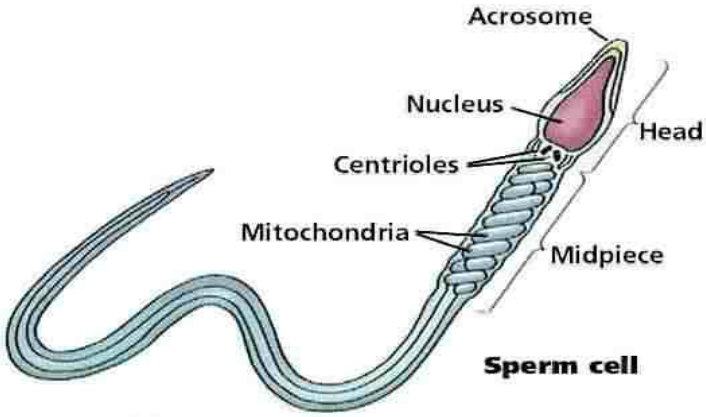
سابعاً: الغدد الإضافية Accessory Glands :

وظيفتها: إفرازاتها تمثل معظم البلازما المنوية وهي غنيه بالسكريات، البروتينات، الأحماض الأمينية، الأنزيمات، الفيتامينات الذائبة فى الماء، أملاح حمض الليمون، وتتميز البلازما بصفات تنظيميه عاليه. وهذه الغدد هي:

1) الأنبورة (Ampulla) تعمل كمخزن للحيوانات المنوية.
2) الحويصلات المنوية Seminal Vesicle تغذية الحيوانات المنوية وإمدادها بالطاقه لأ نها تفرز الفركتوز، وأملاح حمض الليمون والفوسفات.
3) غدة الموثة Prostate Gland تفرز شوارد غير عضويه كالصوديوم والكلوريد والكالسيوم وتفرز سائلاً لزجاً يساهم فى تفريغ قناة البول ويساهم فى تكوين البلازما كما تفرز بروتيناً يمنع إلتصاق رؤوس الحيوانات المنوية
4) غدتي كوبر Bulb Urethral Gland تسهمان بإنتاج السكريات، البروتينات، الأحماض الأمينية، الأنزيمات، الفيتامينات التي تدخل في تركيب البلازما المنوية كما تنظف مجرى البول قبل القذف.

تركيب الحيوان المنوي Sperms :

النطفة عبارة عن خلية خيطية الشكل يبلغ طولها عند الثور 70 ميكرومتراً وعند الحصان 60 ميكرومتراً، تتكون النطفة من رأس وعنق وذيل، الرأس بيضوي مفلطح (مضغوط من الطرفين) ويتميز بوجود نواة تأخذ معظم فراغ الرأس – الشكل رقم 39 –. وتحتوي النواة على الـ DNA المفرد والموجود بالصبغيات على شكل 1 ن (أحادي الصيغة الصبغية)، يغطي الرأس من الأمام القلنسوة التي تتألف من غشاء خارجي وداخلي يغطي معظم الجزء الأمامي من الرأس.



جسيم طرفي : Acrosome　　نواة : Nucleus

مريكزات : Centrioles　　المتقدرات : Mitochondria

رأس : Head　　القطعة المتوسطة : Midpiece

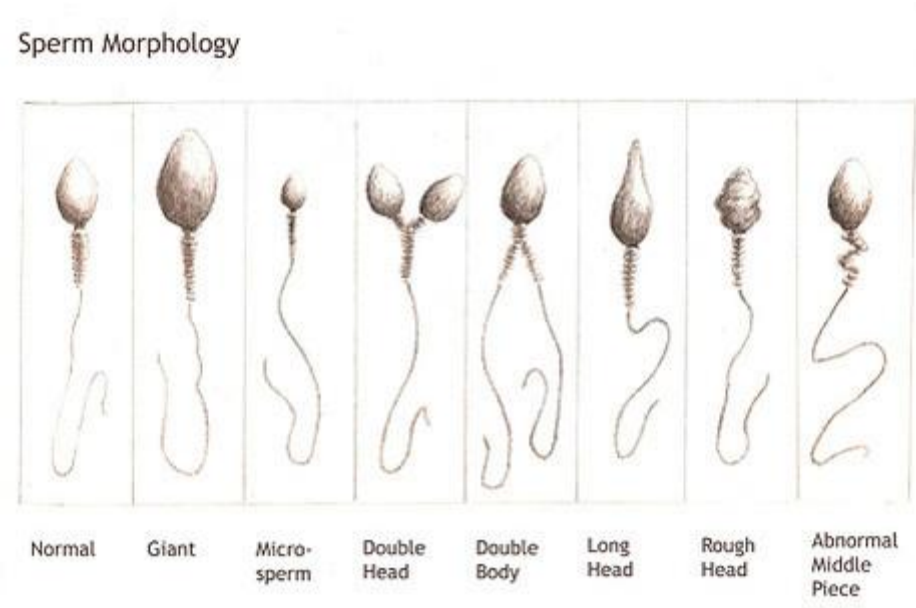
خلية نطفية Sperm cell

الشكل رقم – 39 –

تشوهات الحيوانات المنوية :

وجود نسبة مرتفعة من الحيوانات المنوية الشاذة في السائل المنوي المقذوف يؤدي إلى انخفاض واضح في نسبة الإخصاب فكلما كان عدد أونسبة الحيوانات المنوية الشاذة في السائل المنوي أقل كانت نسبة الإخصاب مرتفعة أكثر، هذا إلى جانب عدد وحيوية الحيوانات المنوية في كل 1 ملل من السائل المنوي المقذوف.

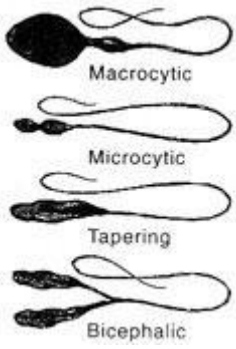
فنسبة 20% فما دون للحيوانات المنوية الشاذة هي نسبة مقبولة وكلما ارتفعت هذه النسبة انخفضت نسبة الإخصاب وبالعكس.



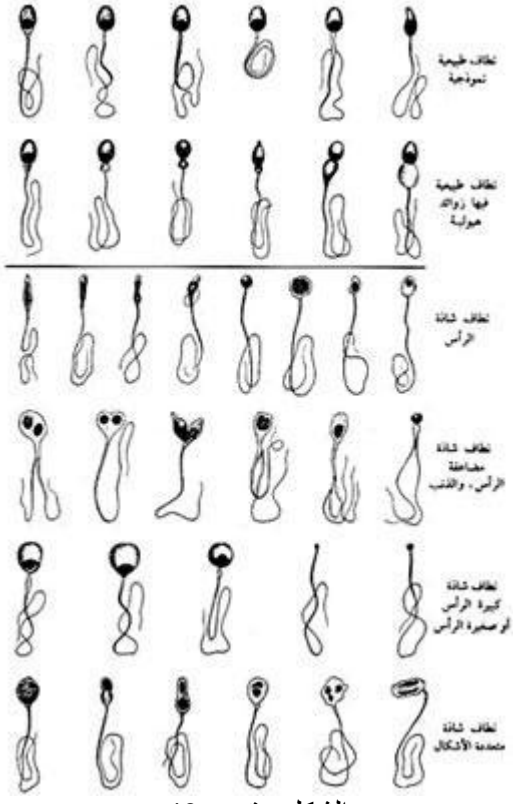
الشكل رقم – 40 –

تنتج التشوهات في الحيوانات المنوية عن أسباب مختلفة منها وراثية أوأسباب مرضية تخص الجهاز التناسلي والخصية أوأسباب عامة مرضية أوكيميائية أوفيزيائية كالرضوض والحرارة المرتفعة والأشعة والتسممات وغيرها.

وتظهر التشوهات في منطقة الرأس أوالعنق أوالذيل، وتبدوالتشوهات في الرأس على شكل صغر أوكبر في حجم الرأس أوتغير في شكله، أما في منطقة العنق فتظهر التشوهات على شكل قصر أوطول مفرط في العنق أوانعدامه أوازدواجيته. أما في منطقة الذيل فتبدوالتشوهات على شكل طول شديد أوقصر شديد في الذيل أوانعدام الذيل أوازدواجية الذيل.



الشكل رقم – 41 –



الشكل رقم - 42 -

الفصل الثالث
فحص الحليب
Milk test

لمحة تشريحية ووظيفية عن الضرع :

تبدأ الغدد اللبنية في الضرع عند الأنثى بإفراز الحليب بعد الولادة مباشرة بهدف إرضاع المولود. والحليب المادة المثالية لتغذية المواليد ولا يستعاض عنه ولا يحل مكان هذا السائل أي مادة غذائية أخرى بالإضافة إلى الاستفادة منه اقتصادياً من أجل صناعة منتجات الألبان وبالتالي تغذية الإنسان.

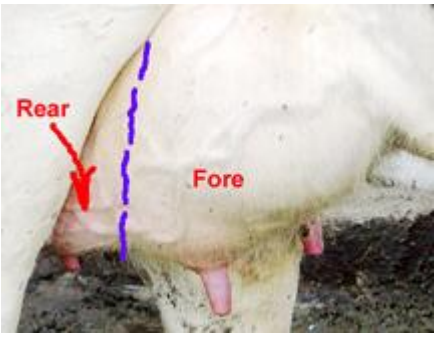
وتختلف فترة الإدرار باختلاف نوع الحيوان، ويدعى الحليب المفرز في الأيام الاولى بعد الولادة بالسرسوب أواللبأ Colostrum وهويختلف في تركيبه عن الحليب العادي فالسرسوب غني بالبروتينات والدهون والفيتامينات والأملاح المعدنية والأضداد.

ويمر نموالضرع عند حيوانات المزرعة بخمس مراحل هي :

1- مرحلة النموالجنيني
2- مرحلة النمومن الولادة حتى النضج الجنسي
3- مرحلة النموفيما بعد النضج الجنسي
4- مرحلة النموخلال فترة الحمل
5- مرحلة الإدرار

-تركيب الضرع عند إناث حيوانات المزرعة :

يتشكل الضرع عند الأبقار من أربع غدد رئيسة وكل غدة تتصل بحلمة. فالضرع يحوي على أربع حلمات اثنتان أماميتان واثنتان خلفيتان. وتكون المسافة بين الحلمتين الأماميتين ضعف المسافة بين الحلمتين الخلفيتين تقريباً. وتبدوالحلمات الخلفية أقصر من الحلمات الأمامية، ويفضل الضرع ذوالحلمات القصيرة عند استعمال الحلابة الآلية، ويبلغ طول الحلمة العادية 8-12 سم.



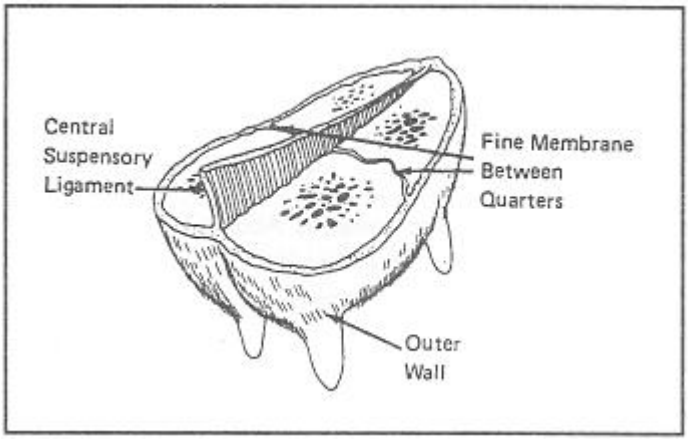
الجزء الأمامي : Fore الجزء الخلفي : Rear

الشكل رقم – 43 –

يغطى الضرع عند الماشية بجلد قليل الشعر والحلمات خالية من الشعر، ينقسم الضرع عند الأبقار طولياً إلى نصفين وذلك بوساطة حاجز طولي من النسيج الضام، وينقسم كذلك كل نصف إلى ربعين أمامي وخلفي، ويحتوي كل ربع من الأرباع على غدة منفصلة عن الغدد الأخرى وتتصل به حلمة خاصة به.

ويكون الربعان الخلفيان للضرع أكبر من الربعين الأماميين، ويتكون فيهما حوالي 60% من كمية الحليب المنتجة.

في الضرع نوعان من الأربطة : الرباط الدعامي الوسطي والرباط الدعامي الخلفي (الجانبي) مع وضوح حاجز الضرع من الخارج.



الرباط المعلق المركزي : Central Suspensory Ligament

الغشاء الرقيق بين الأرباع : Fine Membrane Between Quarters

الجدار الخارجي : Outer Wall

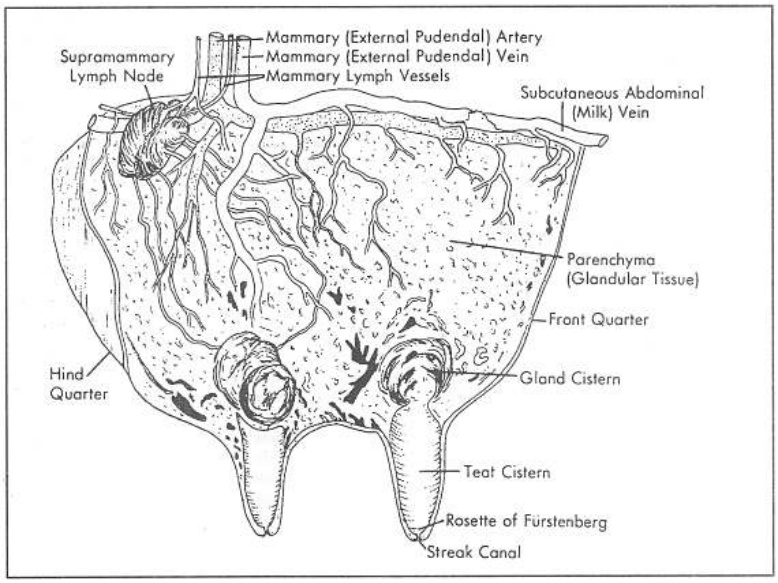
الشكل – 44 –

يتكون نسيج الضرع عموماً من نسيج غدي ظهاري مفرز للحليب ومن نسيج ضام يشكل اللحمة الضامة وهيكل الضرع ويتخلل هذه الأنسجة نسيج شحمي واوعية دموية ولمفية وأعصاب.

أخدود الضرع : Mammary groove الشكل رقم – 45 –

يتميز الضرع بوظيفتين أساسيتين مرتبطتين مع بعضهما هما الوظيفة الإفرازية والوظيفة الحركية، تشمل الوظيفة الإفرازية عملية تشكل الحليب في الخلايا الظهارية للحويصلات المفرزة وطرحه وإفراغه في تجويف هذه الحويصلات، أما الوظيفة الحركية فتساعد في تجميع الحليب في الجهاز المجمع ومن ثم إخراجه من الحويصلات المفرزة والأقنية إلى صهريج الغدة.

تتوضع الحويصلات اللبنية في نهاية الأقنية الدقيقة للفصيصات الضرعية، وتبطن هذه الحويصلات بطبقة من الخلايا الظهارية الغدية التي تقوم باستخلاص المواد والعناصر الغذائية من الدم واستعمالها في تصنيع الحليب الذي تفرزه داخل تجويف الحويصلة، وتختلف معدلات نموونشاط هذه الخلايا باختلاف مراحل النشاط التناسلي للأنثى.



العقدة اللمفاوية فوق الضرع : Supramammary Lymph Node

الشريان الضرعي : Mammary Artery

الوريد الضرعي : Mammary Vein

الاوعية اللمفية الضرعية : Mammary Lymph Vessels

الوريد البطني تحت الجلدي – وريد الحليب Subcutaneous Abdominal – Milk – Vein

المتن : Parenchyma النسيج الغدي : Glandular Tissue

صهريج الغدة : Gland Cistern صهريج الحلمة : Teat Cistern

الربع الأمامي : Front Quarter الربع الخلفي : Hind Quarter

الشكل رقم – 46 –

أما من الخارج فتحاط الحويصلات اللبنية بشبكة من الاوعية الدموية الشعرية لسد حاجة الخلايا الظهارية الإفرازية من المواد الغذائية ولتزويدها بالعناصر الغذائية اللازمة لتصنيع الحليب ولتخليصها من المواد الاطراحية الناتجة عن عملية الاستقلاب.

كما تحاط الحويصلة بمجموعة من الخلايا العضلية الملساء التي تنقبض بفعل هرمون الاوكسيتوسين فتسبب إخراج الحليب من الخلايا الظهارية المفرزة إلى فراغ الحويصلة اللبنية.

تتجمع أعداد من الحويصلات وتغلف بطبقة من النسيج الضام مكونة ما يعرف بالفصيصات التي تتجمع وتغلف هذه المجاميع بطبقة من نسيج ضام مكونة الفصوص، تتصل هذه الفصوص بعضها ببعضها الآخر عن طريق قنوات صغيرة تجتمع بعد ذلك لتصب في قناة عامة تقوم بتوصيل الحليب الناتج إلى الصهريج الضرعي.

يتم إخراج الحليب من الصهريج عن طريق قناة الحلمة إلى خارج الضرع.

الحليب

الحليب سائل أبيض تفرزه إناث الثدييات من الغدد اللبنية المتواجدة في الضرع، لونه أبيض مائل إلى الاصفرار أحياناً لوجود نسبة كبيرة من مادة الكاروتين المعلقة على حبيبات الدهن، والحليب مادة غذائية هامة جداً ولا سيما للمواليد وصغار الحيوانات والإنسان، وهوذوطعم مقبول، وليس له رائحة ويتكون من الماء والبروتين والدسم والسكر ومواد معدنية ومواد أخرى كالفيتامينات والأصبغة وغيرها.

يتكون حليب جميع الحيوانات اللبونة من نفس المكونات، مع اختلاف نسبها فقط من حليب لآخر، فالحيوانات التي تحتاج مواليدها إلى قدر كبير من الطاقة كالتي تعيش في المياه كالحيتان أوالمناطق الباردة كالفقمة وغيرها ترتفع نسبة الدهن في حليبها لتصل إلى 20% أوأكثر، أما الحيوانات التي تنمومواليدها بسرعة كالحيوانات اللاحمة فترتفع نسبة البروتينات في حليبها لتصل إلى أكثر من 7%، ولهذا فإن الحليب الذي تفرزه الأمهات يجب أن يتلاءم مع احتياجات المواليد، وإضافة إلى المكونات الرئيسة المذكورة قد تتواجد في الحليب مركبات أخرى بكميات ضئيلة جداً كالفيتامينات والأنزيمات وثمالات من مبيدات الأعشاب والحشرات والصادات الحيوية وبعض العناصر المشعة.

لأن حليب الأبقار هوالحليب المتداول رئيسياً في العالم، سنتحدث عنه بشكل عام.

إن العوامل التي تؤثر على تركيب الحليب وبشكل خاص الدسم مختلفة ومتعددة وأهمها العرق والسلالة والقطيع والحالة الصحية والعمر والتغذية والجوالمحيط، وفيما إذا كان الحليب في المساء أوالصباح، أومن أول الحلابة أوآخرها، أوبعد الولادة مباشرة (اللبأ أوالسرسوب) أوحليب طبيعي.

جمع عينات الحليب
Collection of milk samples

طرق أخذ عينات الحليب ومنتجاته

تهدف الطريقة إلى تمثيل المادة المراد تحليلها تمثيلاً دقيقاً ولتوضيح كيفية أخذ العينات وحفظها بغية تطبيق التحليل الكيميائي والفيزيائي، ولا تختلف طرق أخذ العينة من أجل الفحص الفيزيائي أوالكيميائي، ولكنها تختلف تماماً بالنسبة للاختبارات الجرثومية، تطبق الطريقة على الحليب والمنتجات الدهنية السائلة الأخرى مثل الحليب المركز المحلى وغير المحلى والقشدة.

مقدمة :

يجب أن نذكر أولا الضرورة المطلقة في جعل محتوى الوعاء الذي ستؤخذ العينة منه متجانساً بشكل كامل .

تعتمد الطريقة على أخذ الحليب بدون تحريك باستخدام مسابر خاصة تعطى في حالة عينات ذات تركيب مطابق بشكل كلي لتركيب الحجم الكلي للحليب الموجود بالوعاء.

في الحالة التي يتطلب فيها تحضير عينة للتحليل الجرثومي، سيتم تكوين (ضمن الشروط الممكنة) ثلاث عينات للمخابر المختلفة الاولى بهدف المراقبة الجرثومية والأخرى بهدف التحليل الكيميائي والفيزيائي، والثالثة تبقى في حال ظهور أي خلاف في التحاليل السابقة.

في الحالة التي لا يمكن أن تكون العينة مميزة تستخدم أولاً في التحليل الجرثومي ثم في التحليل الكيميائي، مع الأخذ بعين الاعتبار جمع كمية كافية لتطبيق نوعي للتحليل.

حالة الحليب المجمد :

عندما يكون الحليب مجمداً ولوكان التجميد جزئياً يجب أولاً إزالة التجمد كلياً لكتلة الحليب.

إن عملية إزالة التجمد تتم على درجة منخفضة من الحرارة نسبياً مثلاً بين 5 و10 م° ويجب أن يصبح الحليب متجانساً وتؤخذ العينة بطريقة معقمة في نهاية عملية فك

التجميد وتخضع إلى التحليل بأسرع ما يمكن (حالة التحليل الجرثومي) أقل من 24 ساعة بحيث يتم حفظ العينة على درجة حرارة منخفضة من 0 إلى 4 م ° أما الحليب المبستر فيحفظ على درجة حرارة أقل من 10 م°.

شروط استخدام الأدوات :

النظافة، يجب أن تكون الأدوات المستخدمة في أخذ العينات مغسولة أولا بالماء للتخلص من القطع الكبيرة المتبقية من عملية أخذ العينات السابقة ثم التنظيف باستخدام الفرشاة وتغسل بالماء الحار الحاوي على أحد المحاليل القلوية ثم تغسل بالماء وتترك لكي تجف.

في حالة أخذ العينة للتحليل الجرثومي يجب أن تعقم الأدوات وفق الطرق التالية:

1- إبقاء الأدوات خلال مدة ساعة على درجة حرارة 170 م°.

2- إبقاء الأدوات 20 دقيقة ضمن البخار على درجة حرارة 120 م°.

وفي بعض الحالات يمكن استخدام إحدى طرق التعقيم التالية مباشرة قبل الاستخدام.

3- ترك الأدوات ساعة في البخار على درجة 100 م°.

4- ترك الأدوات دقيقة في الماء المغلي.

5- غمر الأدوات في الإيثانول 70 % ثم تجفيف الإيثانول باللهب.

6- غمر الأدوات دقيقتين ضمن محلول ماء جافيل 100 مغ / كغ من الكلور الفعال أومحلول ماء جافيل تجاري 12 يوضع ضمن 10 ليترات من الماء.

في حالة الحليب الخام يجب أن تكون الأدوات المستخدمة معقمة.

أخذ العينات :

أ. أخذ العينات من الاوعية الصغيرة :

1- الأدوات اللازمة :

- محراك من المعدن غير قابل للأكسدة (الكروم 316) له قرص مثقب قطره أقل بقليل من قطر فتحة الوعاء المحتوي على الحليب ويثبت ساق عمودي في منتصف القرص بحيث يكون طول الساق أعلى من طول الوعاء وينتهي بالنهاية الأخرى بمقبض يمكن أن يكون على شكل حلقة، يجب أن يلتحم القرص في النهاية الأخرى للساق.

ويمكن أيضاً استخدام محرك ميكانيكي للخلط ويجب أن يعقم المحرك وفق الطرق المذكورة سابقاً.

المغرفة المستخدمة في أخذ العينات مصنعة من المعدن غير القابل للتأكسد. ويجب أن تكون معقمة.

العبوات الزجاجية المستخدمة لجمع العينات يجب أن تعقم، أوتستخدم عبوات بلاستيكية مناسبة سعتها 125 مل لها رقبة عريضة ومحكمة الإغلاق.

2- التحريك :

يدخل المحرك بهدوء بعد تعقيمه ضمن الوعاء المملوء مع تجنب قذف قسم من الطبقة العلوية الغنية بالمادة الدسمة.

التحريك الناتج بفعل الحركة العمودية المترددة يجب أن يتم على نفس الطول في الوعاء وإن مجال الحركة يجب أن يكون أقل من الارتفاع الكلي المأخوذ بالحليب بمعنى آخر أن القسم المحرك والخلاط يجب ألا يبرزا، ومن جهة أخرى من الضروري أن تتم الحركة على طول جدار الوعاء وليس فقط في المحور وأن تتم العملية ببطء في الهبوط وبسرعة في الصعود بغية تحريض دوران حقيقي للحليب ويجب أن تتابع عملية التحريك خلال عشر ثوان على الأقل بمعدل حركة واحدة مترددة كل ثانية، أي أن لا يقل عدد الحركات عن عشر مرات.

3- أخذ العينة :

عندما تنتهي عملية التحريك بدون انتظار يجب أن تؤخذ عينة الحليب باستخدام المغرفة المعقمة والجافة، ويمكن أخذ العينة وإرجاعها عدة مرات لضمان عدم دخول أي شيء للعينة فيما إذا كانت المغرفة رطبة على سبيل المثال، نضع الحليب في عبوة العينة مع الانتباه الشديد. نملأ العبوة إلى ثلاثة أرباعها كحد أقصى بغية السماح لعملية خلط وتحريك لاحق عند الاختبار.

نقوم بنفس العملية عدة مرات بما يتناسب وعدد العينات اللازمة للمخابر، بعد أن يتم أخذ العينة، نغسل الخلاط والمغرفة بالماء وعند استخدامها مرة أخرى من المفضل تعقيمها بإحدى الطرق المشار إليها خاصة إذا كانت العينة موجهة للتحليل الجرثومي.

ب - أخذ عينة من الحليب من عدة أوان :

محتويات الاوعية المكونة لحصة ما يجب أن تقدم خصائص متشابهة بحيث يمكن اعتبارها تمثل حصة متجانسة من وجهة النظر الفيزيائية والكيميائية والجرثومية وبالتالي نأخذ عينات متباينة بشكل طردي ثم نأخذ عينة تتناسب وحجم الحليب الموجود وجمع العينات المأخوذة ضمن وعاء معقم بعد جعل الحليب متجانساً يمكن أخذ عينة للمخبر ووضعها في العبوات المخصصة للعينات.

إذا كانت الأدوات تسمح في أخذ 10 مل من الحليب فمن الممكن عمل عينات بعد تحريك الاوعية المأخوذة بحيث يجمع 10 مل من كل وعاء وتوضع الكمية المأخوذة ضمن عبوة العينة.

ج – أخذ العينة من الحوض أوالخزان :

1– الأدوات :

خلاط مكون من لوح دائري مثقب، يثبت اللوح على نهاية ساق من المعدن وطول الساق أعلى من عمق الحوض وتنتهي الساق عند الجهة الأخرى بمقبض قوي يجب أن يكون المحرك من المعدن غير قابل للأكسدة. ويمكن أيضاً استخدام محراك ميكانيكي مناسب.

عند تحضير عينة للتحليل الجرثومي يعقم الخلاط.

- مغرفة خاصة.
- عبوات للعينات مناسبة.

2– التحريك

يجب أن يتم التحريك أفقياً بشكل متردد ولكن الحركة الناتجة في الحليب يجب ألا تنتج حركة بسيطة لعمق الحوض فقط، ويجب البحث في الحصول على حركة دورانية بين السطح والعمق تؤدي إلى حدوث تجانس بين الطبقات العلوية والسفلية للخزان.

نعيد هذه العملية عدة مرات (حوالي 20 مرة) بغية خلق حركة دورانية للحليب ضمن الحوض، إذا كان الحوض صغير الأبعاد يمكن التوصل بسهولة بهذه النتيجة.

أما إذا كان الحوض كبير الأبعاد فيجب متابعة التحريك خلال وقت أطول بحيث يتم التأكد منه بالحركة الكاملة للكتلة الكلية للحليب.

أخذ العينات من خزان السيارة الناقلة المجهز بمحرك ميكانيكي:

1- الأدوات اللازمة :

- عبوات من الزجاج سعتها 125 مل تغلق بسدادة لها لولب مع حلقة من مادة مطاطية ومجهزة بسلسلة معدنية ذات طول مناسب تلف على رقبة العبوة، يجب أن يغلف المجموع ضمن ورقة خاصة معقمة في جهاز التعقيم (خاصة عند أخذ عينة للتحليل الجرثومي).

2- التحريك :

نحرك السائل قبل أخذ العينة خلال وقت مناسب يتراوح من 5 إلى 30 دقيقة وفقاً لأبعاد الخزان وخصائص المحرك وكمية السائل المراد تحريكه.

3- أخذ العينة :

نخرج العبوة من غلافها وننزع السدادة ونغمرها في السائل مع الاحتفاظ بالسدادة ثم نسحبها. نتخلص من قسم منها بحيث تكون الكمية المتبقية تسمح في إحكام السد (خاصة التحليل الجرثومي).

عند أخذ عينة للتحليل الكيميائي - الفيزيائي يجب توخي الحذر والدقة بحيث تكون العينة متجانسة تماماً لإعطاء صورة صحيحة عن نسبة الدسم والمادة الجافة في الحليب.

أخذ العينة من خزان سيارة غير مجهز بنظام تحريك وخلط :

من غير الممكن تطبيق عملية تحريك صحيحة ضمن الخزانات الحاوية على عدة آلاف من الليترات من الحليب وغير المجهزة بخلاطات آلية.

إذا أردنا الحصول على عينات مختلفة لمجموع الحليب في الخزان يجب أن نأخذ العينات من نقاط مختلفة في الخزان، لذلك يمكن تحريك الحليب في الخزان باستخدام الخلاط المستخدم في تحريك الحليب في الحوض لمدة معينة ومن ثم نأخذ عينة كما هو الحال في أخذ العينة من الخزان المجهز بخلاط آلي.

5- أخذ العينات من العبوات المغلفة الفردية :

يجب أن تكون العينة من عبوة واحدة أو عدة عبوات فردية مغلفة وفق المستوى المطلوب والتأكد من سلامة العبوة مهما يكن النموذج

(عبوة زجاجية – أومادة بلاستيكية، عبوات مغلفة من الكرتون)

- **عينات المخبر :**

– وضع المعلومات، يجب أن تقفل العينة وتجهز ببطاقة يكتب عليها البيانات اللازمة ونشير بشكل خاص إلى طبيعة المادة وأصلها.

– أرقام وعدد الحصص.

– تاريخ وساعة ومكان أخذ العينة.

– الاسم وعنوان وكفاءة الشخص الذي جمع العينة.

إذا كان ضرورياً تحديد كتلة العينة أوكتلة وحدة الحصة التي تأتي منها العينة يجب أن يشار إليها أيضاً.

– نقل وحفظ العينة

إذا كانت العينة موجهة للتحليل الجرثومي يجب عدم إضافة مواد حافظة ولذلك يجب تبريد العينات بسرعة بغمرها بالماء والمحافظة عليها في درجة حرارة منخفضة من 0 إلى +4 م° بالنسبة للحليب المبستر الموجود ضمن عبوات مغلقة في الأصل يمكن تركها على درجة حرارة أقل من + 5 م°. أما الحليب المعقم الموجود ضمن عبواته الأصلية فيمكن تركه على درجة الحرارة العادية.

يجب أن يبدأ الاختبار الجرثومي بأسرع وقت ممكن بعد أخذ العينة وفي كافة الحالات هي أقل من 24 ساعة بعد أخذ العينة.

أما إذا كانت العينة موجهة للتحليل الكيميائي – الفيزيائي ويمكن إضافة إحدى المواد الحافظة بحيث لا يؤدي ذلك إلى إعطاء نتائج مغلوطة. ويجب أن يشار إلى طبيعة ونوعية المادة الحافظة المستخدمة على البطاقة.

بعد أخذ العينة يجب ايصالها بسرعة إلى المخبر ويمكن أخذ بعض الاحتياطات بعدم تعرض العينات إلى أشعة الشمس المباشر

وأن لا تكون درجة الحرارة أقل من نقطة التجمد أو درجة حرارة مرتفعة وفي كافة الأحوال يجب أن لا تكون أكثر من 5 م° في حالة المنتجات اللبنية غير المضاف إليها المواد الحافظة.

محضر العينة :

يجب أن يشير المحضر بدقة إلى :

– مكان وتاريخ وساعة أخذ العينة.

– اسم وكفاءة الشخص الذي جمع العينة.

– طريقة أخذ العينة.

– طبيعة وعدد الوحدات المكونة.

– عدد العينات المجمعة بالنسبة إلى الحصص.

– القصد من العينة وتوجيهها للتحليل الكيميائي – الفيزيائي أوللتحليل الجرثومي.

أخذ العينات وحفظها بغية تحديد المحتوى من المادة الدسمة والمادة الجافة الكلية واللادسمة :

معدل أخذ العينات :

يجب أن يتم أخذ العينات بمعدل ثلاث مرات على الأقل / شهرياً لتقدير المادة الدسمة ومرتين بالشهر لتقدير محتوى الحليب من البروتينات.

يجب أن يتم أخذ العينة من حليب الحلابة المسائية والحليب الناتج عن الحلابة الصباحية.

وفي معامل تصنيع الألبان والأجبان يجب أن تؤخذ العينة يومياً من كل الموردين خوفاً من الغش

مكان أخذ العينات :

بشكل عام يتم أخذ العينات في المعمل عند وصول السيارات المجمعة للحليب وهذا ما يتطلب القيام فرديا في جلب الحليب من المزرعة حتى المعمل. وإذا تعذر أخذ العينة في المعمل فيتم ذلك في المزرعة.

تكوين العينة :

عند أخذ العينة يجب أن تكون ممثلة وشاملة لكل الحليب. يتم في المعمل أو في المزرعة تكوين عينة واحدة ومتناسبة اعتباراً من الكميات المأخوذة من كل أوعية حليب المساء والصباح.

حالة تجميع مضاعف للحليب يتم تطبيق عملية أخذ العينة الواحدة على حليب الصباح والأخرى على حليب المساء ويتم تكوين عينة واحدة مكونة من خليط من أقسام متساوية للعينات الممثلة لحلابة المساء ولحلابة الصباح.

بشكل عام يجب أن تتم المعايرة على كل عينة ويمكن أن تستخدم نفس العينة لتقدير المحتوى من المادة الدسمة والمحتوى من المادة الآزوتية على أن لا تؤثر المادة الحافظة على نتيجة الاختبار.

حفظ ونقل عينات الحليب :

عينة الحليب المأخوذة يجب أن توضع في العبوة المحتوية من قبل على مادة الحفظ وتخلط بحيث يتم الحصول على إذابة كاملة لهذه المواد.

إن المواد المستخدمة لعملية الحفظ إما ثنائي كرومات البوتاسيوم بحيث يكون التركيز النهائي 0.1 %.

يستخدم كلور الزئبق $HgCl^2$ على شكل محلول كحولي ملون محضر حسب الطريقة التالية :

كلور الزئبق 250 غ

الفوكسين القاعدي Faschinebasique 600 مغ (مادة ملونة)

الكحول الإيثيلي يكمل إلى 1000 مل.

حرك خلال مدة ساعتين في وجود خلاط مغناطيسي.

يجب أن يوضع محلول كلور الزئبق في العبوات الموجهة لأخذ العينات بشكل إجباري تستخدم العبوات بعد تبخر المحلول بحيث يشكل كلور الزئبق طبقة ملونة تلتصق إلى جدران العبوات. إن التركيز النهائي لكلور الزئبق في الحليب يجب أن يكون 0.07 % بعد أخذ العينة يجب أن ترسل العينة مباشرة إلى المخبر ويجب أن تحفظ على درجة حرارة + 4 م°.

يجب أن تصل العينات إلى المخبر خلال 24 ساعة على الأكثر ويجب أن تكون العبوات معبأة بشكل كامل. ويجب وضعها عند وصولها إلى المخبر على درجة حرارة + 4 م°.

الاختبارات الحقلية لتشخيص التهاب الضرع
Field tests for diagnosis of mastitis

مقدمة :

يمكن أن تسبب مرض التهاب الضرع بشكل أساسي أنواع أجناس العنقوديات Streptococcus، العقديات Staphylococcus وبشكل ثانوي الإشريكية القولونية E.coli ,والكلبسيلة Klebsiella، والمتقلبة proteus ، والوتديات corynebacterium ولهذا المرض تأثير سيئ على إنتاج الحليب من جهة وإمكانية استخدامه في صناعة المنتوجات اللبنية من جهة أخرى.

ويمكن اللجوء إلى العديد من الاختبارات لكشف التهاب الضرع.

1- فحص الضرع من الخارج :

يتصف الضرع السليم بنعومة ملمسه أما الضرع المصاب فيصبح أشد صلابة وأقل مرونة.

2- اختبار الحموضة :

من المعروف أن التهاب الضرع يؤدي إلى اضطراب إفراز مكونات الحليب فتزداد بعض المكونات في الحليب مثل البروتينات الذائبة وكلور الصوديوم بالمقابل تنخفض كمية الكازئين والكالسيوم وهذه تؤثر بدورها على درجة الحموضة ولذلك يلاحظ أن درجة الحموضة في الحليب الناتج عن التهاب الضرع تنخفض إلى 14 °D أوأقل وبالمقابل يرتفع رقم PH إلى 7 تقريباً.

ويمكن اللجوء إلى الطريقة اللونية باستخدام أزرق بروم تيمول الذي يؤدي إلى تشكل ألوان وفقاً لرقم الحموضة.

اختبار أزرق الميثيلين :

1- نضع في أنبوب اختبار 5 مل من الحليب المراد اختباره.

2- نضيف 1 مل من محلول أزرق البروم تيمول. (يحضر بإذابة 1 غ من أزرق بروم تيمول ضمن 250 مل من الكحول الإيثيلي 95 % ثم 1.5 مل من ماءات الصوديوم النظامية ويكمل الحجم إلى 750 مل من الماء المقطر.

3 - نمزج جيداً ونقارن اللون الناتج.

يتدرج اللون في الحليب الطبيعي من الأخضر المصفر إلى الأخضر المزرق أما الحليب الحامضي فيصبح أكثر اصفراراً وفي الحليب القلوي يصبح الحليب مخضراُ مع ميلان للزرقة.

3 - اختبار الكأس :

تؤخذ القطرات الاولى من الحليب المراد اختباره من كل ربع وتمرر على مرشح من القطن أومصفاة معدنية. وإذا احتفظت المرشحات بقطع رقيقة متخثرة أومواد متقيحة فذلك دليل على وجود التهاب الضرع.

4 - اختبار الكلور :

يعتمد اختبار الكلور على التفاعل بين كرومات البوتاسيوم ونترات الفضة حيث يتشكل اللون الأحمر الناتج عن تشكل كرومات الفضة وعند إضافة الحليب تتحد أملاح الكلور الموجودة مع كرومات الفضة مشكلة راسب كلور الفضة.

المواد والأدوات اللازمة :

نترات الفضة 1.34 غ / ليتر

كرومات البوتاسيوم 10 %

طريقة العمل :

- نضع في أنبوب الاختبار 5 مل نترات الفضة.
- نضيف إليها نقطتين من محلول كرومات البوتاسيوم فنلاحظ تشكل اللون الأحمر
- نضيف 1 مل من الحليب المراد اختباره ونلاحظ استمرار أوزوال اللون وتحوله نحوالأصفر.

إن زوال اللون يدل على أن ليتراً من الحليب يحتوي على كمية زائدة من الكلور أكثر من 1.4 غ/ ليتر أو أكثر من 2.3 غ من كلور الصوديوم.

إذا تجاوز معدل الكلور 2.3 غ في الليتر فذلك دليل على حدوث التهاب الضرع.

5 – اختبار المنفحة :

ينتج عن التهاب الضرع انخفاض الكازئين والكالسيوم وارتفاع الـ PH وهذا يؤثر بدوره على تخثر الحليب بالمنفحة، فيزداد الزمن اللازم للتخثر أولا يتخثر الحليب وبذلك يمكن مقارنة الزمن اللازم للتخثر للحليب المتخثر مع نظيره الحليب الطبيعي بإضافة حجم من المنفحة إلى حجم من الحليب على درجة حرارة ثابتة ثم تقدير الزمن اللازم للتخثر.

6 – اختبار هوتس :

ضع في أنبوب اختبار 5 مل من محلول مشعر بروم كريزول القرمزي ثم أضف إليها 9.5 مل من الحليب المراد اختباره. امزج جيداً وضع الأنبوب في الحمام المائي في درجة حرارة 37 م ° خلال 24 ساعة.

لاحظ اللون المتشكل إذا كان رقم الحموضة 6.8 يكون قرمزياً أما إذا كان 5.2 فيصبح أخضر مصفراً.

يلاحظ عند وجود العقدية الأجلكتية Str. agalactiae تشكل خثرة موضعية مع صفيحات رقيقة صفراء ناتجة عن نشاطها وعن تخمر سكر اللاكتوز الموجود في الحليب.

7 – اختبار White side

يعتمد هذا الاختبار على وجود الكريات البيضاء Leucocytes والخلايا الجسمية والتي تعمل على تشكل خثرات في الحليب عندما يضاف إليه ماءات الصوديوم.

طريقة العمل :

1– نضع 5 نقاط من الحليب المراد اختباره ضمن بوتقه.

2– نضيف إليها نقطة من ماءات الصوديوم النظامية.

3– نحرك لمدة 30 ثانية.

ثم نلاحظ تشكل حبيبات أو سائل لزج، وذلك بتتطابق درجة اللزوجة مع درجة وجود الخلايا الجسمية، وإذا لم يتشكل خثرات يكون الحليب طبيعياً.

8 – اختبار كاليفورنيا CMT (Calfornia Mastitis test)

يعتمد اختبار CMT على كشف DNA الموجود في خلايا كريات الدم البيضاء و الخلايا الجسمية وذلك بتشكيل كتلة لزجة أو هلامية.

طريقة العمل :

1- يوضع 2 مل من الحليب ضمن كأس.

2- يضاف 2 مل من محلول CMT (مركب كيميائي يحتوي على جذر ألكيل أريل سلفونات).

3- يمزج الخليط ويترك لعدة ثوان. تحتوي المادة على مشعر للحموضة PH (التأين الهيدروجيني) وهو بروموكريزول الأرجواني ويلاحظ تشكل الهلام.

تفاعل – يبقى الخليط متجانساً أقل من 300.000 خلية جسمية

تفاعل + قطع صغيرة متخثرة ملتصقة بالجدران أقل من 500.000 خلية جسمية

تفاعل ++ قطع متخثرة لزجة أقل من مليون خلية جسمية.

تفاعل +++ هـلام والعدد كبير جداً.

9- كريات الدم البيضاء عديدة النوى: Polynucliaires Leucocytes

تعتمد هذه الطريقة على تحضير فيلم مجهري من الحليب الناتج عن التهاب الضرع وتثبيت الغشاء بإحدى الصبغات كالفوكسين أوأزرق المثيلين، ثم إجراء عد لكريات الدم البيضاء عديدة النوى باستخدام العدسة الغاطسة للمجهر.

الأدوات والمواد اللازمة :

1- كحول إيثيلي نقي.

2- كحول إيثيلي 60 %.

3- صبغة أزرق الميثيلين.

4 – زايلول Xylol.

5 – شريحة زجاجية لها مربعات معروفة المساحة (عداد نيوباور).

6 – ماصة شعرية 0.01 مل.

طريقة العمل :

1- ضع 0.01 مل من الحليب على الشريحة ووزعها بشكل منتظم.

2- جفف الشريحة بتركها في الحاضنة عدة دقائق على درجة حرارة 37 م°.

3- ثبت المحضر بغمر الشريحة في الكحول لمدة 3 – 5 دقائق ثم أعد الشريحة للحاضنة مرة أخرى واتركها 5 دقائق.

4- اغمر الشريحة في الزايلول خمس دقائق واغسلها بالكحول 60 % وجفف جيداً.
5- اصبغ المحضر بأزرق المثيلين 5 دقائق.
6- اغسل الصبغة بالكحول 60 % ثم بالماء وجفف وافحص بالعدسة الغاطسة.
7- عد الكريات وخذ العدد المتوسط الموجود في الحقل ثم في 1 مل / من الحليب.
يحتوي الحليب الطبيعي على أقل من 100.000 خلية جسمية في 1 مل من الحليب، أما في الحالات المرضية فيزيد هذا العدد عن 500.000.

الفحص الفيزيائي للحليب
Physical test of milk

الصفات الفيزيائية للحليب مهمة لاختيار الحليب الجيد في مصانع الأجبان والألبان وتعطي فكرة لا بأس بها عن جودة الحليب وهي :

1- اللون : Color

الحليب سائل معتم وكامد، ويبدو أبيض، هذا المظهر المميز يعود بشكل أساسي إلى بعثرة جسيمات فوسفوكازيئينات الكالسيوم للأشعة وإلى تشتيت حبيبات المادة الدسمة للأشعة لكنها تتدخل قليلاً في المظهر الكامد الأبيض لأن أحجامها أكبر من طول الموجة المتوسطة للأشعة الشمسية.

يخدم الحليب في الغالب من وجهة نظر المقارنة مع الألوان الأخرى، فيقال مظهر لبني، أوسائل حليبي، يحتوي الحليب على اثنين من الصبغات.

- الكاروتين : مادة ملونة صفراء توجد تحت أشكال عديدة، إن الحليب الغني بالمادة الدسمة يكون أصفر عندما يتغذى الحيوان بأعلاف خضراء غنية بالكاروتين وخاصة في فصل الربيع ولذلك تكون الزبدة المصنعة من هذا الحليب صفراء بوضوح، وغياب هذه المادة في حليب الفرز يعمل على اظهار اللون الأبيض المائل للزرقة.
- الريبوفلافين : مادة لها لون أصفر مخضر ولا توجد إلا في المصل.

إن المظهر الخاص للحليب يعود إلى الكازئين الموجود على شكل جسيمات، وعندما تنخفض نسبة الكازيئين يلاحظ أن السائل يأخذ مظهراً مائلاً للون الرمادي، وهذا هو حال حليب السرسوب أو الحليب الناتج عن التهاب الضرع.

يمكن أن نلاحظ بعض الألوان في الحليب خاصة الوردي الناتج عن وجود الدم والمكونات المتنوعة الناتجة عن التلوث الجرثومي مثل اللون الأزرق الناتج عن الزوائف Pseudomonase والأصفر الناتج عن P. syaxantha والأحمر الناتج عن السيراتية الذابلة Serratia margesens.

وبشكل عام فإن لون الحليب أبيض بسبب المواد المتعلقة به (البروتينات الغروية وحبيبات الدهن) وحليب الأبقار مائل للصفرة بسبب وجود مادة الكاروتين الذائب في الدهن وأبيض عند الجاموس والغنم ومائل للزرقة عند الماعز

2- الرائحة Odor :

يتميز الحليب برائحة مقبولة. وله قابلية كبيرة لامتصاص الروائح من الوسط الداخلي أي تأثير التغذية على ظهور بعض الروائح مثل البصل والثوم. والوسط الخارجي وبشكل خاص الوسط الذي تتم فيه الحلابة. وعندما يتحمض الحليب تظهر عليه الرائحة الحامضية ويعود امتصاص الرائحة من الوسط الخارجي لوجود المادة الدسمة ولا سيما الأحماض الدهنية غير المشبعة.

3- الطعم Taste:

من المعروف أن طعم الحليب مقبول ومستساغ وقليل الحلاوة لأنخفاض القدرة المحلية لسكر اللاكتوز ويعطي الحليب المتحمض الطعم الحامضي ويتميز حليب السرسوب بارتفاع نسبة الملوحة فيه.

وقد يظهر الطعم المطبوخ عند معاملة الحليب بالمعاملة الحرارية المرتفعة. وقد تسبب بعض الأحياء المجهرية تغيرات في الطعم مثل خميرة Torula amara التي تجعل الحليب ذا طعم مر ويمكن لبعض الجراثيم أن تنشر طعم الجوز أو اللفت أو الصابون.

وبعض أنواع العقديات المنتجة لحمض اللاكتيك تكون مسؤولة عن طعم الكراميل.

4- اللزوجة :

هي قدرة السائل على مقاومة الاختلاط عند مزجه بسائل آخر وهي مقياس للاحتكاك بين جزيئات السائل عند انسيابه ولأن الحليب يحتوي على مواد صلبة ذائبة وغير ذائبة تكون لزوجته أكبر من لزوجة الماء.

من المعروف أن لزوجة الحليب الطبيعي ضعيفة 1.1-2.2 ولكن يلاحظ تغيرات في اللزوجة تعود إلى نشاط بعض الجراثيم وتشير بشكل خاص إلى وجود الكليبسيلا Klebsiella والعصيات Bacillus والمقلّية Alcaligenes والمكيّرة Micrococcus ويمكن لبعض الجراثيم أن تنتج مواد لزجة ذات طبيعة سكرية، تزداد

في الحليب عند ارتفاع حموضته ويلاحظ تشكل بعض القطع المتخثرة الناتجة عن حدوث التهاب الضرع.

5- كثافة الحليب Milk Density

إن كثافة الحليب إلى حد ما ليست قيمة ثابتة ، وذلك لتأثرها بعاملين متضادين هما :

- تركيز العناصر الذائبة – الصلبة اللادهنية والموجودة بشكل معلق بحيث تتأثر الكثافة طردياً مع تركيزها. – محتوى الحليب من المادة الدسمة.
- وللمادة الدسمة كثافة أقل من الواحد.

تختلف الكثافة بشكل معكوس مع محتوى الحليب من المادة الدسمة وبالنتيجة إن حليب الفرز أكثر كثافة من الحليب كامل الدسم.

إن كثافة الحليب كامل الدسم تتراوح بين 1.028 إلى 1.032 أما كثافة حليب الفرز فهي 1.036 -1.039.

إن إضافة الماء إلى الحليب كامل الدسم تنقص الكثافة ويمكن أن يتم سحب جزء من المادة الدسمة وإضافة الماء والحصول على نفس الكثافة الطبيعية لذلك لا يمكن للكثافة وحدها أن تلغي غش الحليب

6- التوتر السطحي :

هي القوة التي تعمل على سطح السائل وتؤدي إلى جعل سطحه الخارجي محدباً وبسبب احتواء الحليب على مواد تقلل من التوتر السطحي كالليسيثين والدهن والبروتين فإن توتره السطحي أقل من التوتر السطحي للماء.

7- الثوابت الفيزيائية للحليب :

- نقطة التجمد : يتجمد الحليب في درجة حرارة أقل من الصفر وذلك لأن المواد الذائبة تخفض من نقطة التجمد للمذيب النقي.

  إن نقطة تجمد حليب الأبقار هي -0.555 درجة مئوية وهذه القيمة مساوية لقيمة نقطة تجمد مصل الدم وتعتبر نقطة التجمد من أكثر الخصائص الثابتة ويتم قياسها لكشف الغش. علماً أن إضافة الماء تؤدي إلى رفع نقطة التجمد باتجاه الصفر.

- نقطة الغليان : يغلي الحليب على درجة حرارة أعلى من 100 درجة مئوية (100.15 – 100.17 درجة مئوية) ولكن يحدث تحولاً في التوازن الملحي.
- الناقلية الكهربائية : من المعروف أن الماء يبرز مقاومة عند مرور التيار الكهربائي وأن ناقليته ضعيفة.

إن وجود المنحلات الكهربائية المعروفة (كلور، فوسفات، سترات) بشكل أساسي والشوارد الغروية بشكل ثانوي في الحليب يؤدي إلى انخفاض مقاومة مرور التيار.

تختلف الناقلية الكهربائية مع درجة الحرارة ولذلك يتم قياسها غالباً على درجة 25 درجة مئوية.

إن إضافة الماء تؤدي إلى انخفاض الناقلية. أما تحمض الحليب فيرفعها وكذلك إن الحليب الناتج عن التهاب الضرع يظهر ناقلية كهربائية أعلى نظراً لارتفاع محتوى الحليب من أملاح الكلور.

توجد علاقة إيجابية بين عدد الخلايا الجسمية الموجودة في الحليب والناقلية وذلك فقط عندما يتجاوز عدد الخلايا الجسمية 500000 /ملل.

إن إضافة المواد الحافظة والقلوية والمواد المعقمة ترفع أيضاً الناقلية الكهربائية.

تقاس الناقلية الكهربائية بجهاز خاص يعين الناقلية الكهربائية بعد معايرته بمحلول معياري.

الفحص الكيميائي للحليب
Chemical test of milk

- المكونات الرئيسة للحليب :

يمكن تعريف الحليب كيميائياً بأنه مستحلب الدهن في محلول غروي للسكر وبعض الأملاح المعدنية تنتشر فيه البروتينات على حالة غروية.

1- **دهن الحليب** : يتكون من خليط معقد من الجليسيريدات الثلاثية المشبعة وغير المشبعة بالإضافة إلى مواد مصاحبة للدهون تصل نسبتها إلى 0.8% من كمية الدهن.

أ- **الجلسيريدات الثلاثية** : تشكل أكثر من 99% من دهن الحليب وتتكون من اتحاد جزيء من الغليسيرين مع ثلاثة أجزاء من حامض واحد أوأحماض مختلفة أحادية الكاربوكسيل يطلق عليها اسم الأحماض الدهنية.

ب- المواد المصاحبة للدهن : لا تزيد نسبتها عن 1% من وزن الدهن، أهمها اللليسيتين والسيفالين اللذان يحتويان في تركيبهما على القواعد الآزوتية إضافة إلى الغليسيرين والأحماض الدهنية، كما تشمل الستيرولات وهي كحولات صلبة يتحول بعضها بتأثير الأشعة فوق البنفسجية إلى فيتامين D، ومن المواد المصاحبة للدهون أيضاً الفيتامينات E, A, D, K، وبعض الصبغات مثل الكاروتين والزانتوفيل.

2- **بروتينات الحليب** : تكون البروتينات مجموعة كبيرة من المركبات العضوية التي تحتوي على الآزوت، تتصف جزيئاتها بأنها كبيرة الحجم نسبياً تنتج من ارتباط الأحماض الأمينية مع بعضها بروابط ببتيدية مكونة سلاسل طويلة.

تقسم الأحماض الأمينية إلى ثلاثة أقسام بحسب احتوائها على مجموعة الكاربوكسيل ومجموعة الأمين :

أ- أحماض أمينية متعادلة : تحتوي على مجموعة كاربوكسيل ومجموعة أمين واحدة.

ب- أحماض أمينية قاعدية : تحتوي على مجموعتي أمين ومجموعة كاربوكسيل واحدة.

ج- أحماض أمينية حامضية تحتوي على مجموعتي كاربوكسيل ومجموعة أمين واحدة.

أهم بروتينات الحليب :

1- الكازئين : وهوالبروتين الرئيس في الحليب لأنه يشكل 78-85% من بروتينات الحليب يترسب هذا البروتين بالمنفحة والحموضة.

2- بروتينات الشرش : تنفصل هذه البروتينات مع مصل الحليب وأهمها الغلوبولينات المناعية وألبومين مصل دم الأبقار وبيتا لاكتوغلوبيولين.

3- سكر الحليب : في الحليب سكر ثنائي هوسكر اللاكتوز C12H22O11 الذي يتكون من اتحاد جزيء من سكر الجلوكوز مع جزيء من سكر الجالاكتوز، يتخمر بسرعة بفعل العديد من الأحياء الدقيقة وينتج عن ذلك حمض اللبن.

4- أملاح الحليب : يحتوي الحليب على أملاح معدنية متأينة يطلق عليها اسم العناصر المعدنية لها أهمية غذائية كبيرة بالنسبة للإنسان خاصة في سن ما قبل البلوغ والشيخوخة وتقسم الشوارد المعدنية التي توجد في الحليب حسب تركيزها إلى مجموعتين :

1- شوارد توجد بتراكيز عالية نسبياً وهي التي يزيد تركيزها على 10 ملغ / ليتر، وتشمل شوارد موجبة هي الكالسيوم والصوديوم والبوتاسيوم والمغنزيوم وشوارد سالبة تضم الكلور والفوسفات والكبريتات والبيكربونات والسترات

2- شوارد توجد بتركيز منخفض أو على شكل ثمالات وتشمل جميع الشوارد التي يقل تركيزها عن 10 ملغ / ليتر ولا يتجاوز تركيزها عادة 1 ملغ / ليتر وهي المنغنيز والنحاس والمولبيدينيوم والسيليكون والباريوم

5- أنزيمات الحليب : هي مجموعة من المركبات العضوية ذات الطبيعة البروتينية تتواجد بكميات ضئيلة في الحليب وهي مركبات معقدة تعمل كعوامل مساعدة حيوية في التفاعلات التي تحدث ضمن الخلايا الحية. والأنزيمات المتواجدة في الحليب إما أن تنتج من الخلايا المفرزة للحليب في الضرع أوتكون ناتجة عن إفراز الأحياء الدقيقة المتواجدة في الحليب أومن المصدرين معاً. وأهم أنزيمات الحليب هي :

أ- أنزيم الليبيز Lipase : ويقوم بتحليل الدهون إلى غليسيرين وأحماض دهنية.

ب- الأنزيمات المحللة للبروتين Protease : تقوم بتحليل السلاسل الببتيدية في البروتينات.

ج- اللاكتيز Lactase : يقوم بتحليل سكر اللاكتوز إلى غلوكوز وغالاكتوز.

د- البيروكسيداز Peroxidase : يقوم بفصل الاوكسيجين على حالة ذرية من بعض المركبات ونقلها إلى مركبات أخرى ويمكن الاستفادة منه للبرهان على حدوث تسخين للحليب حتى الدرجة 85 مئوية لمدة 10 ثوان.

و- أنزيمات الفوسفاتيز القلوية Alkaline phosphatase : يحلل الروابط الإستيرية بين حمض الفوسفوريك والكحولات المرتبطة به ويستفاد منه في التأكد من إتمام بسترة الحليب على الدرجة 71-74 مئوية لمدة 40-45 ثانية.

6- فيتامينات الحليب : الفيتامينات مركبات عضوية يحتاجها الجسم بكميات بسيطة، لذلك يجب تواجدها باستمرار في غذاء الكائن الحي ليتمكن من النموبشكل طبيعي ويحوي الحليب على الفيتامينات التالية :

1- الفيتامينات الذوابة في الماء : حمض الأسكوربيك Vit. C والتيامين Vit. B1 والريبوفلافين Vit. B12 والبيريدوكسين Vit. B6 والكوبال أمين Vit. B12

2- الفيتامينات الذوابة في الدهون وتشمل Vit. A. E. D3. K.

مواد الحليب الأخرى : يحوي الحليب على آثار زهيدة من مواد أخرى كالعناصر المشعة وآثار من بعض المبيدات الحشرية والعشبية، آثار الأدوية البيطرية والمستخدمة في المعالجة، وهذه المواد سامة أوضارة بالصحة أوبتصنيع الحليب.

الفحص الجرثومي للحليب
Bacterial test of milk

مقدمة :

حليب الحيوانات السليمة يبقى معقماً خلال إفرازه من خلايا الضرع وتجمعه في الحويصلات اللبنية. ولكن يبدأ تلوثه بالأحياء الدقيقة أثناء مسيره في الأقنية اللبنية، وعند وصوله إلى مجمع الضرع ومجمع الحلمة. لذلك يحتوي الحليب لحظة خروجه من الحلمة على عدد من الأحياء الدقيقة مهما بذل في إنتاجه من عناية، لأن أنواعاً من الجراثيم التابعة لأجناس المكيرات (Micrococcus) والعقديات (Streptococcus) والوتديات (Corynebacterium)، تستوطن ضرع الحيوانات السليمة وتفرز باستمرار مع الحليب. وتزداد الجراثيم الموجودة في الحليب لحظة خروجه من الضرع عدداً وتنوعاً إذا كان ضرع الحيوان مصاباً بالالتهاب. يصل إلى الحليب أعداد متنوعة من الأحياء الدقيقة أثناء الحلابة وبعدها، ومن الجوالمحيط والأدوات والأشخاص وغيرها، ويتوقف ذلك على مدى العناية المبذولة، ونظافة الإنتاج والنقل والتداول. ولأن الحليب بيئة مثالية لتكاثر الأحياء الدقيقة، فإن الكثير من أنواعها يبدأ بالتكاثر فور وصوله إلى الحليب، إذا توفرت له الحرارة المناسبة. لهذا فإن لدرجة الحرارة التي يحفظ عليها الحليب بعد الحلابة، أثر كبير على عدد الأحياء الدقيقة الموجودة فيه، وعلى نسبة أعدادها.

تعتبر الجراثيم أكثر الأحياء الدقيقة تلويثاً للحليب، كما أنها أخطرها صحة على الإنسان وتصنيع الحليب. ويتلوث الحليب أيضاً بأنواع من الفطور Molds والخمائر Yaests والريكتسيا Rickettsia والمفطورات Mycoplastma

-ترجع أهمية الأحياء الدقيقة في الحليب ومنتجاته بالنسبة للإنسان إلى مايلي :

1- تنتقل كثير من الأحياء الدقيقة الممرضة للإنسان عن طريق الحليب ومنتجاته، ومعرفة هذه الأحياء ومصادر تلوث الحليب بها، ووسائل القضاء عليها في طرق منع وصولها إلى هذه المواد الغذائية ضروري لضمان صحة المستهلك.

2- إذا أتيحت الفرصة، فإن كثيراً من الأحياء الدقيقة غير الممرضة ينشط في الحليب، ويرفع حموضته أويغير طعمه ونكهته، مما يؤدي إلى خفض جودته وصلاحيته للتصنيع، وقد يؤدي إلى إفساده كاملاً.

3- لايمكن تصنيع كثير من المنتجات اللبنية إلا باستخدام أنواع معينة من الأحياء الدقيقة. لذلك فإن معرفة هذه الأحياء وخصائصها والظروف المناسبة لنموها وتكاثرها وقيامها بعملها لإحداث التغيرات المطلوبة، ذات أهمية كبرى لضمان نجاح عملية التصنيع.

4- نوع وعمل الأحياء الدقيقة الموجودة في الحليب، مرآة للعناية المبذولة في إنتاجه، ونظافة التداول، ولدرجات حرارة حفظ الحليب بعد الحلابة وبالتالي لمستوى الوعي الصحي بين منتجي الحليب ومتداوليه.

ويجب أن نشير إلى أن موضوع علم الأحياء المجهرية المتعلق بالحليب من المواضيع الواسعة الشاملة، التي تضم نواحي مختلفة.

2-جراثيم الحليب :

الجراثيم أكثر أنواع الأحياء الدقيقة تلويثاً للحليب وتواجداً فيه، وأشدها ضرراً له. هذا ويتواجد منها في الحليب دائماً أنواع تستطيع النموفيه ومهاجمة مكوناته، في أية درجة حرارة ما بين الصفر و45 درجة مئوية.

وتضم جراثيم الحليب المهمة اقتصادياً، أنواعاً وأجناساً عديدة تختلف شكلاً وحجماً وفي طريقة انتظامها. كما تختلف في احتياجاتها الحرارية في حاجتها للاوكسجين، وفي نوعية المركبات التي تهاجمها في الحليب، أو التي تنتجها أثناء نشاطها وفي طريقة تفاعلها مع صبغة غرام. لذلك يمكن تقسيم الجراثيم أن يتم وفق عدد كبير من الأسس، إلا أننا سنتبع الأسس التي اعتمدها برجي Bergey عام 1986 وهي الصفات الشكليائية Morphology والاحتياجات من الاوكسجين وتفاعلها مع صبغة غرام Gram Reaction.

إن أكثر أنواع الجراثيم المتواجدة في الحليب أهمية تصنف حسب المجموعات التالية:

اولاً :الجراثيم سالبة الغرام اللاهوائية المخيرة: تخمر جراثيم هذه المجموعة السكريات وتعطي أحماضاً وغازات، ومعظمها يسكن القناة الهضمية للإنسان والحيوان، لذلك وجودها في الأغذية دليل مؤكد على تلوثها بمياه المجاري، و هذا يدل على أنها ملوثة حتماً بالأحياء المجهرية الممرضة. وأهم أجناس هذه المجموعة :

أ- جنس الاشريكية (Escherichia) : أهم أنواعه جرثوم الإشريكية القولونية E. coli، وهي جراثيم متحركة والقليل منها غير متحركة. تقوم بتخمير اللاكتوز والجلوكوز، وتكون أحماضاً وغازات. بعض سلالات هذا الجرثوم تعيش في القناة الهضمية للإنسان والحيوان، وتسمى القولونيات البرازية Fecal Coliforms، وتتصف بقدرتها على تخمير اللاكتوز وإنتاج غازات خلال 24 ساعة في درجة 44 درجة مئوية، ووجودها في الأغذية قد يكون دليلاً على وجود جراثيم ممرضة فيها. بعض سلالات الـ E. coli ممرضة، وتسبب التهاب القولون الدموي للإنسان، ويحتوي الحليب الخام غالباً على سلالات من هذا الجرثوم.

ب- جنس الجراثيم المعوية (Enteropacter) : كان يسمى سابقاً (Aerobacter)، أهم أنواعه بالنسبة للحليب ومنتجاته الجراثيم المعوية الغازية. E.aerogenes الذي يتواجد دائماً بصحبة الإشريكية القولونية E. coli.

ت- جنس الكلبسيلة (Klebsiella) : تسبب بعض أنواعه التهاب الضرع، ويصل إلى الحليب من مواد الفرشة، أهم أنواعه جرثوم الكلبسيلا الرئوية K. pneumonia.

ث- الأجناس الثلاثة السابقة يطلق عليها اسم مجموعة القولون Colon Group، لأنها تتواجد مع بعضها في القناة الهضمية للحيوانات الراقية.

ج- جنس السلمونيلة (Salmonella) : أهم أنواعه جرثوم السلمونيلة التيفية S. typhi الذي يسبب الحمى التيفية للإنسان، ويشكل الحليب ومنتجاته أحد مصادر العدوى به.

ح- جنس اليرسينية (Yersinia) : عرف سابقاً بالبستوريلة (Pasturella)، وبعض أنواعه ممرضة للإنسان.

خ- جنس الهافينية (Hafnia) : وأنواعه تسبب أمراضاً للإنسان مثل جرثوم الهافينية النخروبية (Hafnia alvei).

د- جنس الشيغيلة (Shigella): بعض أنواعه يسبب إسهالات شديدة للإنسان مثل جرثوم الشيغلة الشيغائية Shigella shiga اوالزحارية من النمط الاول.

ثانيا : مجموعة الجراثيم موجبة الغرام: تضم هذه المجموعة أنواعاً هوائية أو لاهوائية مخيرة، ذات أهمية بالغة في صناعات الألبان، لأنها تستخدم كبادئات لصناعة كثير من المنتجات اللبنية، إلا أنها تضم أيضاً أنواعاً تسبب التهاب الضرع وممرضة للإنسان، أهم أجناسها :

أ. جنس المكيرات (Micrococcus): وهو واسع الانتشار وبعض أنواعه يفسد الحليب في ظروف التبريد.

ب . جنس العنقوديات (Staphylococcus): خلاياه تتجمع بشكل غير منتظم، يشبه في الشكل جنس المكيرات (Micrococcus)، أهم أنواعه جرثوم العنقودية الذهبية S.aureus الذي يحلل الدم على منبت الآجار المدمم ويسبب اضطرابات شديدة في الجهاز الهضمي، وجرثوم العنقودية البشروية (S.epidermidis) لكنه يسبب اضطرابات أقل حدة.

ت . جنس العقديّات (Streptococcus): وهو كثير التواجد في الحليب وأهم أنواعه العقدية المقيحة (S.pyogenes)، الذي يسبب الحمى القرمزية Scarlet fever للإنسان، وجرثوم العقدية اللعابية (S.salvarius) (كانت تدعى سابقاً العقدية أليفة الحرارة S.thermophilus)، يستخدم هذا الجرثوم كبادئ في صناعة اللبن وتسوية بعض الأجبان، وجرثوم العقدية الأجلكتية (S.agalactiae) الذي يسبب التهاب الضرع.

ث . جنس المكورة اللبنية (Lactococcus): وأهم أنواعه جرثوم L.lactis (سابقاً S.lactis)، ويستخدم كبادئ لصناعة وإنضاج بعض الأجبان، وجرثوم L.lactis subsp.diacetyiactis ذوالأهمية في صناعة الزبدة لأنه ينتج مادة الداي أسيتيل، ذات النكهة المرغوبة.

ج . جنس النستق Leuconostoc: وبعض أنواعه تسبب لزوجة الحليب وبعضها الآخر تستخدم كبادئات لأنتاج الألبان المتخمرة والزبدة.

ثالثاً :الجراثيم العصوية المكورة المكونة للأبواغ: يتبع هذه المجموعة أنواع تكون أبواغاً Spores مقاومة جداً للحرارة، فهي لاتموت بالبسترة حتى في طريقة الحرارة فوق العالية UHT (Ultra Heat Temperature) قد يتبقى البعض منها حياً، تعود للنشاط عندما تتوفر لها الظروف المناسبة وتفسد الحليب المعقم بهذه الطريقة، أهم أجناسها:

أ- جنس العصويات Bacillus: هوائي مجبر، تعيش أنواعه على درجات ما بين 5. درجة مئوية إلى45 درجة مئوية أو أكثر وتكون أبواغا شديدة المقاومة للحرارة. أهم أنواعه جرثوم العصوية الشمعية (B.cereus) الذي يسبب تسممات وإسهالات للإنسان، ويحلل البروتين فيسبب كثيراً من العيوب لمنتجات الألبان، جرثوم العصوية الشحمية أليفة الحرارة (B.stearothermophilus)، الذي يحلل البروتين، ويشكل عيوباً في قوام وطعم الأجبان، وينمو في درجات ما بين 55- 75 ° م وجرثوم العصوية الحزازية (B. Lichenoformis) الذي تقاوم أبواغه الحرارة بشدة، مما يفسد الحليب المعقم بالحرارة فوق العالية Ultra heat temperature (UHT) والحليب المكثف.

ب-جنس المطثية (Clostridium) : لا هوائي مجبر، يعيش في التربة والروث والقناة الهضمية للإنسان والحيوان. أهم أنواعه جرثوم المطثية الوشيقية (Cl.botulinum)، الذي يقاوم الحرارة ويسبب التسمم الوشيقي النقانقي للإنسان، وجرثوم المطثية الحاطمة (Cl. Perifrings) الذي يسبب تسممات شديدة للإنسان.

رابعاً : الجراثيم العصوية غير المكونة للأبواغ موجبة الغرام وأهم أجناسها:

أ-جنس الليستيرية (Listeria): وأهم أنواعه الليستيرية المستوحدة L.monocytogenes، الذي يسبب التهاب الضرع ويمرض الإنسان، ويلوث الحليب عن طريق مياه المجاري.

ب-جنس الملبنات (Lactobacillus): وهومن أكثر أجناس الجراثيم أهمية في صناعة الألبان، أهم أنواعه جرثوم L.delbrueckii subsp lactis و L.d.subsp bulgaricus و L.helveticus، وهي جراثيم تحب الحرارة وتستخدم كبادئات لصناعة اللبن، وإنضاج بعض الأجبان الإيطالية والسويسرية.

خامساً:الجراثيم سالبة الغرام الهوائية المجبرة المكورة والعصوية:

أهم الأجناس التابعة لهذه المجموعة:

أ- جنس المقلية (Alcaligenes) :كثير من أنواعه محبة للحرارة المنخفضة وأهمها جرثوم المقلية اللزجة اللبنية (A.viscolactis) الذي يسبب لزوجة الحليب، وهومن النوع العصوي.

ب-جنس الـ (Alteromonas) :أهم أنواعه جرثوم التفسخ (A.putrifaciens) عصوي الشكل يفسد الحليب وكثير من منتجاته، ويكون بقع ملونة على سطح الزبدة.

ت-الجنس الصيفرية (Flavobacterium) :عصوي الشكل،أنواعه تحب الحرارة المنخفضة وتكون صبغات لونها ما بين البرتقالي والأصفر وتحلل الكازئين فتفسد الحليب ومنتجاته في ظروف التبريد.

ث- جنس البروسيلا (Brucella): عصوي الشكل، خلايا أنواعه تنتج أنزيمي الكاتاليز والبيروكسيديز وأهم أنواعه جرثوم البروسيلة المجهضة (B.abortus)، يسبب الإجهاض المعدي للأبقار والحمى المالطية للإنسان، وجرثوم البروسيلة الخنزيرية (B.suis) الذي يصيب الخنازير وجرثوم البروسيلة المالطية (B.melitensis) الذي يسبب الإجهاض المعدي عند الماعز إلا أن الأنواع الثلاثة تقتل بالبسترة الصحيحة.

ج- جنس الزائفة (pseudomonas) :عصوي، أنواعه تنتج أنزيمات محللة للبروتينات proteases وأخرى محللة للدهون، مما يسبب مختلف العيوب للحليب ومنتجاته، أهمها : جرثوم الزائفة المتألقة (p.flourescens) وجرثوم (p.fragi) اللذان يفسدان الحليب ومنتجاته تحت ظروف التبريد.

ح- جنس المستصفرة (Xanthomonas) :عصوي، تنتج أنواعه صبغات صفراء.

خ- جنس الراكدة (Acinetobacter): عصوي، تسبب أنواعه زيادة لزوجة الحليب

سادساً: الجراثيم موجبة الغرام غير المكونة للأبواغ :أهم الأجناس التي تتبع هذه المجموعة:

أ- جنس البربيونية (propionibacterium): لا هوائي، ينتج عن تخمير اللاكتوز حمض البروبيونيك وحمض الخليك وCo_2 والبرولين proline، وهوالمسؤول عن الثقوب الملساء والطعم والنكهة الخاصة بجبن الامنتال السويسرية Emental Swiss cheese.

ب-جنس (Brevibacterium) وأهم أنواعه (B. linens) الذي يستخدم في إنضاج جبن Limbarger

ت-جنس (Aureobacter) وأهم أنواعه (A. liquifaciens) الذي يكون صبغة صفراء فاتحة ويساهم في إنضاج بعض أنواع الجبن.

ث-جنس الفصلاء (Arthrobacter) تتشابه أنواعه مع جنس الوتدية (Corynebacterium)

ج- جنس الوتدية (Corynbacterium) بعض من أنواعه ممرض للإنسان، وأهمها جرثوم الوتدية البقرية (C. bovis) الذي يسبب التهاب الضرع

وجرثوم الوتدية الكلوية (C. renal) الذي يسبب التهاب المجاري البولية التناسلية عند الأبقار.

ح- جنس الشعيات (Actinomycetes) : وأهم أنواعه جرثوم الشعيات المقيحة (A. pyogenes) الذي يسبب التهاب الضرع.

خ- جنس المتفطرات (Mycobacterium) : وأهم أنواعه المتفطرة السلية (M. tubercolosis) الذي يسبب داء السل عند الإنسان والمتفطرة البقرية (M. bovis) الذي يسبب داء السل البقري والسل عند بعض الحيوانات الأخرى وكذلك الإنسان.

سابعاً : الجراثيم الحلزونية سالبة الغرام، المتحركة الهوائية، أوالتي تحتاج لتركيز ضئيل من الـ O2 : أهم جرثوم هذه المجموعة هو جرثوم العطيفة الصائمية (Campylobacter) jejuni الذي يبقى حياً في الحليب الخام أو غير المبستر جيداً، ويسبب له مشاكل مرضية.

ثامناً : الجراثيم الحلزونية : أهم أجناسها جنس البريمية (Leptospira) ذو المظهر العصوي الطويل الدقيق المرن، وأهم أنواعه البيمية الاستفهامية (L.interrogans) الذي يصيب الكليتين ويطرح مع البول ليصل إلى الحليب عن طريق الأيدي ومياه الغسيل الملوثة وغيرها.

3-**الفطور Molds** : تسبب كثيراً من المشاكل للحليب ومنتجاته وتفسدها إلا أن بعضها يستخدم في تسوية بعض الأجبان، وإنتاج بعض الأنزيمات والمضادات الحيوية. وأهم الأنواع ذات الأهمية ومنتجاته هي :

أ- جنس الرشاشية (Aspergillus) وينتج الأفلاتوكسينات ومن أنواعه الرشاشية السوداء (Aspergillus niger) والرشاشية الزاحفة (Aspergillus repens) ويسببان ما يسمى بالأزرار على الحليب المكثف المحلى.

ب-جنس المكنسية (Penicillium) ومن أنواعه (Penicillium camemberti) التي تساهم في إنتاج جبن الكاممبرت، وكذلك (Penicillium roqueforti) تساهم في إنضاج جبن االروكفورت والجورجونزولا

Gorgonzola، وكذلك (Penicillium casei) تساهم في إنضاج بعض الأجبان السويسرية.

ت- العفنة Mucor mucedo تسبب تبقع الزبدة بالألوان الغامقة والرائحة الزنخة.

ث- المبيضة Geotricum candidum تسبب فطر الحليب الأبيض وينموعلى سطح القشدة. ويلاحظ أن كل أنواع الفطريات تقريباً يقضى عليها بالبسترة.

4-**الخمائر Yeasts**: وأهم أنواعها :

أ- الفطرية السكرية الجعوية (Saccharomyces cervisiae) وقد عزلت من بعض الأجبان والألبان المتخمرة.

ب- المبيضة الحالة للدهون (Candida lipolytica) تحلل الدهون وتسبب تزنخها إلا أنها تشترك في إنضاج جبن الروكفورد. هذا ويقضى على جميع أنواع الخمائر بالبسترة الصحيحة.

5-**الأحياء الدقيقة الأخرى:**

1- الحمات Viruses : وأهمها عاثيات الجراثيم المعروفة بـ Bacteriophage التي تتطفل على البادئات، والحمة المسببة لجدري الأبقار Cow pox وحمة التهاب سنجابية النخاع المسببة للشلل عند الأطفال (Poliomyelitis virus)، يقضى عليها بالبسترة الصحيحة عادة.

2-الريكتسية (Rickettsia) :وأهمها R.burnetii الذي يتطفل إجباريا. ينتقل إلى الماشية عن طريق القراد ومن ثم إلى الإنسان عن طريق الحليب مسبباً حمى Q.

3- المفطورة Mycoplasma : تشبه الجراثيم إلا أنها لا تحاط بجدار خلوي وإنما تحاط بغشاء، وهي تسبب التهاب الضرع عند الأبقار.

6-مضادات الأحياء المجهرية التي توجد في الحليب :

يحتوي الحليب على مركبات مضادة للأحياء المجهرية، سميت عام 1930 اللاكتينات، ثم اتضح بعد ذلك أن الحليب يحتوي على:

أ- اللاكتوبيروكسيداز Lactoperoxidase الذي ينشط التفاعلات التي تؤدي إلى ربط مجموعات SH لبعض الأنزيمات المهمة، مما يؤدي إلى تخريب آلية الامتصاص في الخلية.

ب- اللاكتوفرين Lactoferrin : الذي يربط الحديد ويمنع الجراثيم المحتاجة إليه من استخدامه.

ت- الليزوزيم Lysozyme : الذي يقتل بعض الجراثيم الإيجابية الغرام عبر تحليل جدارها الخلوي.

ث- كزانتين أوكسيداز Xanthine Oxidase : الذي يشجع تكوين الماء الاوكسجيني H2O2 المضاد للجراثيم.

غش الحليب
Milk deception

إضافة الماء :

يشكل إضافة الماء للحليب نوع من الغش ولذلك تنخفض قيمته الغذائية، ويزيد تلوثه خاصة إذا كان الماء المضاف للحليب ملوثاً، إن إضافة الماء إلى الحليب وسيلة غش تحاسب عليها القوانين المرعية.

إثبات إضافة الماء يتم بمقارنة قيم العناصر المتنوعة في الحليب المختبر كالكثافة النوعية ونسبة الدسم والمادة الصلبة اللادسمة مع القيم الموجودة في الحليب الطبيعي، ويمكن اعتبار الحليب مغشوشاً إذا كانت قيم هذه المكونات أقل من مثيلاتها في الحليب الطبيعي، مع الأخذ بعين الاعتبار نوع الحيوان والتغذية والعمر وفترة الحلابة وموسم الحلابة...

فرز الحليب :

عملية فرز الحليب نوع من أنواع الغش وتعتمد على نزع الدسم منه كلياً أو جزئياً، ويمكن ذلك إما بعملية الفرز (بالفرازات) أو بقش الدسم من السطح العلوي للحليب المتروك راكداً لفترة من الزمن (حليب مقشوش) أوبإضافة حليب الفرز الكامل إلى الحليب الطبيعي.

نتأكد من غش الحليب بعملية الفرز وذلك بمقارنة نتائج تحليل الحليب المختبر مع الحليب الطبيعي.

وتبدوالتبدلات التالية عند غش الحليب بسحب الدسم منه وهي :

- تزداد الكثافة
- ينخفض محتوى الحليب من المادة الدسمة
- لا يتغير محتوى الحليب من المادة الجافة اللادسمة.

الغش بإضافة الماء وفرز الحليب :

قد يحدث غش مضاعف للحليب وذلك بإضافة الماء وفرز الحليب في آن معاً وهنا تحدث تغيرات مختلفة في الحليب أهمها :

- تبقى الكثافة طبيعية وقد تنخفض أو ترتفع لذلك لا تعتمد الكثافة وحدها كاختبار هام في كشف غش الحليب
- انخفاض نسبة الدسم
- انخفاض المادة الجافة اللادسمة
- انخفاض المادة الجافة الكلية

الغش بإضافة النشاء :

يضاف النشاء إلى الحليب لزيادة اللزوجة ورفع الكثافة وتحسين مردود التصنيع في الحليب المعد للصناعة وكذلك لإخفاء الغش بإضافة الماء نظراً لربط جزيئات الماء بالنشاء.

الغش بإضافة حليب قليل الثمن إلى الحليب الأغلى ثمناً :

وذلك بإضافة حليب الأبقار إلى حليب الأغنام وإلى حليب الجاموس أوإضافة حليب الماعز إلى حليب الأغنام، ويعتبر الكشف عن هذا النوع من الغش ضروري في مصانع الأجبان والألبان من أجل منع الغش الاقتصادي لأن الفارق بين سعر حليب الأغنام وحليب الأبقار كبير جداً وقد يصل إلى الضعف.

الجزءالعملي

الخطوات والشروط الواجب توفرها في العينة حتى نضمن نتائج مخبرية صحيحة ؟

كل عينة بول يراد تحليلها تمر بالمراحل التالية أو على حسب طلب الطبيب بتحديد نوع الاختبار

جمع العينة وإرسالها للمختبر: **Samples Collection**

حفظ العينة **Preservation of samples:**

تحليل البول : **Urinalysis**

الفحص الفيزيائي: **Physical exam. of urine**

الفحص الكيميائي : **Chemical exam. of urine**

الفحص المجهري لراسب البول : **Micros. exam. sediment of urine**

تطبيق اختبارات تقييم وظيفة الكلية: **Kidney Functio tests**

التحليل الجرثومي لعينة البول : **Bacteriologic examination**

الفحص الفيزيائي للبول :

Physical examination of urine

جمع عينات البول ***Urine samples Collection***

اعتبارات عامة

1- يفضل استخدام عبوات بلاستيكية تستخدم مرة واحدة وإذا تعذر ذلك تستخدم عبوات زجاجية نظيفة

2- يجب أخذ العينة في الصباح الباكر مع استبعاد الدفعات الأولى من خروج البول

3- يجب غسل وتنظيف الغلفة والمهبل قبل أخذ عينة البول بسبب وجود الكثير من انواع الجراثيم في المجرى البولي التناسلي

4- يفضل أن تفحص العينة طازجة فور وصولها إلى المختبر حتى لاتتحول البولة إلى أمونياحتى لا تتحلل الخلايا الظهارية والأسطوانات

5- يمكن حفظ عينة البول في البراد قبل فحصه 2- 3/ سا ، وإذا لم يتوفر البراد تستخدم المواد الحافظة

6- تترك عينة البول لتأخذ درجة حرارة الغرفة قبل تحليلها.

7- التجميد يؤذي الخلايا .

ولإجراء الفحوص الفيزيائية لعينة البول يطبق الآتي

1- تقدير حجم البول :

الطريقة:

لتقدير حجم البول يجب أن يجمع البول من الحيوان على مدار 24 ساعة في وعاء واسع ثم ينقل البول إلى أنبوب اختبار مدرج وكبير وفية يقدر حجم البول المفرز من الحيوان بقراءة الرقم المحاذي للحافة العليا لسطح البول . الجدول (5)

جدول (5) كمية البول عند مختلف الحيوانات / يوم

النوع	الكمية اليومية /ليتر
الخيول	2-11
الأبقار	8، 8- 22، 6
الأغنام	0، 5- 2
الماعز	0.5 - 2
الكلاب	0.5 - 2
القطط	1- 1، 2
الخنازير	2- 6
الإنسان	1، 5= 2

2- لون البول

طريقة تحديد لون عينة البول :

توضع عينة البول المرسلة إلى المختبر في أنبوب اختبار زجاجي شفاف وبالنظر إلى أنبوب الاختبار بالعين المجردة يسجل اللون المشاهد وكما ذكر في الجزء النظري.

3- الشفافية :

تحدد شفافية عينة البول أيضاً بالعين المجردة وكما ذكر آنفاً ويسجل (شفافه أو عكرة أو غمامية) .

4- الكثافة النوعية :

الطريقة :

من عينة البول المرسلة إلى المختبر يملأ أنبوب اختبار ذو قطر واسع من عينة بالبول ثم يوضع مقياس الانكسار البولي Urinemter لقياس الكثافة النوعية ضمن الأنبوب ،

وتقرأ النتيجة بتسجيل الرقم المحاذي للحافة العليا لسطح عينة البول على مقياس الكثافة المدرج وهي عادة تتراوح ما بين 1.015– 1.050 عند مختلف الحيوانات .
الجدول (6)

الجدول (6) معدل الكثافة النوعية عند مختلف الحيوانات

النوع	القراءة
الحصان	**1.050 –1.020**
الأبقار	**1.045 –1.025**
الأغنام	**1.045 –1.015**
الماعز	**1.030 –1.010**
الخنازير	**1.045 –1.015**
الكلاب	**1.040 –1.020**
القطط	**1.030 –1.010**

الفحص الكيميائي للبول
chemical examination of urine

1- تفاعل ال *PH*

تختلف القيم الطبيعية لدرجة أيونات الهيدروجين حسب نوع الغذاء الذي يتناولة الحيوان وكما هو مبين بالجدول (7)

جدول (7) يوضح درجة ال *PH* عند مختلف الحيوانات

الحيوان	درجة	نوع التفاعل
الخيول	8	قلوي
الأبقار	8.4 -7.4	قلوي
الأغنام	6، 5- 7، 5	قلوي
الخنازير	7 - 6	حامضي أو قلوي
الكلاب	7 - 6	حامضي
القطط	7.5 -4.8	حامضي
الإنسان	7.5 -4.8	حامضي أو قلوي

- **الطريقة** : لاجراء هذا الاختبار لقياس درجة Ph يمكن استخدام

- **جهاز قياس درجة pH الكهربائي . الشكل(47)**

الشكل (47)

ولاستخدام هذا الجهاز يجب أولا التأكد من سلامته وذلك باجراء عملية معايرة لدرجة الحموضة

– أدخل طرف مجموعة الألكترود في مكبس الكهرباء ثم شغل الجهاز

– اغمس الألكترود في ماء مقطر لبضع ثواني ثم انقله إلى محلول منظم (Ph=7)

– انقل الألكترود من المحلول وغمسة في ماء مقطر لبضع ثوان ثم اغمسة في محلول منظم (Ph=4) وهكذا نحصل على قراءة صحيحة Ph=4 ، ثم بعد ذلك يوضع الألكترود في المحلول المراد قياس درجة حموضتة .

او استخدام أحد الشرائط التالية

1- ورق النترازين

2- شرائط ورق الهايدرون *PH*

3- الشرائط متعددة الاختبارات

ويتم بغمر أحد هذه الشرائط في العينة الموجودة في أنبوب الاختبار وتبقى دقيقة ثم ترفع وتنشف بالهواء وتقرأ النتيجة من على العبوة مباشرة بمقارنة تغير اللون

2- البروتين *Protein*

يمكن الاستدلال على وجود البروتين بالبول بتطبيق إحدى الطرق الآتية التي تعتمد على ترسيب مادة البروتين إما بالحرارة أو الحمض ، ولكن يجب أولا اتباع الشروط التالية

1- تفاعل عينة البول المراد اختبارها للبروتين يجب أن يكون حامضياً

2- عينة البول يجب ان تكون شفافة ولهذا اذا كانت عكرة ترشح بورق الترشيح

3- عينة بول الحصان تترك فترة من الزمن حتى يترسب الميوسين والاملاح ثم يؤخذ الطافي ويوضع في أنبوب اختبار وتثقل ويطبق الاختبار على الطافي .

طرق الكشف عن البروتين :

1- الكشف عن البروتين بالحرارة :

يملأ أنبوب اختبار من عينة البول حتى ثلثيه ويمسك بواسطة ملقط خشبي ويعرض من أعلاه للحرارة حتى ظهور الغليان وبعدها تقرأ النتيجة.

النتيجة :

ظهور عكارة واضحة دليل وجود ⟵ إما املاح الفوسفات أو بروتين

وللتفريق بنهما يضاف قطرتان من حمض الخل العشر نظامي(N/10) بقاء العكارة دليل وجود البروتين

2- طريقة بانغ : Bang method

وتتم بتطبيق الخطوات التالية :

- يوضع في أنبوب اختبار 1سم من عينة البول
- يضاف إليه 1سم من كاشف مركب من (1 ليتر ماء
- مقطر + 56، 5سم^3 حمض خل+118غ خلات صوديوم)
- يسخن الأنبوب على مصدر حراري لمدة 30 دقيقة

النتيجة : تشكل سحب بيضاء + راسب بقاع الأنبوب دليل وجود البروتين،

طريقة لندنير : Lindner metheod

وهي طريقة حساسة جداً للكشف عن البروتين وتتم

1- بوضع 10 سم من الماء المقطر في أنبوب اختبار

2- يسخن الأنبوب بوضعة أمام اللهب

3- نضيف نقطة أو نقطتين من عينة البول في الأنبوب ثم نضعة أمام مصدر ضوئي شديد

النتيجة : ظهور سحب أو ندف بيضاء دليل وجود البروتين

1- اختبار روبرت *Robert's test*

المبدأ :

ترسيب البروتين بحمض قوي .

الاختبار :

ضع 2 مل من كاشف روبرت في أنبوب اختبار ثم أضيف 2 مل من البول بحيث ينساب على جدار الأنبوب ، النتيجة: تشكل حلقة بيضاء عند تماس السائلين فالنتيجة إيجابية (كاشف روبرت يتكون من جزء حمض النتريك المركز+ 5 جزء سلفات المغنزيوم يؤخذ 770 غ من الخليط السابق ويكمل إلى 1000 مل ماء) .

2- اختبار حمض السلفوساليسيليك *Sulfosalicylic acid test*

المبدأ :

ترسيب بروتين البول بحمض السلفوساليسيليك .

الاختبار : تحضير محلول من 5 % من حمض السلفوساليسيليك ويبقى الكاشف ثابتا في الظروف الطبيعية ، ضع كميتين متماثلتين من الحمض والبول في الأنبوب لأن العكارة الظاهرة على كمية البروتين في البول

3- شرائط الكاشف ألباستكس *Albustix reagent strip*

المبدأ :

تترابروموفينول ، سترات ، شرائط السللوز .

الاختبار :

اغمس الشريط في البول ، في الحالة الإيجابية يتغير لون الشريط من الأصفر إلى الأخضر ثم الأزرق حسب كمية البروتين ، ويقارن البول مع الألوان الموجودة على علبة الشرائط

السكر : *glucose*

يمكن التعرف على وجود السكر بالبول بتطبيق إحدى الطرق الآتية .

ملحوظة : وجود السكر بالبول مؤشر غير دقيق على وجود الزرب السكري،

اختبار فهلنغ : Fehling test

المبدأ :

يعتمد على تحويل سلفات النحاس الزرقاء بواسطة الحرارة إلى هيدروكسيد النحاس بوجود السكر

الطريقة : وتتم بما يلي:

تحضير الكواشف :

- فهلنغ[1] من محلول نحاسي تركيزه 7%
- فهلنغ [2] محلول الطرطريك (3، 5 غ ملح السيفينيت + 10غ صودا كاوية + 100مل ماء مقطر)

الطريقة :

- يوضع 1 سم من فهلنغ[1] وفهلنغ [2] في أنبوب اختبار
- نضيف كمية متساوية من عينة البول إلى الأنبوب
- يسخن المزيج حتى درجة الغليان

النتيجة : ظهور لون آجري أو قرميدي وذلك دليل وجود السكر

اختبار بندكت *bendect's test*

المبدأ :

هو الفعل الإرجاعي للغلوكوز على محلول سلفات النحاس القلوية بإرجاع شوارد النحاس إلى نحاسوز والتي تترسب على شكل أوكسيد النحاسوز

الاختبار : ضع في أنبوب اختبار 5 مل كاشف بندكت ثم أضف 0، 5 مل بول . بعد التسخين خمس دقائق يتم التبريد . فالنتيجة سلبية إذا كان اللون أزرق وإيجابية إذا كان اللون أخضر أو أحمر.

شرائط كاشف كلينيستكس *Clinistix reagent strip*

المبدأ : الشرائط مشبعة باالإنزيم المؤكسج لسكر الغلوكوز glucose oxedase والاورثوتولودين (الكاشف) فالغلوكـوز يتأكسد بالاوكسجين بوجود غلوكوز أوكسيداز معطيا ارتفاعا في حمض غلوكونيك وهيدروجين بيروكسيداز الذي يحلل بواسطة البيروكسيداز منتجا الاوكسجين الوليد الذي يؤكسد بدوره الكاشف إلى ألوان مركبة

الاختبار : ضع نهاية الشريط في البول 10 ثوان ثم قارن اللون مع الدليل إذا لم يتغير اللون فالنتيجة سلبية ، وإذا تغير اللون إلى القرمزي فالنتيجة إيجابية .

ملاحظة : لا يستخدم هذا الاختبار في الكلاب لأنه يعطي نتائج خاطئة ، وفي حال النتائج الإيجابية يجب أن يؤكد باختبار آخر .

الكشف عن الأسيتون : *Acetone*

اختبار ترومير : Trommer test

وهو اختبار حساس لوجود الأسيتون ويتم باضافة هيدروكسيد الصوديوم إلى عينة البول مع عدة نقاط من الدهيد ساليسيليكد ثم تسخين المزيج حتى الدرجة 70 م° .

النتيجة : تلون طبقة البول باللون الأحمر دليل وجود الاسيتون

شرائط كيتوستكس *Ketostix reagent strip*

المبدأ :

صوديوم نتروبروسيد ، حمض أمينو أستيك (جلايسين) ، صوديوم فوسفات

الاختبار :

ضع نهاية شريط الاختبار في أنبوب البول . ثم قارن اللون بعد دقيقة واحدة، عدم تغير اللون أو تغير إلى لون الكريم يعني أن النتيجة سلبية . أما في الحالة الإيجابية فإن اللون يتراوح بين الوردي والقرمزي .

اختبار روز *Ross test*

المبدأ :

ينحل صوديوم نايتروبروسيد إلى :

صوديوم فيروسيانيد + صوديوم نتريت + هيدروكسيد الحديد في محلول قلوي .

هذه المركبات هي عوامل مؤكسدة لأنها تشكل لونا قرمزيا بوجود حمض الداي أستيك والأسيتون .

الاختبار :

يتألف الكاشف من مزيج البودرة التالي : 1 جزء من صوديوم نتروبروسيد و 100 جزء من أمونيوم سولفيت . ضع 1/2 غ من البودرة في أنبوب اختبار ثم أضف 5 مل من البول للأنبوب مع الرج ، وأضف 1–2 مل من هيدروكسيد الأمونيوم المركز ليشكل طبقة فوق المزيج إذا تغير اللون إلى القرمزي يعني أن النتيجة إيجابية .

الدم : *Blood*

بعد جمع عينة البول في وعاء بلاستيكي نظيف ترسل إلى المختبر في ظروف التبريد حتى لاتفسد أو تتحلل العينة وتختبر مباشرة بعدة طرق منها

طريقة البنزيدين *Benezidine test*

المبدأ :

يعتمد الاختبارعلى نزع الأوكسيجين من حامله (خضاب الدم) وتحريرة وأكسدتة للبنزيدين

الاختبار : ويتم

- يوضع في أنبوب 3 سم من محلول ماء أوكسيجيني 3%
- يضاف عليه 10–15 نقطة من محلول البنزيدين المشبع بحمض الخل
- يضاف عليهم 5 سم من عينة البول

النتيجة : تغير اللون بعد 15 دقيقة إلى الأزرق المخضر دليل وجود الدم

اختبار البيراميدون : Piramidon test

كاشف الاختبار: مكون من مزيج من محلول البيراميدون الكحولي 5% مع ماء أوكسيجيني 3%مع محلول حمض الخل 30%

الطريقة :

في أنبوب اختبار يوضع جزء من عينة البول ويضاف عليها بضع نقاط من المزيج السابق . ظهور اللون الأزرق البنفسجي مؤشر وجود الدم .

طريقة هيماستكس : *Hemastix reagent strip*

المبدا :

عبارة عن شرائط مشبعة بمزيج واقي من البيروكسيد العضوي والاورثوتولودين .

الاختبار :

اغمس نهاية الشريط في أنبوب البول فالنتيجة السلبية عدم تشكل اللون الأزرق والإيجابية تشكله خلال ثلاثين ثانية .

ملحوظة :بعد التأكد أن عينة البول تحوي على دم يجب بعدها معرفة فيما اذا كانت العينة هي بيلة دموية (وجود الكريات الحمر سليمة) أم هي بيلة خضابية (خضاب الدم بالبول) لأن لكل منهما أسباباً مختلفة فالبيلة الدموية تعكس امراض تتعلق بالكلية ومابعدها والبيلة الخضابية تعكس امراض قبل كلوية ، ويتم التفريق بينهما بوضع عينة البول بشكل شاقولي في حامل وتترك العينة فترة زمنية فإذا كانت بيلة دموية نجد الكريات

الحمر تترسب في قاع الأنبوب والطافي رائق ، أما إذا كانت بيلة خضابية تبقى عينة البول متجانسة

البيلة الميوغلوبينية: Myoglobin urea

يمكن أن يدخل بروتين العضلات في التفاعل الإيجابي لاختبارات الدم محولاً لون البول إلى البني وللتشخيص التفريقي لا يوجد في راسب البول كريات حمراء .

البيليروبين *Bilirubin*

الاختبارات

اختبار الرغوة *Foam test*

رج بضع مليمترات من البول بقوة في أنبوب اختبار فيظهر لون أخضر مصفر أو بني ثم يتحول هذا اللون إلى رغوة دليل وجود الأصبغة الصفراوية.

اختبار أزرق المثيلين *M* :

يوضع في أنبوب 5 مل بول ثم يضاف 20 قطرة من محلول 0، 2 % أزرق الميثلين . يعتبر ظهور اللون الأزرق الحالة إيجابية وبالتالي وجود الأصبغة الصفراوية (البيلوروبين).

شريط كاشف إكتو ستكس : *Ictostix reagent strip*

المبدأ :

شريط من السللوز مشبع في نهايته بالديازو حيث يتفاعل مع البيليروبين عند وجوده في البول مشكلا آزوبليروبين ويتحول اللون إلى البني الخفيف .

الاختبار :

إغمس الشريط في أنبوب البول ثم قارن بعد 20 ثانية لون الشريط مع الدليل الموجود على العلبة ثم قدر النتيجة .

إختبار جميلين

المبدأ :

تتأكسد الأصبغة الصفراوية بالحموض وتعطي ألوانا مختلفة

الاختبار :

ضع في أنبوب اختبار 2 مل من حمض النتريك ثم خذ مسحة منه وضعها في أنبوب اختبار يحوي على 2 مل بول تجد تشكل لون بنفسجي مخضر في الحالة الإيجابية .

اليوروبيلينوجن : *Urobilinogen*

وهي صبغة صفراوية مشتقة من البيلوروبين يمكن الكشف عنها بعدة طرق منها :

اختبار والاس– دياموند : *Wallace Diamond test*

المبدأ :

يعتمد على تفاعل اليوروبيلينوجن والأصبغة الأخرى مع كاشف إيرلش بنز ألدهيد ليعطي اللون الأحمر

يتألف كاشف إيرلش بنز ألدهيد من : 2 غ بارا داي ميثيل أمين بنز ألدهيد + 100 مل حمض كلور الماء الممدد 20%

الاختبار :

أضف 0.5 مل كاشف إيرلش بنز ألدهيد إلى 5 مل بول طازج في أنبوب اختبار . دع الأنبوب 5 دقائق ولاحظ اللون الوردي إلى الأحمر الكرزي في الحالة الإيجابية وغياب الألوان في الحالة السلبية .

الاختبار مع التمديد

يمكن تمديد البول وقراءة النتائج في حال كان تركيز اليوروبيلينوجن عالياً وذلك بتطبيق الخطوات التالية :

- ضع 6–8 أنابيب اختبار على الحامل والحاوية على 5 مل ماء في كل واحد
- أضف 5 مل بول طازج للأنبوب الاول ثم خذ مل من الاول إلى الثاني وهكذا .
- أضف 1/2 مل من كاشف إيرلش لكل أنبوب وامزج ثم انتظر 5 دقائق .
- ظهور اللون الوردي في أي أنبوب يعني نهاية التجربة .
  - عند استخدام كلوريد الباريوم لإزالة البيليروبين يجب جعل التمديد 1/4– 1/8
  - يجب عدم تعريض البول للنور والهواء لأن اليوروبيلينوجن يتحول إلى يوروبيلين الذي لا يتفاعل مع الكاشف .

- إذا وجدت الصفراء بكميات كبيرة فيجب مزج كمية متعادلة من البول وكلوريد الباريوم المحلول في الماء بنسبة 10% ثم ترشح لإزالة كل الراسب حتى لا يحدث تدخل للبليروبين في قراءة النتائج

يوروبيلي ستكس

المبدأ :

يشبع الشريط البلاستيكي في المربع النهائي ب 2.9% من بارا داي مثيل أمين بنز ألدهيد و 97.1% كاشف دارئ جاف وتعتمد الطريقة على كاشف إيرلش مع اليوروبيلينوجن في وسط حمض قوي ليشكل اللون الأحمر .

الاختبار :

ضع الشريط في أنبوب اختبار يحوي على بول طازج وامزج (عدم استخدام مواد حافظة للبول) ثم أخرج الشريط من الأنبوب واتركه 60 ثانية

القراءة :

قارن اللون على الشريط مع الألوان الموجودة على العلبة حيث يتراوح اللون بين الأصفر المخضر إلى الأحمر البني في الحالة الإيجابية .

الإنديكان : *indicant*

يمكن الكشف عن مادة الانديكان في البول بعدة اختبارات منها

اختبار أوبرماير *Obermayer's test*

المبدأ:

كما أن كاشف الاوبرماير يؤكسد الإنديكان إلى إنديكو الأزرق الذي يمتص بوجود الكلوروفورم لينتج اللون الأزرق أيضا .

الاختبار : ويتم

- باضافة 5 مل كاشف أوبرماير (1000 مل حمض كلور الماء المركز + 2 غ كلوريد الحديد)
- إلى 5 مل بول في أنبوب اختبار امزج بلطف عدة مرات
- .ثم أضف 2 مل كلوروفورم وامزج عدة مرات بلطف .

- دع الكلوروفورم ليستقر في قاع الأنبوب

النتيجة

تشكل لون أزرق في طبقة الكلوروفورم دليل وجود الأنديكان .

الكالسيوم : *Calcium*

اختبار سلكوويتش *Sulkowitch test*

المبدأ:

يترسب الكالسيوم على شكل أوكزالات الكالسيوم غير المنحلة

الاختبار :

- للأنبوب الاول أضف 5 مل من الماء المقطر مع كمية مساوية من البول وامزج جيدا
- ثم امزج في أنبوب ثان كمية مماثلة ومعادلة من البول مع كاشف سلكوويتش ،
- بعدها قارن بين الأنبوبين خلال دقيقتين فتلاحظ راسباً أبيض كثيفاً في الحالة الإيجابية وراسب أبيض خفيف في الحالة السلبية .

ملاحظة :

يتألف كاشف سلكوويتش من 2.5غ حمض أوكزالات الأمنيوم + 5 مل حمض الخل الثلجي + 150 مل ماء

السلفوناميد *Sulfonamides*

اختبار لجنين *Lignin's test*

المبدأ :

تتفاعل مجموعة الأريلامين في السلفوناميد مع السللوز الموجود في الحمض لإنتاج لون أصفر إلى برتقالي .

الطريقة :

- ضع 1–2 قطرة من البول على جريدة ولا تستخدم ورق الترشيح
- ثم أضف قطرة من حمض كلور الماء 25% إلى مركز المنطقة الرطبة
- وجود السلفوناميد يعطي لون برتقالي.

الفحص المجهري لراسب البول
Microscopic examination of urine sediment

اعتبارات عامة

– لفحص البول المجهري أهمية سريرية تدفع الطبيب إلى إجرائه عند كل تحليل للبول

– يجب أن يفحص من قبل أخصائي خبير

– يجب أن يجرى الفحص على البول الطازج .

– يحوي البول الطبيعي على القليل من الراسب .

طريقة إجراء اختبار الترسيب للبول :

من بعد جمع عينة البول من الحيوانات وإرسالها إلى المختبر ينفذ الآتي :

1– ترج عينة البول حتى تتجانس .

2– توضع عينة البول في أنبوب مثقلة ثم تثقل 3 دقائق على بمعدل سرعة منخفض 1000 دورة / د

3– يخرج الأنبوب من المثقلة ويتم التخلص من الطافي مع بقاء بضع نقاط منه

4– رج الأنبوب يدوياً لمجانسة راسب البول

5– ضع نقطة منه على شريحة وغطها بالساترة .

6– افحص تحت المجهر بالعدسة الصغيرة ثم الكبيرة .

7– اكتب مشاهداتك في عدة حقول

8– يمكن أن نصبغ بأزرق المثلين إن لزم الأمر لتوضيح بعض المكونات .

وتحت المجهر يمكن مشاهدة نوعين من الرواسب هما :

اولاً– الرواسب العضوية : Organized sediment

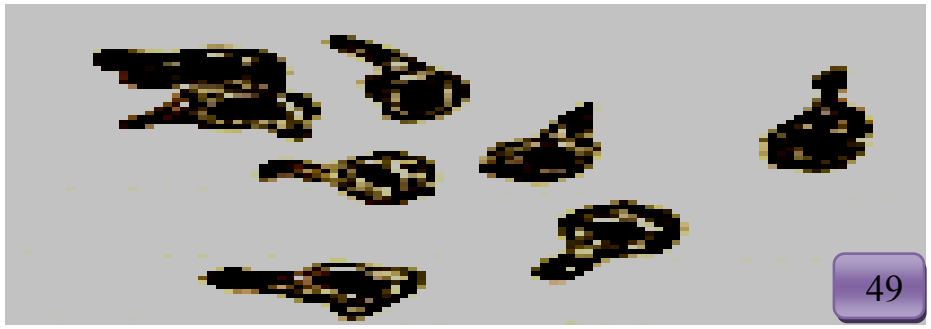
ثانياً– الرواسب غير العضوية : Unorganized sediment

وقد سبق الحديث عنهم في الجزء النظري ، وهنا سوف نعرض الاشكال العضوية وغير العضوية كما يتم مشاهدتها تحت المجهر .

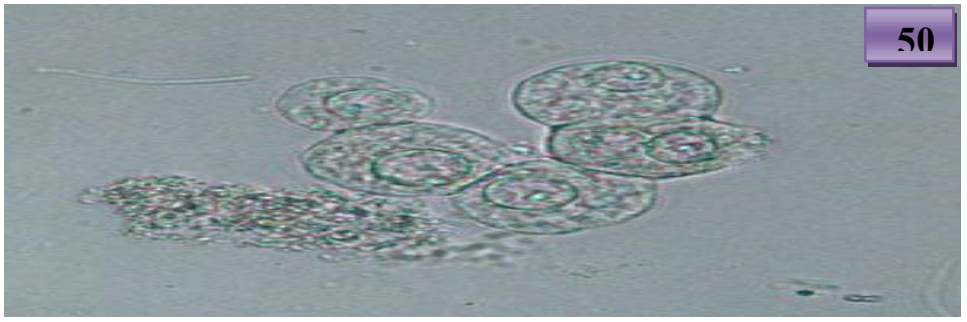
اولاً– الرواسب العضوية : وهي

1– الخلايا الظهارية الرصفية : Epethelia Squamus الشكل (48)

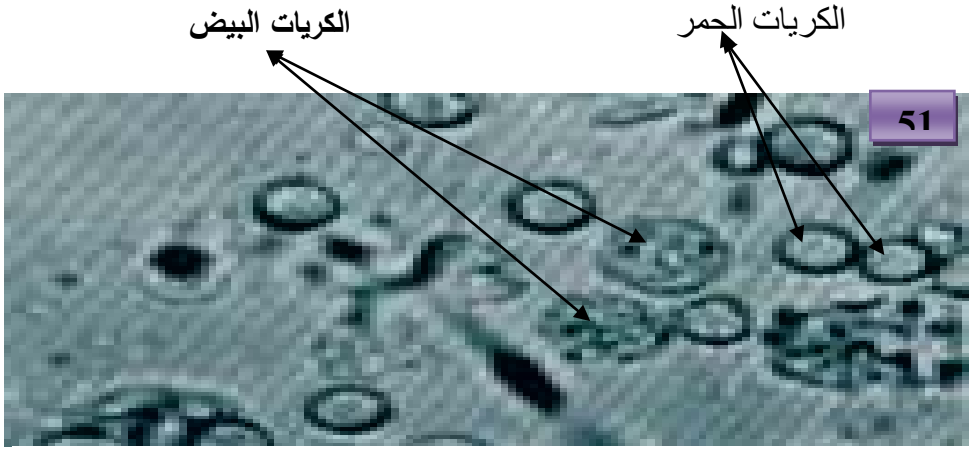
2– الخلايا الظهارية الإنتقالية: Transitional epithelial cells الشكل (49)

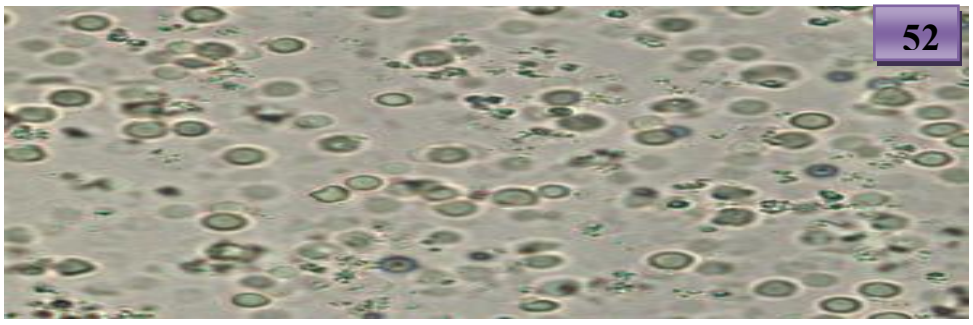


3– الخلايا الظهارية الكلوية : *Renal epithelial cells* الشكل (50)

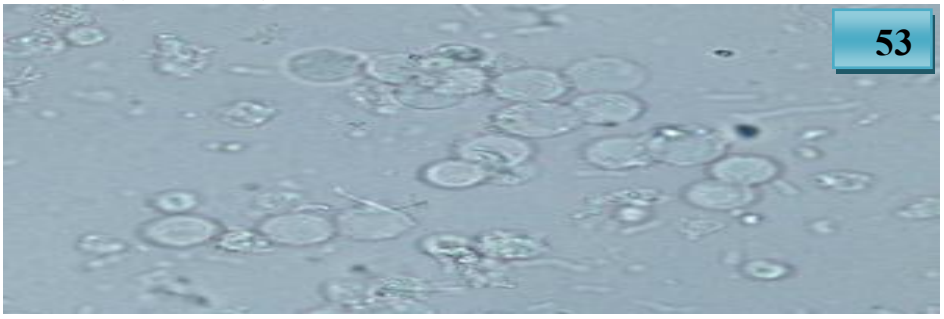


4– الكريات الدموية الحمراء : Erythrocytes الشكل (51، 52)





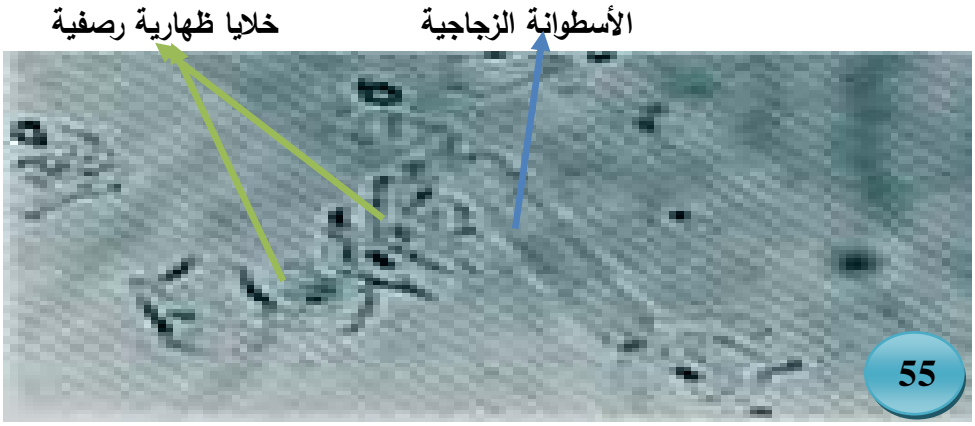
5- الكريات الدموية البيضاء :White Blood cell الشكل (53 ، 54)



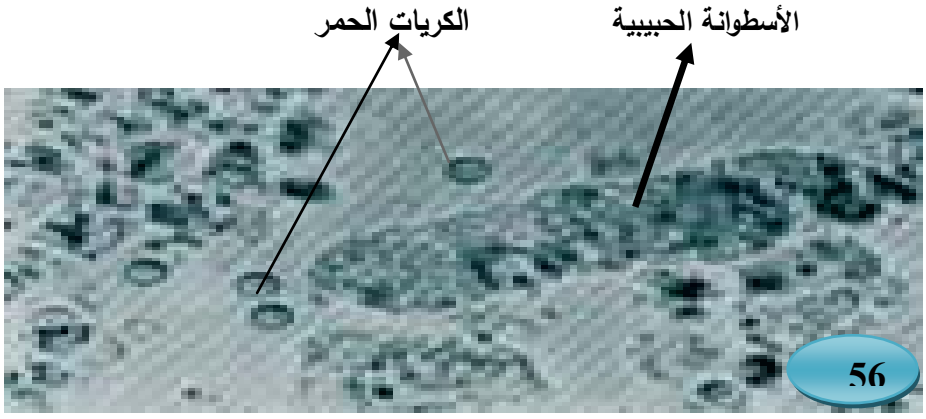
الأسطوانيات ***Casts***

أنواع الأسطوانيات ***Types of casts***

1- الأسطوانة الزجاجية (الهيالينية) : الشكل (55)

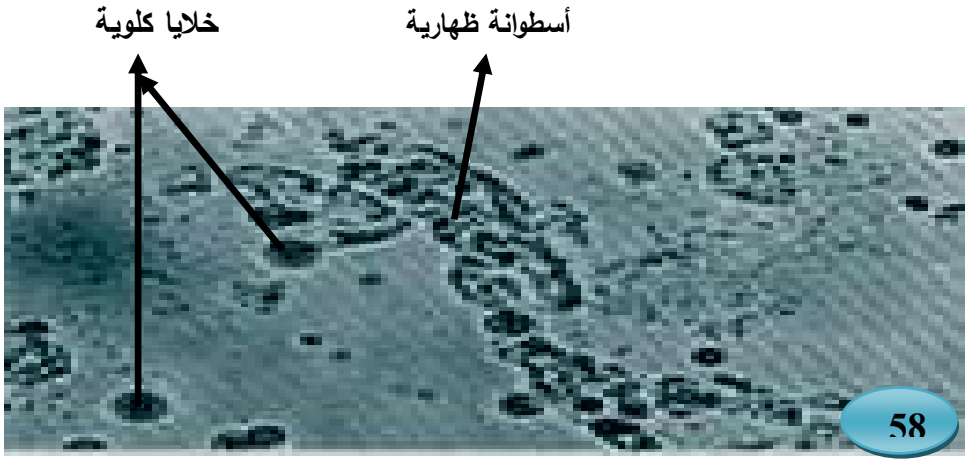


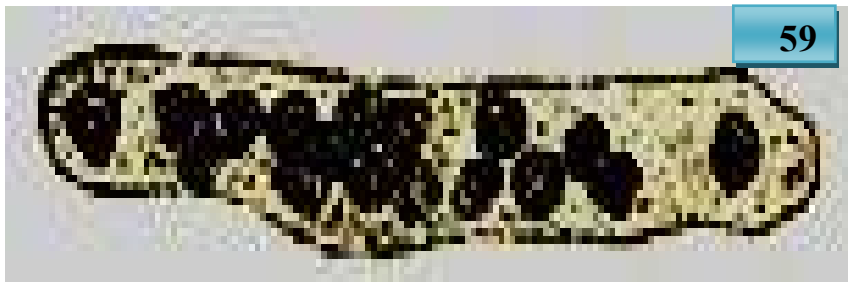
2- الأسطوانة الحبيبية: الشكل(56 ،57)



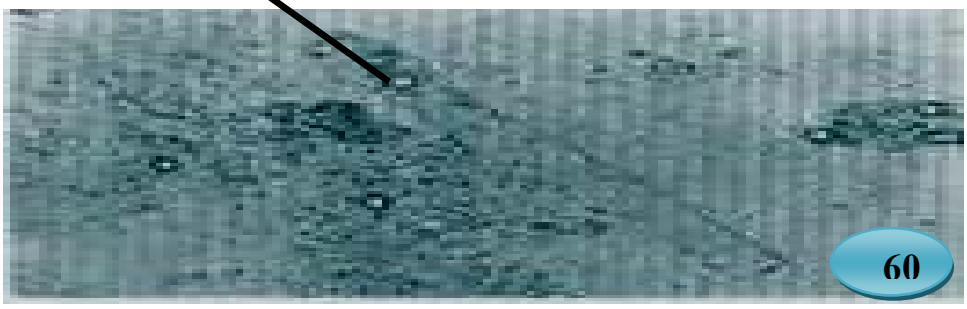
الأسطوانة الحبيبية

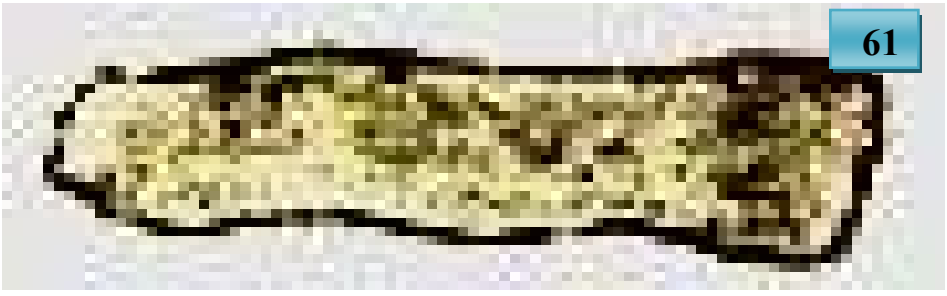
3- الأسطوانة الظهارية: الشكل (58 ، 59)



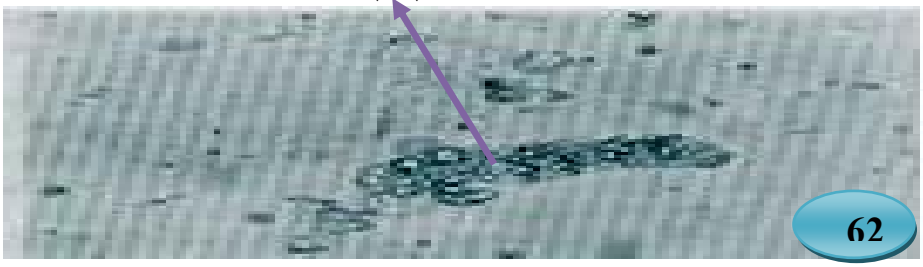


4- الأسطوانة الشمعية : *Waxy* Cast : الشكل (60 ، 61) **اسطوانة شمعية**

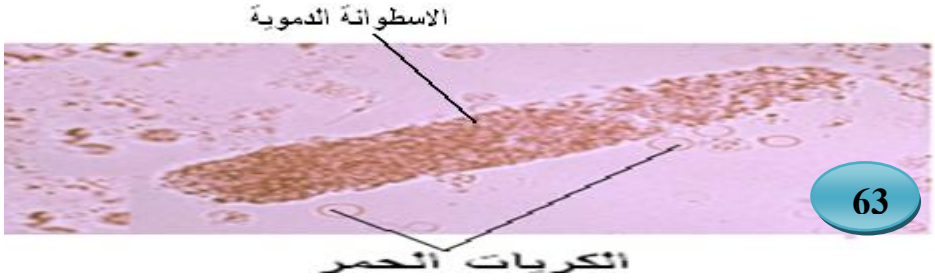


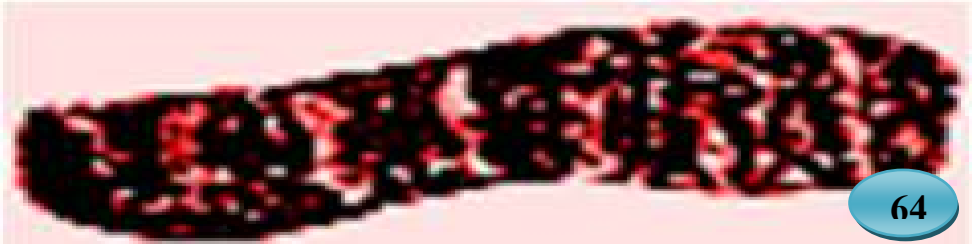


5-الأسطوانةالدهنية : Fatty Cast . الشكل (62) **أسطوانة دهنية**



5- الأسطوانة الدموية : Blood Cast . الشكل (63 ،64)





7- الأسطوانة القيحية (الكريات البيض):White Blood Cast . الشكل(65)

7- شبيه الأسطوانات: *Cylindroid* الشكل(66)

8- الخيط المخاطية mucus threads

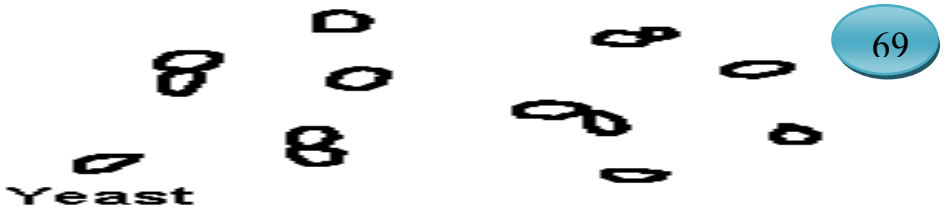
تتشكل نتيجة تجمع المخاط في النبيبات الكلوية القاصية .

9- الأحياء المجهرية *Microorganisms*

الجراثيم: *Bacteria* الشكل(68)

- عندما يكون الغرض من عينة البول التحليل الجرثومي فيجب توفير الشروط التالية: أوعية جمع عينة البول تكون معقمة بما فيها القساطر البولية
- يطلب من صاحب الحالة غسل وتطهير المنطقة المحيطة بمكان جمع العينة وأيضاً غسل وتطهير الغلفة
- تؤخذ عينة البول في الصباح مع استبعاد الشخابات الأولى من نزول البول وتفادي تلوث وعاء جمع العينة وعينة البول
- ترسل إلى المختبر بالسعة الممكنة في ظروف التبريد، ويجب أن تختبر بعد وصولها مباشرة
- تنقل عينة البول إلى أنبوب اختبار خاص بالتثفيل وتثفل 15 دقيقة على الدورة 3000/د
- يزرع من الطافي والراسب على الأوساط الجرثومية وخاصة الأوساط المعوية والدموية ، وتحضن في الدرجة 37 م° 24 ساعة ثم تفحص بالمجهر باستخدام الصبغة المناسبة
- إجراء اختبار الحساسية للغزولات الجرثومية لتحديد الصاد الحيوي الفعال على العزولة

10- الخمائر *Yeast* ، الشكل (69)



11- الطفيليات *Parasites*

12- بيوض الطفيليات *Parasites ova*

13- الاوليات *Protozoa*

14- الحيوانات المنوية *Spermatozoa*

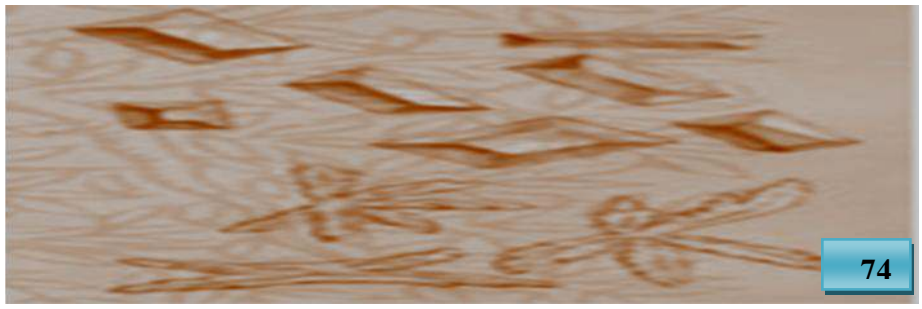
ثانياً- الرواسب غير العضوية : Unorganized sediment

أنواع البلورات الممكن تواجدها في راسب البول كما تشاهد تحت المجهر

1- بللورات حمض البول : Uric Acid . الشكل (70، 71)

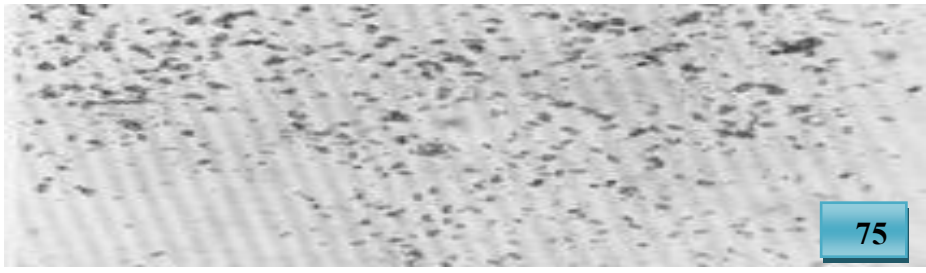
2- بللورات الفوسفات الثلاثية Triple phosphate crystalsالشكل (62،73،74)

73

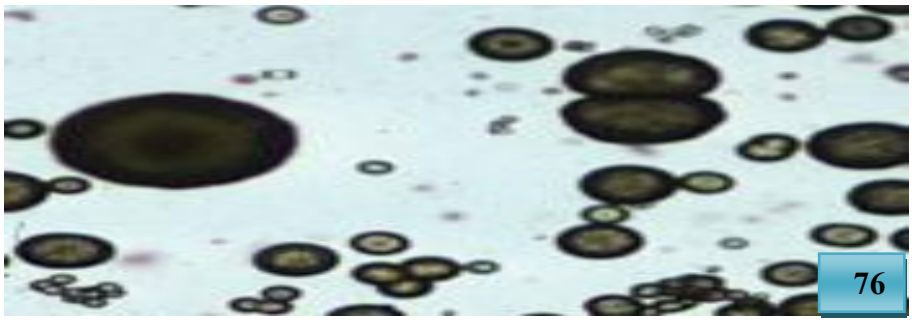


74

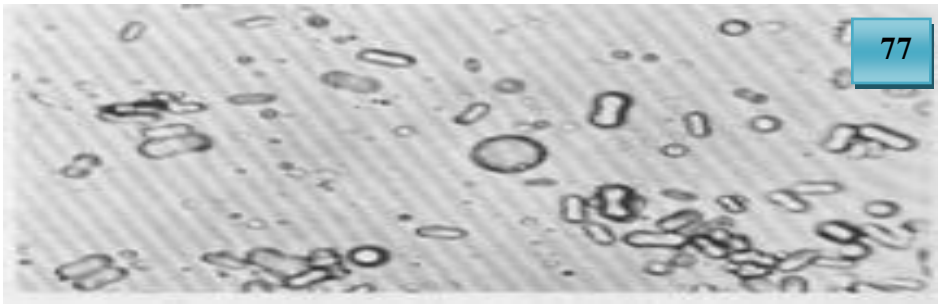
3- بلورات كربونات الكالسيوم Calcium Carbonate .الشكل(75،76،77،78)

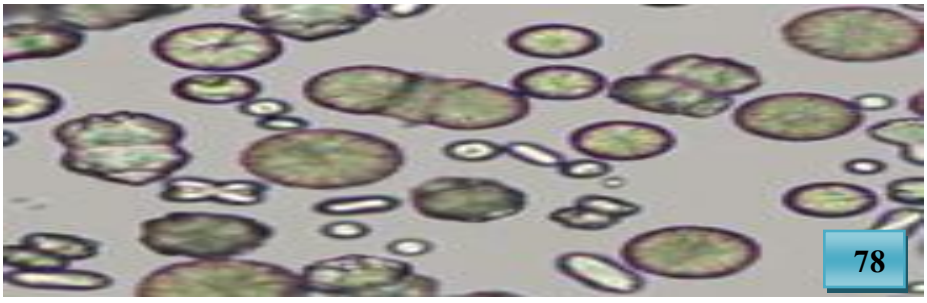


75

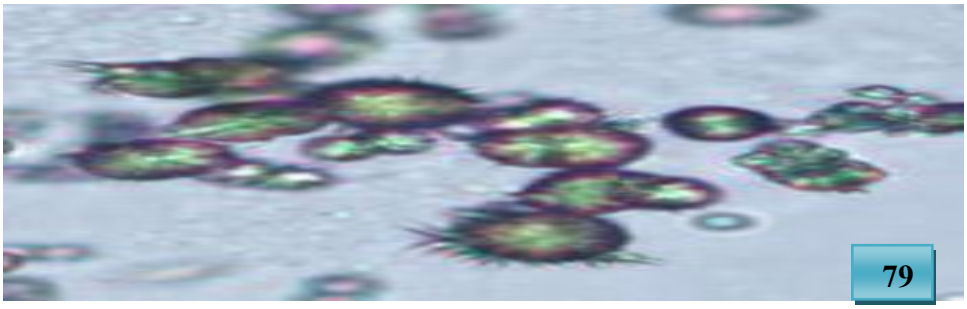


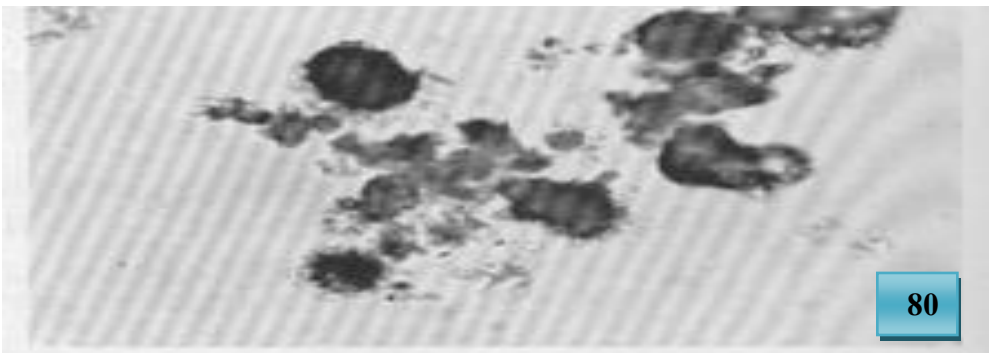
76



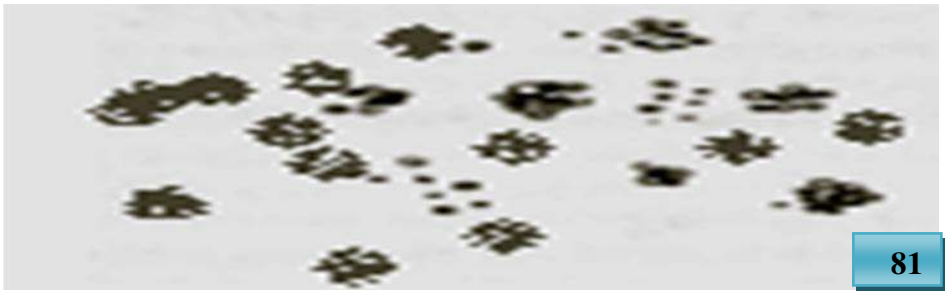


4- بللورات يورييت الامونيوم : Amonium Uriat . الشكل(79،80)

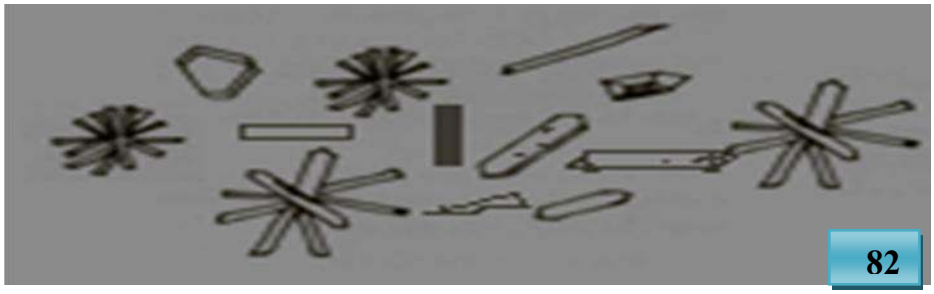




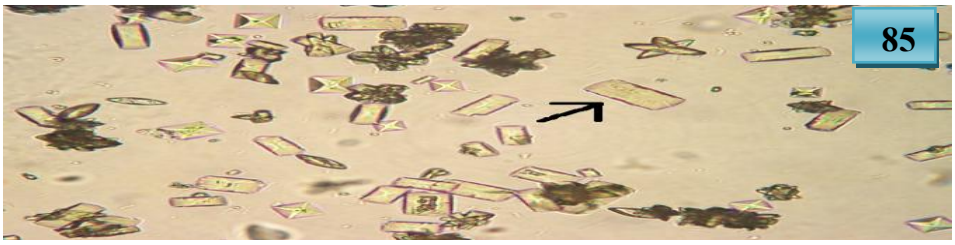
5- اليورييت غير البللورية : Amorphus Uriat.الشكل (71)



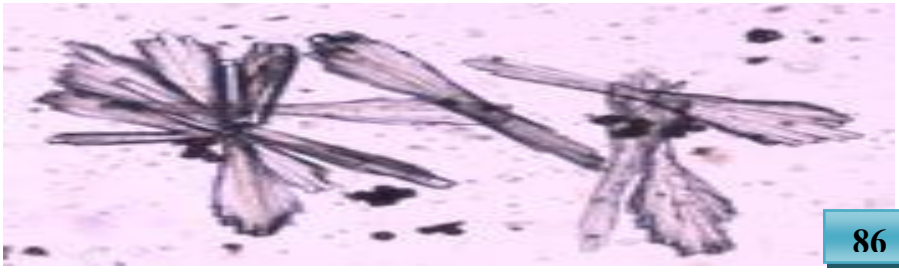
6- بللورات حمض الهيبيوريك: Hopuric Acid Crtstals . الشكل(82)



7- بللورات حماضات الكالسيوم:Calci. Oxalate Crystal.الشكل(83،84،85)

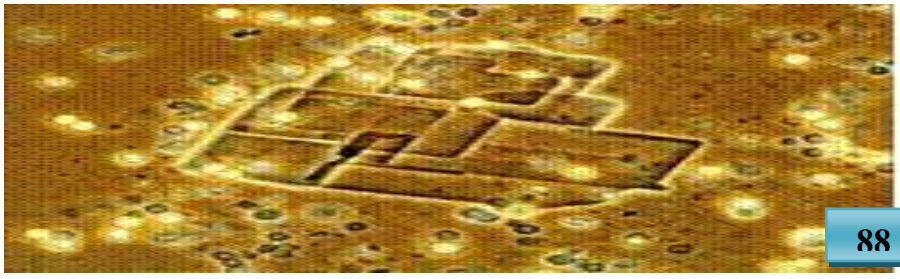


8- بللورات فوسفات الكالسيوم : Calcioum Crystals . الشكل (86)

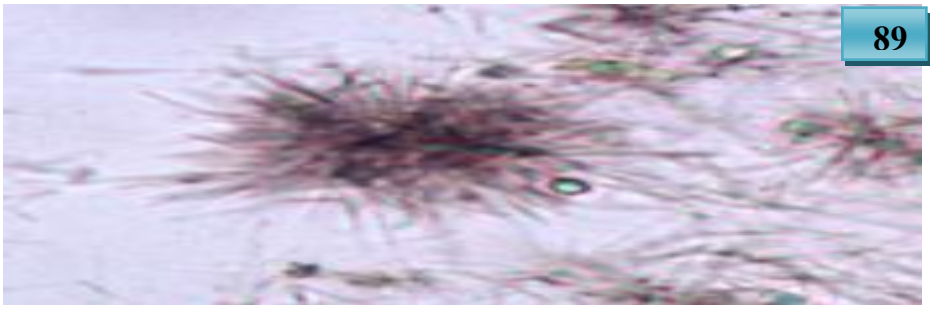


9- بللورات الليوسين : Liucine Crystals .الشكل(87)

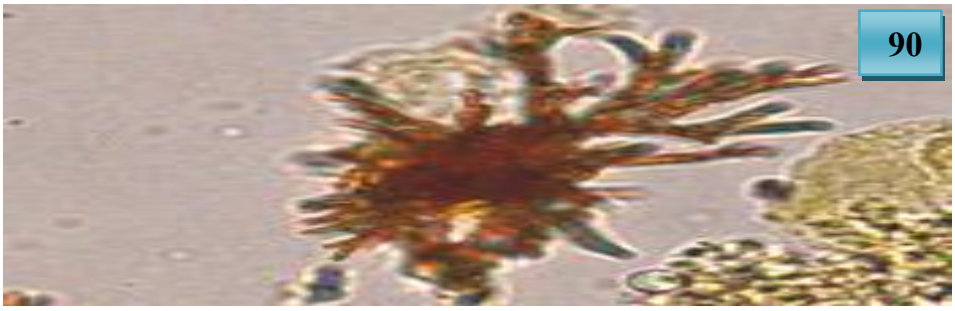
10- بلورات الكوليسترول : Cholesterol Crystals . الشكل(88)



11- بللورات التيروزين: Tyrozine Crystals .الشكل (89)



12- بللورات البيليروبين : Bilirubine Crtstals . الشكل (90)



13- بللورات السيستين :Cystine Crystyals . الشكل (91)

الفصل الثاني

فحص السائل المنوي

– شروط أخذ عينة السائل المنوي :

1– الامتناع عن الجماع أوالحصول على السائل المنوي **3**–**5** أيام قبل أخذ العينة

2– يجب أخذ العينة مباشرة إلى المخبر ويفضل أن تؤخذ داخل المخبر.

3–يجب أن لا يمر على الحصول على العينة فيما إذا كانت من خارج المخبر أكثر من **20** دقيقة.

4– يمنع استعمال الماء والصابون لأن الوسط يقتل الحيوان المنوي.

الصفات الفيزيائية :

- الحجم : نقيس الحجم بأنبوب مدرج ونسجل الحجم الكامل للسائل المنوي.
- اللون : نسجل لون السائل المنوي فيما إذا كان أبيض أوأبيض رمادي أوكريمي وهذا هوالطبيعي أما غير ذلك فيكون محمراً بسبب وجود الكريات الحمراء.
- اللزوجة : توضع العينة في حمام مائي وبعد **20** دقيقة تفحص السيولة إن وجدت. إذا لم تحدث السيولة خلال **20** دقيقة نترك السائل ضمن الحمام المائي ونفحص كل **10** دقائق ونسجل ذلك في التقرير النهائي.

عد الحيوانات المنوية :

لعد الحيوانات المنوية طريقتان هما :

أ– الطريقة الفرنسية :

1–نسحب بالماصة التي تستخدم لعد الكريات البيض حتى الرقم **0.5** من السائل المنوي ثم يكمل الحجم حتى الرقم –**11**– بالمحلول المؤلف من :

– **5** غرام بيكربونات الصوديوم.

–**1** ملل فورمالين.

– **100** ملل ماء مقطر معقم

2– تحرك الماصة دقيقة على شكل ∞

3-تجهز شريحة عداد نيوباور وتوضع الساترة عليها

4-توضع نقطة من السائل المنوي المدد من الماصة على العداد بالقرب من الساترة ثم تفرد تحتها وتوضع تحت المجهر

5-تعد الحيوانات المنوية في المربعات الأربعة الخاصة بعد الكريات البيض، ويضرب المجموع الكلي بـ **50000**.

ب-الطريقة الإنكليزية :

1- يؤخذ بالماصة التي تستخدم لعد الكريات البيض حتى الرقم **0.5** من السائل المنوي ثم يكمل السحب حتى الرقم -**11**- بمحلول التمديد المركب سابقاً والذي استعمل بالطريقة الفرنسية.

2- تحرك الماصة دقيقة على شكل ∞

3- تجهز شريحة عداد نيوباور وتوضع الساترة عليها

4- توضع نقطة من السائل المنوي الممدد من الماصة على العداد بالقرب من الساترة ثم تفرد تحتها وتوضع تحت المجهر

5- يعد خمس مربعات الخاصة بعد الكريات الحمر، ويضرب المجموع الكلي بمليون.

النتيجة : إذا كان العدد الناتج أكبر من **40-60** مليون/ملل فالعدد طبيعي

ت-الطريقة العادية :

تؤخذ نقطة من السائل المنوي، وتوضع فوق شريحة نظيفة ثم تغطى بساترة وتعد الحيوانات المنوية المتحركة وغير المتحركة الموجودة ضمن الساحة المجهرية الواحدة ثم يضرب العدد بمليون.

فحص الأشكال الشاذة :

صباغة الحيوان المنوي :

1- توضع **20** نقطة من الماء المقطر المعقم في أنبوب اختبار ويوضع فوقها **5** نقاط من المحلول المحضر بطريقة العد الفرنسية و**4** نقاط من محلول صبغة بنفسجية الجنشيان

2- يوضع فوق المزيج **3-5** نقاط من السائل المنوي بواسطة قطارة ثم يحرك المزيج باليد لمدة دقيقة.

3-نضع نقطة من محتويات الأنبوب على شريحة نظيفة وتحضر لطاخة على شكل التي تجرى في صباغة الجراثيم

4-تترك اللطاخة لتجف وبعد جفافها جيداً توضع نقطة من زيت الأرز ثم تفحص الشريحة بالعدسة الزيتية الغاطسة.

5-يعد مائة حيوان منوي مصبوغ باللون البنفسجي سواء كان طبيعياً أوغير ذلك كما في طريقة العد التمييزي للكريات البيض.

-النتيجة :

1- يسجل عدد الأشكال الطبيعية للحيوانات المنوية

2-يسجل عدد الأشكال غير الطبيعية للحيوانات المنوية

3-تسجل الملاحظات الأخرى مثل وجود خلايا بيضاء أوخلايا قيحية أوخلايا جرثومية أوغيرها

الفحص المباشر للسائل المنوي لتقدير حيوية الحيوانات المنوية :

تؤخذ قطرة من السائل المنوي وتوضع على شريحة نظيفة وتغطى بساترة وتوضع تحت المجهر وتفحص الحيوانات المنوية المتحركة حركة طبيعية وهي الحركة الإهليلجية الأمامية المستقيمة وتقرأ النتائج كنسبة مئوية للحيوانات المنوية النشطة والتي يجب أن تكون فوق الـ **60**%، ومتوسطة النشاط والتي تبلغ **13**% تقريباً ومعدومة النشاط والتي يجب أن لا تزيد عن **13**%

يجرى هذا الاختبار بعد الجمع مباشرة ويعاد بعد ساعة شرط وضعه في الحمام المائي بدرجة **37** مئوية.

الفصل الثالث

فحص الحليب

طرائق الفحوص الفيزيائية للحليب

Methods of milk physical examination

مقدمة : الاختبارات التي تجرى على الحليب ذات أهمية كبرى لمنتجي الحليب والمصنعين والإنسان. فالاختبارات التي تجرى على الحليب الخام تفيد في إعطاء أسعار جيدة للمنتجين الجيدين مما يشجعهم على بذل عناية أكبر للحصول على أسعار أعلى ويزيد عناية المنتجين المهملين، فيبذلون جهوداً أكبر لتحسين قطعانهم والتخلص من الأبقار غير جيدة الإنتاج.

هذا وتفيد تلك الاختبارات المشرفين على تصنيع الحليب، في معرفة مواصفاته وتركيبه الكيميائي، خاصة نسبة الدسم ونسبة الحموضة. مما يسهل عليهم توحيد مواصفات الناتج المصنع واستخدام الحليب لصناعة المنتج المناسب لمواصفات الحليب وتلافي المعاملات التي تؤثر سلباً على جودة المنتج النهائي وإجراء المعاملات الصناعية التي تفيد في رفع جودة هذا المنتج. أما الاختبارات التي تجرى على المنتجات المصنعة، فتفيد المصانع في تحديد درجة جودتها، والاطمئنان على مطابقتها للمواصفات التي تضعها الدولة، كما تفيد في تحديد الأخطاء المرتكبة في التصنيع وأثرها على الجودة، مما يمكن من تلافيها مستقبلاً.

أما المستهلك، فإن الاختبارات التي تجري توضح له تركيب المنتج الكيميائي، وجودته مما يسمح له بالاختيار المناسب لذوقه وحالته الاقتصادية، كما تجعله يطمئن على صحته، باستهلاكه مواد خالية من الأحياء المجهرية الضارة أوالممرضة، وخالية من أية مواد كيميائية تؤثر على الصحة. هذا وتقسم الاختبارات التي تجري على الحليب السائل (خاماً أومبستراً)، إلى الأنواع التالية :

اولاً : الاختبارات الطبيعية أوالفيزيائية. ثانياً : الاختبارات الحسية.

ثالثاً : الاختبارات الكيميائية. رابعاً : الاختبارات الجرثومية.

2 –الاختبارات الفيزيائية أو الطبيعية للحليب :

2–1 : اختبار نظافة الحليب الخام :

يفيد هذا الاختبار في معرفة كمية الشوائب والاوساخ المرئية في الحليب، مما يمكن من أخذ فكرة عن درجة جودة الحليب الخام، وقابليته للحفظ، ومدى العناية التي بذلت أثناء إنتاجه وتداوله. فزيادة كمية الاوساخ والشعر والقاذورات في الحليب، يدل على نقص العناية بنظافة الإنتاج، كما يرفع محتواه من الأحياء المجهرية التي تسبب فساد الحليب أوتقلل من قابليته للصناعة، ومن قابليته للحفظ. لكن فوائد هذا الاختبار تبقى محدودة، إذا تعرض الحليب لتصفية جيدة قبل الاختبار لأنها تزيل الشوائب من الحليب. أما إذا لم يتعرض الحليب للتصفية فإن لهذا الاختبار فائدة كبيرة، في معرفة ظروف إنتاج الحليب وقابليته للحفظ.

اولاً : الأدوات اللازمة :

أ– أقراص قطنية قياسية، خاصة بهذا الاختبار

ب–جهاز خاص لإمرار كمية معينة من الحليب،عادة 500 مل (وأحياناً 250 مل فقط) من العينة، في القرص القطني الخاص، بحيث يمرفي كل1سم مربع من مساحة القرص 100مل من العينة.

وقد يكون هذا الجهاز على شكل محقن Syringe كبير، يقوم بشفط الكمية المحددة من الحليب، خلال القرص القطني

ت–لوحة معيارية لمقارنة نظافة الحليب وتصنيفه إلى :نظيف جداً، نظيف، متوسط النظافة، وسخ، وسخ جداً. ويوجدعادة لوحتان للمعايرة، تستخدم إحداهما في حالة تعرض الحليب للتصفية قبل الاختبار، والأخرى في حالة عدم تعرضه.

ثانياً : إجراء الاختبار :

أ– تخلط العينة جيداً حتى تصبح متجانسة.

ب–تمرر كمية من الحليب قدرها 500 مل في القرص القطني الخاص، عن طريق الضغط أوالتفريغ أوالجاذبية الأرضية

ت–تقارن الاوساخ المتبقية على هذا القرص بالعين المجردة، مع اللوحة المعيارية الخاصة، ويصنف الحليب بعدها إلى : نظيف جداً، نظيف، متوسطة النظافة، وسخ، أو وسخ جداً.

_ تقدير درجة تجمد الحليب : لدرجة تجمد الحليب أهمية كبيرة في الكشف عن الغش بإضافة الماء، وتحديد نسبة هذا الغش بدقة تامة. درجة تجمد الحليب هي درجة الحرارة التي يتحول عندها الحليب من الحالة السائلة إلى الصلبة.

وتوجد عدة طرائق لتقدير درجة تجمد الحليب، جميعها صعبة الاستخدام بطريقة عملية في الاختبارات الروتينية، كما أنها تحتاج إلى دقة زائدة وإلى أجهزة خاصة كالجهاز المسمى Hortvet Cryoscope (الطريقة الآلية)، أوإلى أدوات ذات مواصفات معينة وخبرة كبيرة لإجراء عملية القياس (الطريقة القديمة) ونظراً لعدم توفر الأجهزة والأدوات اللازمة لإجراء هذا الاختبار في معظم المخابر، ووجود طرائق أسهل للكشف عن غش الحليب بإضافة الماء، فلن نشرح هذا الاختبار.

- **اختبار لزوجة الحليب :** وهواختبار لايجرى على الحليب السائل إلا نادراً، إلا أنه يجرى بكثرة على الحليب المعقم والمكثف وعلى أنواع القشدة، فزيادة لزوجة هذه المنتجات، تدل على زيادة جودتها. والحليب الطبيعي ذولزوجة تعادل 2 سنتي بواز تقريباً على درجة 20 درجة مئوية، وهي أعلى لزوجة من الماء. وتختبر لزوجة منتجات الحليب السائلة بطرق عديدة أسهلها طريقة الماصة Pipette Method التي سنشرحها فيما يلي :

اولاً : الأجهزة اللازمة :

- ماصات قياسية سعة 100 مل، متشابهة تماماً.
- موازين حرارة.
- حمامات مائية لضبط درجة حرارة العينات على الدرجة المطلوبة.

ثانياً : طريقة العمل :

- تضبط درجة حرارة العينات على الدرجة 15.6 درجة مئوية.
- تغسل الماصة المراد استخدامها 2–3 مرات بالعينة وتفرغ. ثم تملأ الماصة حتى العلامة 100 مل.
- يحسب عدد الثواني التي يستغرق تفريغها وهي شاقولية تماماً.
- كلما زاد الزمن اللازم لتفريغ العينة كانت أكثر لزوجة.

بهذه الطريقة يمكن مقارنة لزوجة العينات المختلفة للمنتجات المختلفة (خاصة القشدة)،كما يمكن تحويل اللزوجة إلى لزوجة نسبية، بتقدير زمن تفريغ 100 مل ماء

على نفس درجة الحرارة، ثم تقسيم زمن تفريغ القشدة، على زمن تفريغ الماء (باستخدام نفس الماصات).

3- بعض الاختبارات الكيميائية للحليب :

1 : **اختبار حموضة الحليب:** للحكم على حموضة الحليب عدة طرق، منها الكيفي ومنها الكمي، وهي :

1 : الطرق الكيفية لقياس حموضة الحليب : تسمح هذه الطرق بمعرفة صلاحية الحليب للاستلام أولتصنيع منتج معين من عدم صلاحيته، ولكنها لا تمكن من معرفة الحموضة الحقيقية له، وأهمها :

3-1-1 :**اختبار الثبات الكحولي :** الحليب الطبيعي الطازج لا يتجبن بالكحول، إلا بعد ارتفاع حموضته عن حد معين، ولهذا الاختبار نوعان :

اولاً:اختبار الكحول البسيط :

يمزج حجم واحد من الكحول 68% حجماً،مع حجم واحد من الحليب، ثم يخض المزيج جيداً ويترك ليهدأ،فإذا لم يتشكل أي راسب، يمكن اعتبار الاختبار سلبياً.ويلاحظ أن زيادة حموضة الحليب عن (9=SH) يؤدي إلى جعل اختبار الكحول البسيط إيجابياً، كما يلاحظ وجود أجهزة يمكن بواسطتها إجراء هذا الاختبار بسرعة على رصيف الاستلام

الثاني:اختبار الكحول المضاعف :

يمزج حجمان من الكحول 68% مع حجم واحد من الحليب، فإذا حدث تجبن (أية رواسب)، كان الاختبار موجباً. ولا يكون الاختبار موجباً في الحليب الطبيعي إلا إذا كانت درجة الـSH للحليب أكبر من 8 غير أن حدوث ترسبات في الحليب لا يدل دائماًعلى ارتفاع حموضته، بل قد يدل على أنه حليب غير طبيعي، لأن الحليب يتجبن في الحالات التالية :

أ- اختلال توازن الأملاح المعدنية فيه، كأن ترتفع نسبة الكالسيوم والمغنسيوم.

ب-إذا كان الحليب لبأ أوسرسوباً.

ت-في حالة إصابة الأبقار بالتهاب الضرع.

ث-في حالة احتوائه على عدد مرتفع من الجراثيم المفرزة لأنزيم الرينين.

ج- إذا كان الحليب من أواخر فصل الحلابة.

3-1-2 : **اختبار الأليزارين** : وهو اختبار مركب من اختبار الكحول واختبار الأليزارين. والأليزارين Alizarin (الاسم العلمي Dioxyantrachinone) مشعر ذو لون بني، يعطي ألواناً مختلفة، حسب حموضة الحليب، مما يساعد على معرفة النسبة المئوية التقريبية لحموضته.

اولا : المواد اللازمة :

أ- أنابيب اختبار 150×19 ملم، يفضل أن تكون ذات حلقات عند 5 و10 مل.

ب- محلول الأليزارين في الكحول، ويحضر بوضع0.2 جم من الأليزارين في دورق معياري 100 مل، ثم يعبأ الدورق بالكحول الأثيلي 68% وزناً، أو75% حجماً، حتى العلامة، ويرج حتى تمام الذوبان.

ثانياً : طريقة العمل :

أ- يوضع 5 مل من العينة في أنبوبة اختبار، ويضاف إليها حجم مماثل من محلول الأليزارين.

ب-يمزج الخليط جيداً بقلب الأنبوبة عدة مرات.

ت-يلاحظ اللون ووجود تجبن أوقطع من الخثرة، وحجم هذه القطع إن وجدت.

ثالثاً : التقييم : يقارن لون الخليط، ووجود قطع متخثرة فيه، بالجدول التالي :

اللون	حجم قطع الخثرة	النسبة المئوية للحموضة
ليلكي	-	حتى 0.14%
أحمر باهت	-	0.14-0.17%
أحمر بني إلى بني	قطع كبيرة	0.17-0.2%
بني مصفر	قطع كبيرة	أكثر من 0.2%

وإذا تجبنت للعينة، وكانت حموضتها منخفضة، فإن ذلك يعود إلى الآتي :

أ- احتواء العينة على جراثيم تنتج أنزيمات الرنين (المنفحة).

ب-العينة من أبقار مصابة بالتهاب الضرع، لأن تفاعل الحليب في هذه الحالة يكون قلوياً، ويعطي بهذا الاختبار لوناً بنفسجياً أو أرجوانياً.

ويلاحظ أن الحليب الذي يحصل له تجبين (سواء أكانت قطع الخثرة كبيرة أم صغيرة) في هذا الاختبار، لايتحمل المعاملات الحرارية.

2: اختبار التجبن بالغليان Clot on Boiling: يؤخذ 5 مل من عينة الحليب في أنبوبة اختبار، وتسخن في حمام مائي لدرجة الغليان، ثم تختبر لملاحظة حدوث تجبين بها. ويلاحظ أن الحليب الذي تصل درجة الـSH له إلى 12 فما فوق يتجبن بالغليان، وبالتالي فهو لا يصلح لصناعة منتجات الحليب التي ستعامل بشدة بالحرارة كالحليب المعقم والمكثف والمجفف وأحياناً المبستر.

2:أهم الطرق الكمية لتقدير حموضة الحليب:

1 : **تقدير رقم الحموضة (SH) أوما يسمى Soxhelt-Henkel Number**

اولاً : رقم الحموضة SH : هوعدد السنتيمترات المكعبة من الصودا الكاوية ربع عيارية واللازمة لإرجاع لون 100 ملل من الحليب على اللون الزهري بوجود الفينول فتاليئين.

الأدوات اللازمة :

أ- جهاز معايرة لتقدير درجة الـ SH، تبين تدريجاته0.2 سم 3، ويفضل الجهاز الأصلي الذي صممه الدكتور Gerber وقد تستخدم سحاحة عادية لذلك تبين تداريجها 0.05 سم 3.

ب-جفنة من البورسلان سعة 50 -100 مل.

ت-دوارق آرلنماير واسعة الفوهة سعة 250 مل.

ث-ماصات سعة (5،2،25، 1 0.5) مل.

الكيميائيات اللازمة :

أ- محلول صودا كاوية ربع نظامي (0.25 ن).

ب-محلول الفينول فتالين 2% ويحضر بإذابة 2 جم من دليل الفينول في دورق معياري 100 مل ثم يعبأ الدورق بالكحول الإثيلي 98% إلى العلامة 100.

ت-محلول كبريتات الكوبالت النقي 5%، ويحضر بإذابة 5 جم من كبريتات الكوبالت البللورية CoSO4. 7H2O بالماء المقطر حتى 100 مل.

طريقة إجراء الاختبار :

تعدل حرارة العينة إلى الدرجة 20 درجة مئوية، وتمزج جيداً مع تجنب تكوين رغوة أثناء ذلك، كما يحضر لون الشاهد أوالمقارنة، بإضافة 0.5 مل من محلول الكوبالت إلى 25 مل من عينة الحليب في جفنة من البورسلان. ويجب أن يجدد اللون كل 3 ساعات.

يؤخذ 25 مل من العينة، ويضاف له 1 مل من دليل الفينول فتالين، ثم تعاير بالصودا الكاوية 0، 25 نظامي، مع الرج المستمر، حتى يصير لون العينة هو لون الشاهد، ويجب ألا تزيد المعايرة عن نصف دقيقة. وفي العادة تجرى تجربة أولية، يعرف منها عدد الميلليمترات اللازمة للمعايير من الصودا الكاوية بصورة تقريبية، ثم تعاد التجربة، فتضاف معظم الكمية بسرعة في البداية، ثم يضاف الباقي على شكل نقط حتى الوصول إلى اللون المطلوب.

ويلاحظ أنه في حال استخدام الجهاز الأصلي يمكن قراءة درجة الـ SH من سحاحة المعايرة مباشرة. أما إذا لم يستخدم الجهاز الأصلي، فيضرب عدد السنتيمترات من الصودا الكاوية 0.25 نظامي، التي لزمت لمعايرة حموضة الـ25 مل من عينة الحليب في أربعة، ويكون الناتج هورقم الـ SH للعينة.

2 : تقدير نسبة الحموضة :

تقدر نسبة الحموضة في الحليب ومنتجاته السائلة، حسب المواصفات السورية لعام 1981 و1993 بالطريقة التالية :

أساس الطريقة :

تعتمد الطريقة على معايرة الحموضة الموجودة في الحليب، بواسطة قلوي معروف النظامية، ويعبر عن النتيجة بنسبة مئوية للحمض مقدراً كحمض لبن (حمض لاكتيك).

خطوات العمل :

أ- يوضع محلول الصودا 0.1 ن في السحاحة.

ب-يوضع في دورق أرلنماير 20 مل من عينة الحليب.

ت-يضاف إلى الحليب في الدورق 3-4 نقاط من دليل الفينول فيتالين وتمزج.

ث-يعاير الحليب بالصودا الكاوية 0.1 ن مع التحريك المستمر حتى ظهور اللون الزهري وثباته 10 ثوان على الأقل.

ج- تسجل كمية القلوي 0.1 ن التي استهلكت في المعايرة.

ح- تكرر العملية ثانية لنفس العينة، ويحسب متوسط الصودا التي استهلكت.

حساب نسبة الحموضة :

لتر من القلوي 0.1 عياري يعادل لتراً من حمض اللبن 0.1 غ. وبما أن الوزن الجزيئي لحمض اللبن يساوي 90 جم، وهوأحادي التكافؤ (أي أن المحلول النظامي منه يساوي الوزن الجزيئي مذاباًفي لتر واحد)، فإن 1 مل من الصودا الكاوية 10 غ تعادل 9÷1000 غ من حمض للبن أو0.009 غ منه، وتكون نسبة الحموضة لعينة الحليب :

س×0.009 ×100

ح

س = عدد ميلليمترات القلوي 0، 1 نظامي، الذي لزم لمعايرة حموضة العينة.

ح = حجم عينة الحليب بالميلليمترات.

ويلاحظ أنه في هذه الحال اعتبر أن وزن 1 مل من الحليب في كل مرة يعادل 1 غ، وهذا غير دقيق لأن كثافة الحليب أشد من كثافة الماء. لذلك تكون النتيجة أكثر دقة عند استخدام المعادلة التالية :

س × 0، 009 × 100

نسبة الحموضة = ----------

و

و= وزن العينة، ويمكن حسابه بضرب الحجم المعاير (20 هنا) في كثافة الحليب، التي يمكن حسابها باستخدام اللاكتومتر.

تقدير حموضة الحليب بالدرجات الدورنيكية :

تقدر حموضة الحليب في بعض بلدان أوربا، بما يسمى بالدرجات الدورنيكية Dornic Progress. والدرجة الدورنيكية = 0، 1 جم حمض اللبن في اللتر، فالحليب الذي تبلغ نسبة الحموضة فيه 0، 2% يحتوي على حوالي 2 غ حمض اللبن في الليتر، وتكون حموضته بالدرجات الدورنيكية 2 ÷ 0، 1 =20 درجة. كما أن كل درجة SH واحدة تعادل 2، 25 درجة دورنيكية.

تقدير كثافة الحليب النوعية باستخدام لاكتومتر كويفين :

الهدف تقدير كثافة الحليب لكشف غشه بإضافة الماء

الأدوات المستخدمة :

1- مقياس الكثافة لاكتومتر كويفين.

2- أنبوب زجاجي أسطواني سعته 500 – 100 مل كي يسمح للمقياس بالتحرك والطفوبسهولة.

3 – ميزان حرارة مدرج ودقيق (عندما لا يحتوي مقياس الكثافة اللاكتومتر على ميزان حراري).

طريقة العمل :

1 – درجة حرارة الحليب بما يتناسب ودرجة حرارة لاكتومتر (15.5 م °) بحيث تكون ضمن المجال 10 – 20 م° ثم اخلط وحرك للحصول على عينة ممزوجة جيداً.

2 – ضع الحليب في الأنبوب الزجاجي بسكب الحليب بهدوء على جدار الأنبوب حتى يصل الحليب إلى الحافة العلوية للأنبوب.

3 – ضع اللاكتومتر المجفف والنظيف ضمن الأنبوب الزجاجي واغمره حتى آخر تدريجة مع تجنب ملامسته قاع الأنبوب ودوره واتركه يطفوحتى يستقر ثم اقرأ التدريجة عند سطح الحليب.

4 – إذا كانت درجة حرارة الحليب 15.5 درجة مئوية، فإنه يمكن معرفة الكثافة النوعية مباشرة فإذا كانت القراءة 32 فنقول أن كثافة العينة 1.032 أو الكثافة :

$$\text{قراءة اللاكتومتر} = 1 + \frac{32}{1000}$$

أما إذا كانت درجة الحرارة أعلى أوأقل من 15.5 م° فيجب أن تتم عملية التصحيح لقراءة اللاكتور كما يلي :

1 – يضاف 0.2 درجة لكل ارتفاع 1 درجة مئوية عن درجة الحرارة المطلوبة (15.5° م).

2 – يطرح 0.2 درجة لكل انخفاض 1 درجة مئوية عن درجة الحرارة المطلوبة (15.5° م).

3 – لاتعدل القراءة إذا كانت درجة حرارة الحليب أعلى أو أقل من خمس درجات عن درجة الحرارة الخاصة بمقياس الكثافة في حالة لاكتومتر كويفين (15.5 ± 5 م°).

مثال عند قياس كثافة حليب باستخدام لاكتومتر كويفين كانت القراءة 32.

ودرجة حرارة العينة 19.5 م°، فما هي الكثافة الحقيقية للعينة.

19.5 – 15.5 = 4 درجة مئوية.

4 x 0.2 = 0.8 تضاف هذه القيمة إلى 32

0.8 + 32 = 32.8 القراءة المعدل وتصبح :

قراءة اللاكتومتر المعدلة 32.8

$$\text{الكثافة} = 1 + \frac{32.8}{1000} = 1.0328$$

طرائق الفحوص الكيميائية للحليب
Methods of milk chemical examination

تقدير نسبة الدسم : يوجد عدة طرق لتقدير نسبة الدسم في الحليب ومنتجاته السائلة، أسهلها وأسرعها طريقة جربر Geber، وهي الطريقة المعتمدة في المواصفات السورية.

الأجهزة والأدوات اللازمة :

أ- أنابيب جربر الخاصة المدرجة بالتدريج المناسب (حتى 10%). الشكل رقم -92

الشكل رقم - 92 -

ب- السدادات المطاطية الخاصة بأنابيب جربر.

ت- ماصة سعة 1 مل لأخذ 1 مل من كحول الإيمايل.

ث- ماصة سعة 10 مل لأخذ 10 مل من حمض الكبريتيك الكثيف، ويجب أن تكون مجهزة بفقاعة أمان

ج- ماصة سعة 11 مل لأخذ الحليب.

ح- مثفلة (طرد مركزي)، بسرعة 1000 -3000 دورة /دقيقة.الشكل رقم -93-

الشكل رقم - 93 -

خ– حمام مائي، توضع به أنابيب جرير بحيث تكون سداداتها إلى الأسفل، تضبط حرارته على 65 درجة مئوية.

المحاليل اللازمة :

أ– حمض الكبريتيك كثافة 1.825.ب–كحول الايمايل، كثافة 0.810.

خطوات العمل :

أ– توضع 10 مل من حمض الكبريتيك في أنبوبة جرير.

ب– تخلط عينة الحليب جيداً حتى تصبح متجانسة، وتضبط حرارتها على 27 درجة مئوية ثم يؤخذ منها 11 مل بالضبط بواسطة الماصة وتفرغ في أنبوبة جرير فوق حمض الكبريتيك بهدوء، على أن يوضع الطرف السفلي للماصة داخل عنق الأنبوبة ملامساً للجدار (وليس للعنق)، ويترك الحليب لينزلق ببطء على هذا الجدار. ويجب عدم حدوث اختلاط بين الحليب والحمض، وعدم ترطيب عنق أنبوبة جرير بالحليب.

ت– يضاف 1 مل من الكحول الإميلي إلى محتويات أنبوبة جرير، مع ملاحظة عدم ترطيب عنق الأنبوبة بالكحول.

ث– تقفل النبيبات بالسدادات المطاطية بعد التأكد من جفاف أعناقها من الداخل.

ج– ترج أنابيب جرير، مع مراعاة مسكها بمنشفة، لأن حرارتها ترتفع أثناء ذلك، ويستمر في الرج حتى تذوب قطع الخثرة تماماً. ويستحسن أن يتم رج النبيبات بالجهاز الخاص اليدوي أوالآلي.

ح– توضع أنابيب جرير متقابلة في التجاويف الخاصة في صينية الطرد المركزي (المثقلة)، بحيث يكون القسم المدرج نحومركز الدوران، وأن يكون عدد النبيبات زوجياً ومتقابلاً في المثقلة للمحافظة على توازنها أثناء الدوران.

خ– تدار المثقلة 10–15 دقيقة، ثم يقطع التيار لتقف تدريجياً.

د– ترفع النبيبات على أن تبقى ساقها المدرجة إلى الأعلى دائماً، وتوضع في الحمام المائي (65 درجة مئوية) 3–5 دقائق، مع مراعاة عدم رجها أوقلبها، وأن يكون سطح الماء في الحمام المائي أعلى من سطح الدسم داخل النبيبات.

ذ– يعدل موقع عمود الدسم، بحيث يكون أسفل تقعر الانفصال مقابلاً لصفر التدرج، وذلك بدفع السدادة للداخل أوسحبها للخارج.

ر- عند القراءة يجب أن يكون الجزء المدرج بوضع شاقولي، وخط القراءة بمستوى النظر.

ز- تعاد أنابيب جربر إلى المثفلة بعد ضبط السدادات، وتعود عملية التثفيل كما ورد سابقاً، تنتقل النبيبات إلى حمام مائي لمدة 3-4 دقائق. فإذا لوحظ زيادة في قراءة الدهن بعد العملية الثانية عن الاولى تعاد النبيبات إلى المثفلة، وتكرر العمليات كما سبق، حتى ثبات قرائتين متتاليتين.

ملاحظة : اعتمدت المواصفات السورية أيضاً طريقة قياس الدسم بواسطة الاستخلاص بطريقة روز جوتليب Rose Gotlib، وفق الاتحاد الرسمي للمحللين الكيميائيين الأمريكيين (AOAC)،الطبعة الثالثة عشر لعام 1980

4 :تقدير نسبة المواد الصلبة الكلية : تقدر في الحليب السائل بعدة طرق :

1 : طريقة التجفيف بالفرن تحت الضغط الجوي العادي :

المواد والأجهزة اللازمة :

أ- فرن تجفيف عادي يمكن ضبط حرارته على 103 ± 2 درجة مئوية.

ب-أطباق أو جفان لتقدير الرطوبة، تصنع من الزجاج أوالألمنيوم ذات أغطية.

ت-مجفف زجاجي عادي Desiccator مناسب الحجم.

ث-ماصات لأخذ العينة.

ج- رمل معامل بحمض كلور الماء HCl المركز والمغسول بعدها بالماء جيداً، ثم المحروق في الفرن على درجات حرارة عالية.

طريقة العمل :

أ- توضع كمية من الرمل المعامل في أطباق التجفيف (بمعدل 30-35غ للطبق الواحد).

ب- ثم توضع الأطباق في فرن التجفيف، على أن تكون الأطباق مفتوحة، وعلى درجة حرارة 103 ± 2 درجة مئوية، ساعتين على الأقل، حتى تجف جيداً.

ت- تنقل الأطباق بعدهاإلى المجفف الزجاجي، لتبرد إلى درجة الحرارة العادية.

ث- توزن الأطباق مع الرمل والغطاء، ويسجل الوزن وليكن الوزن (و) غ.

ج- يوضع في كل طبق 10 مل حليب ويغطى ويوزن وليكن الوزن (و1) غ.

ح- تغطى الأطباق وتوضع في المجفف الزجاجي الصغير، لكي تبرد إلى درجة الحرارة العادية، ثم توزن.

خ- تكرر عملية التجفيف في الفرن ساعة، ثم التبريد بالمجفف الزجاجي، ثم الوزن، حتى يصبح وزن الأطباق ثابتاً، أوحتى يبدأ الوزن بالزيادة، ويسجل أقل وزن للأطباق، وليكن الوزن الثابت هو(و2) غ.

ثالثاً : طريقة الحساب :

وزن العينة قبل التجفيف = (و1 – و) غ

وزن العينة بعد التجفيف (وزن المواد الصلبة في العينة) = (و2–و) غ، إذن :

كل و1 – و حليب تحتوي على و2 – و مواد صلبة كلية

كل 100 غ حليب تحتوي على س مواد صلبة كلية

$$س = \frac{(و2 - و) \times 100}{و1 - و}$$

3-4-2 : **طريقة المعادلات** : الطريقة السابقة دقيقة، وتصلح لجميع منتجات الألبان ولكنها مجهدة وتحتاج إلى وقت طويل، كما أنها غير عملية في مصانع الألبان، خاصة عند وجود عدد كبير من العينات.

ولقد أدت جهود الباحثين إلى ظهور عدد كبير من المعادلات التي يمكن بواسطتها تقدير كل من نسبة المواد الصلبة الكلية والمواد الصلبة اللادهنية. وذلك عن طريق قراءة اللاكتومتر ونسبة الدهن في الحليب.

ويجب أن يكون واضحاً أن هذه المعادلات ليست دقيقة تماماً إلا أنها طريقة سهلة وسريعة وذات دقة كافية للاختبارات الروتينية. وهذه بعضها :

اولاً : المعادلات الألمانية :

$$أ- \text{ نسبة المواد الصلبة اللادهنية} = \frac{ل.2}{4} + \frac{د}{5} + 0.55$$

$$ب- \text{ نسبة المواد الصلبة الكلية} = \frac{ل.2}{4} + 0.2\ د + 0.55$$

ل.2 = قراءة اللاكتومتر على 20 درجة مئوية.

د = نسبة الدسم %في الحليب.

ثانياً : معادلة ريشموند Richmond الأمريكية :

نسبة المواد الصلبة اللادهنية = 0، 2 د + 4/1 ل +0، 14

نسبة المواد الصلبة الكلية = 1، 2 د +4/1 ل+ 0، 14

ل = قراءة لاكتومتر الكثافة النوعية على درجة 60 ف (15، 6 م)

د= نسبة الدهن في الحليب.

ثالثاً : المعادلة البريطانية :

نسبة المواد الصلبة الكلية = ل/4 + 1، 21 د + 0، 66

حيث أن ل هي قراءة اللاكتومتر على درجة 20 درجة مئوية

باستخدام الأجهزة الحديثة : يتم حالياً قياس نسبة الرطوبة (نسبة المواد الصلبة الكلية) باستخدام أجهزة تعتمد الأشعة تحت الحمراء أودرجة التوصيل الكهربائي وغيرها. وهي طرق سريعة ولحظية في بعض الأحيان. وكل جهاز من الأجهزة المستخدمة هنا يرفق به طريقة العمل الواجب استخدامها عند استعماله.

طرق أخرى : منها طريقة كرات البلاستيك، وطريقة قرص Ackermann المعدني، ومسطرة جربر Gerber الحاسبة.

طرائق الفحوص الجرثومية للحليب

Methods of milk bacterial examinations

الاختبارات الجرثوميولوجية للحليب

أ- الطريقة المباشرة لعد الأحياء المجهرية في الحليب الخام بوساطـة:

المجهر :

تعتمد الطريقة على نشر حجم 0.01 مل من الحليب فوق سطح محدد من الشريحة الزجاجية ثم تجفف وتعامل بالزايلول لإزالة المادة الدسمة وتغمس الشريحة في الكحول، يجفف المحضر ثم يغمس في أزرق الميثلين وتفحص الشريحة بالعدسة الغاطسة الزيتية. يتم تعداد الجراثيم في الحقل المجهري، ومن ثم يتم معرفة مساحة هذا المجال وتحسب مساحة سطح انتشار الحليب على الشريحة وفي النهاية يحسب العدد الكلي في 1 مل من الحليب.

طريقة العمل :

1- نضع 0.01 مل من الحليب الممدد (مستخدماً الماصة الشعرية على الشريحة الزجاجية) وفي المركز الخاص بالشريحة.

2- ننشر الكمية على سطح المربع بانتظام بوساطة عروة الزرع الجرثومي.

3- نجفف باللهب ثم نغمس الشريحة دقيقة بالزيلول للتخلص من الدسم.

4- نجفف المحضر بترك الشريحة دقيقتين في الكحول.

5- نجفف من جديد باللهب.

6- نضيف أزرق الميثلين 2 – 4 دقائق. نتخلص من أزرق الميثيلين بغمر العدسة مرة ثانية بالكحول، نغسل بالماء ونجفف.

7- نفحص بالعدسة الزيتية ونعد الجراثيم الموجودة في الحقول ونأخذ المتوسط في الحقل.

8- نحسب العدد الكلي وفقاً للحجم المأخوذ.

ب – الطرق غير المباشرة في تقدير النوعية الجرثومية للحليب :

- **اختبار الكحول :**

من أسهل الاختبارات تطبيقاً وذلك بخلط 2 مل من الحليب مع 2 مل من الكحول 68%.

النتيجة إيجابية تخثر الحليب بشكل واضح.

النتيجة سلبية عدم تخثر الحليب

توجد علاقة بين هذا الاختبار وثباتية المعلق الغروي وهذا لا يعتمد إلا على تحمض الحليب بفعل الجراثيم.

يمكن للحليب المحتوي على نسبة مرتفعة من الكالسيوم المتأين طبيعياً أوللحليب ذي التركيب الطبيعي (خاصة الحليب في نهاية الإدرار أوالحليب الناتج عن التهاب الضرع) أن يتخثر بالكحول دون أن يكون حامضياً.

لا يزال يستخدم هذا الاختبار في المعامل لانتخاب الحليب ويمكن أن نضيف إلى الكحول دليل لرقم الحموضة PH بغية جعل الاختبار أكثر دلالة.

- **اختبار الغليان :**

يطبق هذا الاختبار بعد حفظ الحليب مدة من الزمن لتقدير نوعية الحفظ وهذا الاختبار مثل اختبار الكحول لا يعتمد إلا على حموضة الحليب ويطبق عمليا كما يلي :

1- نضع في أنبوب اختبار 2 مل من الحليب المراد اختباره.

2- نضع الأنبوب في الحمام المائي المغلي عدة دقائق.

3- نفحص الأنبوبة ونلاحظ التخثر.

النتيجة سلبية عدم تخثر الحليب.

- **اختبار التخمر :**

يلاحظ المظهر العام الناتج للعينة ويطبق كما يلي :

1- يوضع 10 مل من الحليب ضمن أنبوب معقم.

2- يوضع الأنبوب ضمن حمام مائي أوحاضنة على درجة حرارة 37 م °.

3- يلاحظ مظهر العينة بعد 12 و24 ساعة.

يعتبر الحليب جيد النوعية إذا لم يتخثر خلال 12 ساعة.

إن مظهر الخثرة المتشكلة بعد 24 ساعة يشير إلى الفعالية الجرثومية، فمثلاً :

- خثارة متجانسة جيلاتينية (تخمر لاكتيكي نقي).
- خثارة متجانسة إسفنجية مع وجود فقاعات غازية (تخمر بفعل جراثيم القولونيات) أوخثرة في طريقها إلى التحلل (تحلل بروتيني).

لقد انخفضت قيمة هذا الاختبار لأن الدلائل الناتجة تعود إلى مجموعة من الجراثيم ذات الفعالية الأنزيمية العالية وليس إلى المجموع الكلي للجراثيم.

– اختبار الترشيح :

يعتبر من الطرق المستخدمة لمراقبة النوعية الجرثومية لحليب الاستهلاك لأنه يدل على نظافة الحليب إنما ولكن لا يدل على البكتريا الموجودة.

يطبق الاختبار بإمرار 500 مل من الحليب المأخوذ بعد خلط العينة على حلقة تحتوي على قطعة من القطن الموجودة ضمن القطعة المرشحة.

تجفف القطعة ويقارن المظهر أوعدم النقاوة مما يسمح في تصنيف الحليب وسخ جداً. وسخ – قليل التلوث – نظيف – ويعطي للحليب النقاط التالية : 1 – 2 – 3 – 4.

– اختبارات إرجاع الألوان :

زمن إزالة اللون مشعر ملون بالأكسدة والإرجاع يعطي مقياساً لدرجة تلوث الحليب إنما العلاقة ليست خطية نظراً لاختلاف الفعالية الاختزالية، يستخدم حالياً نموذجان من الاختبارات :

–اختبار أزرق الميثيلين :

1– نضع في أنبوب اختبار معقم 10 مل من الحليب المراد اختباره.

2– نضيف 1 مل من محلول أزرق الميثيلين (5 مغ من أزرق الميثيلين تذوب في 100 مل من الماء المعقم).

3– نضع الأنبوب بعد تحريك الخليط في حمام مائي على درجة حرارة 37° م.

4– نراقب الأنبوب ونحركه من وقت لآخر ونسجل زمن اختفاء اللون.

– إزالة اللون في أقل من 15 دقيقة تعني أن الحليب ملوث بدرجة عالية جداً ونوعيته سيئة جداً.

– إزلة اللون خلال 15 – 60 دقيقة تعني أن حليب شديد التلوث.

– إزالة اللون بين 1 – 3 ساعات تعني أن الحليب ملوث قليلا.

– إزالة اللون في مدة أعلى من 3 ساعات تعني أن الحليب جيد وذو نوعية جرثومية جيدة للصناعة لأن العدد الكلي أقل من مليون / 1 مل.

– اختبار الريزازورين :

1– نضع في أنبوب اختبار 10 مل من الحليب المراد اختباره.

2– نضيف إليها 1 مل من محلول ريزازورين.

3- نضع الأنبوب في حمام مائي على درجة حرارة 37 م ° ساعة
نلاحظ اللون الناتج للخليط بمقارنة الألوان الموجودة على الأقراص الملونة والمرقمة من 0 إلى 6.
فالرقم 6 اللون الأزرق يتوافق مع الحليب ذي النوعية الممتازة. والرقم 0 اللون الأبيض يشير إلى أن الحليب ذونوعية سيئة جداً.
تحت تأثير الهواء يمكن أن يلاحظ عودة اللون الوردي ويمكن أن نسجل الزمن الذي يتم فيه التحول إلى اللون الوردي أو إلى اللون الأبيض.

الكشف عن المجموعات الجرثومية

1- الجراثيم المحبة لدرجات الحرارة المنخفضة :

يتم تعداد الجراثيم المحبة لدرجة الحرارة المنخفضة على إحدى الاوساط المستخدمة حسب البيئة ذات التركيب التالي :

ببتون اللحم	5 غ
حليب فرز جاف	5 غ
جليكوز	1 غ
جيلاتين	15 غ

تذاب في 1 ليتر و درجة PH= 7
تتم الحضانة على درجة حرارة 7 م° خلال 10 أيام.

2- الجراثيم المقاومة لدرجات الحرارة المرتفعة :

يعطي تعداد الجراثيم المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة. على أهمية على المستوى التطبيقي (أسباب التلوث. السلوكية إزاء المعاملات الحرارية).
تبقى العينة على درجة حرارة 63.5 م° خلال 30 دقيقة ويتم بعد ذلك تعداد الجراثيم ضمن طبق بتري يحتوي على الجليكوز على درجة حرارة 30 م° فيتم الحصول على الجراثيم المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة.

3- الكشف عن الجراثيم المتبوغة اللاهوائية المنتجة للغاز.

يمكن أن نطبق الاختبار البسيط التالي :

يسخن الحليب على درجة حرارة 85 م° 10 دقائق ضمن أنبوب معقم يحتوي على قطعة من البارفين. تتلف الجراثيم وتبقى الأبواغ، بهذه الطريقة تشكل قطعة البرافين سدادة على السطح تتم حضانة النبيبات في درجة حرارة 37 م°.

إن وجود الأبواغ يظهر في إنتاج الغاز الذي يعمل على انتفاخ طبقة البارافين.

إن البحث عن أنواع هذه العائلة أهمية خاصة في مجال علم الأحياء المجهرية الغذائية.

علماً أن الجراثيم المنتجة لهذه العائلة هي بشكل عام مضيف طبيعي أوممرض للجهاز الهضمي للإنسان والحيوان (وفقا للأنواع)

من الخصائص الهامة لأنواع هذه العائلة Entrobacteriacea ما يلي:

- عصوية الشكل
- متحركة أوغير متحركة.
- سالبة لصبغة غرام.
- هوائية أولا هوائية مخيرة.
- تخمر الجلوكوز مع أو بدون الغاز.
- تحول النترات إلى نتريت.

الكشف عن القولونيات

ينطوي تحت هذا الاسم الأنواع التالية :

الإشريكية Escherichia، الكليبسيلا Klebsiella، الأمعائياتEnterobacter.

وتعتمد الطرق المستخدمة عادة في البحث عن الأنواع القادرة على تخمير اللاكتوز بسرعة.

عملياً تستخدم البيئات التالية :

1 – الوسط السائل المحتوي على اللاكتوز وأملاح الصفراء والأخضر اللامع تكشف عملية التخمر بانطلاق الغاز الذي يمكن ملاحظته و تغير لون المشعر.

2– البيئة الصلبة والمكونة من دي أوكسي كولات اللاكتوز آجار.

تحرض عملية التخمر تحول لون الدليل (الأحمر المتعادل).

ان المستعمرات المتشكلة من جراثيم القولونيات تكون ملونة بالأحمر الغامق.

تحضير البيئة السائلة :

ماء مقطر 1000 مل

ببتون	10 غ
لاكتوز نقي	10 غ
أملاح الصفراء	16 – 20 غ أو 200 مل من محلول أملاح الصفراء 10 **%**

- أذب هذه المكونات في الماء مع التسخين بلطف
- نظم رقم الحموضة PH على 7 باستخدام بروم تيمول الأزرق كدليل (تحول إلى أزرق مخضر) ثم رشح.
- أضف 10 مل من محلول كحولي للأخضر اللامع 0.133 **%**
- وزع 10 مل من البيئة في أنابيب 16 x 160 مم مع إدخال أنابيب درهم Durham ضمن كل أنبوب.
- عقم على درجة حرارة 118 م ° 20 دقيقة.

وسط مضاعف التركيز :

100 مل من الماء ضاعف كمية الببتون واللاكتوز والأملاح ومحلول الأخضر اللامع ووزع الوسط بمعدل 5 مل في الأنبوب.

بالنسبة لتحضير البيئة تابع بقية المراحل مثل وسط بسيط التركيب.

تحضير البيئة السائلة :

النموذج الاول :

ببتون	10 غ
لاكتوز	10 غ
دي أكسي كولات الصوديوم	0.5 غ
كلور الصوديوم	5 غ
ليمونات الصوديوم	2 غ
آجـار	15 غ
الأحمر المتعادل	0.03 غ

النموذج الثاني :

ببتون	10 غ
لاكتوز	10 غ
دي أوكسي كولات الصوديوم	1 غ
كلور الصوديوم	2 غ
فوسفات ثنائية البوتاسيوم	2 غ
ليمونات المعدن	1 غ
ليمونات الصوديوم	1 غ
آجـار	15 غ
الأحمر المتعادل	0.03 غ

بالنسبة لـ 100 مل من الوسط نستخدم 4.5 غ من الاول و4.25 غ من الثاني عند استخدام أحد النموذجين إن كمية الوسط أوالبيئة المستخدمة ستدخل ضمن 200 مل من الماء المقطر وترتفع درجة الحرارة حتى الغليان وتوزع ضمن أنابيب بمعدل 12 مل ضمن أنابيب

18 x180 ملم وبمعدل 4 مل ضمن أنابيب 16 x160 مم.

طريقة العمل بالنسبة للبيئة السائلة :

1- نضيف مباشرة المادة المراد تحليلها في الأنابيب وفق التمديد المناسب.

2- يجب أن يلقح كل حجم بشكل مضاعف وتوضع الأنابيب في حاضنة بدرجة حرارة 31 + 1 م ° / 48 ساعة.

بالنسبة للبيئة الصلبة :

1- نحضر العينة المراد تحليلها وفق التمديد المطلوب.

2- نضع محتويات كل أنبوب ضمن طبق بتري.

3- نضيف الوسط قبل تصلبه (45-48 °م) و نمزجه مع العينة و نتركه ليتصلب.

4- نضع أطباق البتري في الحاضنة على درجة حرارة 37 م° خلال 22 – 24 ساعة.

النتائج :بالنسبة للبيئة السائلة :

نسجل وجود أوغياب انطلاق الغاز في الكأس القصير.

يدل وجود الأندول على قدرة بعض الجراثيم على تمثيل الحمض الأميني تربتوفان.

بالنسبة للبيئة الصلبة :

تكون مستعمرات القولونيات المشكلة على شكل مستعمرات حمراء غامقة ذات قطر أعلى من $\frac{1}{2}$ مم يتم تعدادها باستخدام عداد المستعمرات وتحمل النتيجة إلى 1 مل من المادة أومستحلبها.

البحث عن الإشريكية القولونية E.coli

يدل وجود الإشريكية القولونية E.coli في الحليب ومنتجاته على التلوث وتسبب هذه الجراثيم العديد من المشكلات الصناعية إذ تؤدي إلى استخدام الأجبان نتيجة تخمر اللاكتوز وإنتاج الغازات.

لقد استخدم اختبار Ei jkman المعدل من قبل Maekenize يعتمد هذا الاختبار على الخاصية التي تملكها الإشريكية القولونية E.coli بشكل عام في إنتاج الأندول وتخمر اللاكتوز بعد تطبيق عملية الحضانة على درجة حرارة 44 م° ± 2 م ° خلال 48 ساعة.

تحضير البيئة :

آ – ماء يحتوي على الببتون :

10 غ من ببتون خال من الأندول.

5 غ من كلور الصوديوم.

1000 مل من الماء المقطر.

- تذاب هذه المكونات في الماء مع التسخين اللطيف.
- اضبط رقم الحموضة باستخدام بروم وثيمول الأزرق كدليل (ازرق أخضر) ثم رشح.
- وزع المحلول الناتج في أنابيب 160 16x مم بمعدل 5 مل في الأنبوب.
- عقم في المعقم على درجة حرارة 120 م° خلال 20 دقيقة.

ب – البيئة السائلة المستخدمة في الكشف عن القولونيات Coliformes

طريقة العمل : يتم البحث عن الإشريكية القولونية E. coli اعتباراً من الأنابيب التي انطلق منها الغاز (تخمر لاكتوز ايجابي) على البيئة السائلة على درجة حرارة 31 ± 1 م° عند البحث عن جراثيم القولونيات.

من كل واحد من الأنابيب الإيجابية للاكتوز يلقح بشكل متلازم على أنبوب البيئة السائلة في اللاكتوز مع أملاح الصفراوية والأخضر اللامع. ومن جهة أخرى على أنبوب من الماء المحتوي على الببتون.

توضع الأنابيب في حاضنة على درجة حرارة 44 ± 2 م° خلال 48 ساعة.

النتائــج :

يبحث عن وجود أوعدم وجود انطلاق غاز co^2 في البيئة المحتوية على اللاكتوز والأملاح الصفراوية والأخضر اللامع.

يختبر وجود الأندول في الأنابيب المحتوية على الببتون وفي حال كون الاختبار إيجابيا فإنه يحكم على وجود الإشريكية القولونية E. coli.

تعداد الفطور والخمائر

تحضير البيئة : جيلاتين مع تيراميسين أو جيلاتين OGA

مستخلص الخميرة	5 غ
جلوكوز	20 غ
آجـار	20 غ
ماء مقطر	1000 مل

أذب هذه المواد مع التسخين في حمام مائي مغلي ثم وزع الخليط ضمن أنابيب بمعدل 12 مل أوضمن دورق بمعدل 100 مل.

عقم في المعقم على درجة حرارة 120 م ° خلال 15 – 20 دقيقة. تتم إضافة التيراميسين قبل صب الأطباق.

طريقة العمل :

نضع 1 مل من العينة المراد تحليلها وفق التمديد المختار ضمن طبق بتري معقم ثم نضيف محتويات الأنبوب ضمن طبق البتري

نحضر محلول تيراميسين 1 مغ 1 مل

نضيف 9 مل من بيئة جيلوز ونبرد حتى 45 م° ثم نضيف 1 مل من تيراميسين.

نضع الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 20 – 25 م° 5 أيام.

النتائج :

نعد مستعمرات الفطور والخمائر الموجودة في الأطباق ونسجل النتائج في 1 مل من المادة.

الخمائر موجودة على شكل مستعمرات كبيرة الحجم.

الفطور موجودة على شكل مستعمرات معزولة.

البحث عن المضادات الحيوية :

وجود المضادات الحيوية في الحليب ومنتجاته ناتج عن استخدام هذه المواد في معالجة الحيوانات.

لوجود المضادات الحيوية تأثير على تكنولوجيا الألبان لإعاقتها عملية التخمر بتثبيطها فعالية بعض الأنواع الجرثومية

يمنع وفق التشريعات والأنظمة وجود المضادات الحيوية في الحليب المعروض أوالمقدم من قبل المنتج.

يعتمد البحث عن المضادات الحيوية على الطرق البيولوجية ومن أكثر الطرق استخداماً الطريقة المستخدمة والمعتمدة على تغيرات استقلاب الجراثيم اللبنية.

و هناك أجهزة حديثة يمكنها الكشف عن ثمالات بعض أنواع الصادات الحيوية في الحليب خلال دقائق.

تغيرات استقلاب الجراثيم اللبنية :

المبدأ : يقارن نمو ونشاط الجراثيم اللبنية في حليب شاهد مع العينة المراد اختبارها وضمن عينة أضيف إليها البنسليناز مع تلقيح أوإضافة نوع من الجراثيم اللبنية الحساسة للبنسلين.

الانتشار السريع يسمح بالحصول على النتيجة المطلوبة خلال زمن قصير، إن نمواوتثبيط الجراثيم اللبنية المستخدمة يصبح بشكل محسوس عند استخدام دليل ملون يكشف في حالة زوال اللون بفعل الجراثيم وبشكل عام يستخدم جراثيم العقدية أليفة الحرارة Str. Thermophilus

تحضير العينة :

1- محلول بنسليناز أذب مع التحريك البسيط حبة واحدة من بنسلينازفي 10مل ماء مقطر.

2- محلول ريزازورين أذب مع التحريك قطعة ضمن 50 مل من ماء مقطر أو0.5 غ من بودرة ريزازورين ضمن 100 مل من ماء مقطر.

3- حليب فرز شاهد، أوأذب مع التحريك 10-12 غ من حليب الفرز المجفف من النوعية الجيدة خال من الجراثيم في 100 مل من الماء المقطر.

سخن إلى الدرجة 45 م° وتأكد من الذوبان الكامل لبودرة الحليب.

4- مزرعة الجراثيم اللبنية سلالة من الجراثيم اللبنية الحساسة للبنسلين.

5- أنابيب معقمة 180 X 18

6- حليب فرز معقم (120 م° / 20 دقيقة)

عند الاستخدام ضع 7.5 مل من الحليب ضمن الأنابيب 180 X 18.

طريقة العمل :

1- أدخل 10 مل من الحليب المراد اختباره في اثنين من الأنابيب المعقمة A^2. A^1 وأيضاً 10 مل من الحليب الفرز الشاهد ضمن اثنين من الأنابيب المعقمة المرقمة T^1. T^2.

2- ضع الأنابيب الأربعة في حمام مائي مغلي خلال 5 دقائق وبرد.

3- أضف 3 نقاط من محلول البنسليناز في الأنابيب A^2. T^2.

4- اترك الأنابيب 30 دقيقة في درجة حرارة :

45 م° للملبنات Lactobacillus

37 م° للعقديات Streptococcus

5- لقح الأنابيب الأربعة بالسلالة الحساسة بمعدل 2.5 % وللوصول إلى ذلك أضف 2.5 مل من بادئ بكتريا اللاكتيك الحساس إلى 7.5 مل من الحليب الموجود في الأنبوب المعقم. حرك جيداً أوأضف 1 مل من الخليط الناتج الحاصل من الأنابيب الأربعة.

6- أضف 1 مل من محلول ريزازوين ضمن كل واحد من الأنابيب الأربعة.

7- ضع الأنابيب في حمام مائي منتظم على درجة حرارة 45 م° أو 37 م° ومن النوع المستخدم حتى تحول لون الريزازورين ضمن أحد الأنابيب.

تفسير النتائج :

تحول اللون يدل على إرجاع الريزازورين فإذا حدث في نفس الوقت على الأنابيب A^2.
A^1 وكذلك $T^1. T^2$ فيدل على غياب البنسلين (الحليب الخال من المضادات الحيوية).

تحول اللون في $T^1. T^2$ والأنبوب A^2 فقط يدل على (وجود البنسلين).

تحول اللون لا يتم في $A^1 .A^2$ أي لا تحدث عملية إرجاع الريزازورين ولكنه يتم فقط في الأنابيب T^2و T^1 (وجود كمية مرتفعة من البنسلين أكثر من عشر وحدات / مل.

طرائق الكشف عن غش الحليب

Methods of investigation milk deception

مقدمة:

يوجد علاقة طردية بين نسبة الدهن في الحليب الطبيعي، ونسبة المواد الصلبة اللادهنية فيه. فالحليب الذي يحتوي على نسبة منخفضة من الدهن، تكون نسبة المواد الصلبة اللادهنية فيه أيضاً منخفضة، والعكس صحيح ولكن بشكل غير طردي تماماً. فمثلاً الحليب الذي يحتوي على 4.2 % دهن لايحتوي على مواد صلبة لا دهنية تعادل مرة ونصف ما يحتويه حليب نسبة الدهن فيه 2.8 %.

ويغش الحليب بعدة طرق، منها إضافة الماء ونزع الدهن أوكلاهما معاً، وهذا ما يدعى بالغش المزدوج كما يمكن الغش بإضافة مواد كيميائية تمنع ارتفاع حموضته (بتثبيط نموالأحياء الدقيقة) أوخفض هذه الحموضة، أولإظهاره بمظهر أدسم.

2–الكشف عن غش الحليب بإضافة الماء : تنخفض نسبة الدهن ونسبة المواد الصلبة اللادهنية بنفس النسبة عند إضافة الماء إلى الحليب، كما تنخفض الكثافه النوعية وقراءة الاكتومتر. ويمكن حساب نسبة الماء المضاف إلى الحليب عن طريقتين :

الأولى : قياس درجة تجمد الحليب : يتجمد حليب الأبقار على درجة –0.55 درجة مئوية، وهذه صفة ثابتة للحليب الطبيعي لثبات ضغطه التناضحي، فإذا أضيف له الماء ارتفعت درجة تجمده واقتربت من الصفر المئوي. لذلك فإنه كلما كانت درجة تجمد الحليب قريبة من تجمد الماء، كانت كمية الماء المضافة إليه أكبر.

والحليب الذي ترتفع درجة تجمده عن –0.53 درجة مئوية يشك في أنه مغشوش بإضافة الماء، ولكن إذا ارتفعت درجة تجمده عن –0.50 درجة مئوية فالحليب مغشوش بالتأكيد. كما يمكن القول بأن كل ارتفاع في درجة تجمد الحليب مقدار 0.01 درجة مئوية يعادل إضافة 2% من وزن الحليب ماء. ويمكن أن تحسب نسبة الماء المضافة إلى الحليب البقري بإحدى المعادلتين التاليتين :

$$\text{نسبة الماء المضاف} = \frac{-0.55 - \text{درجة تجمد الحليب}}{\text{درجة تجمد الحليب غير المغشوش}} \times 100$$

درجة تجمد الحليب

اونسبة الماء المضاف =100 – ---------------------- ×100

درجة تجمد الحليب غير المغشوش

تعتبر نتائج المعادلة الاولة دقيقة جداً، غير أنه لا يمكن استخدامها في جميع الحالات، للأسباب التالية :

أ- درجة تجمد الحليب تتوقف على ما به من جزيئات ذائبة أوشوارد، لذلك فإن الحليب الذي ارتفعت به نسبة الحموضة تزداد فيه نسبة الشوارد وبالتالي يرتفع ضغطه التناضحي وتنخفض درجة تجمده، مما يجعلها مماثلة أوحتى أقل من الحليب الطبيعي، حتى ولوكان مغشوشاً بإضافة الماء.

لذلك لا تصلح هذه الطريقة لحساب نسبة الماء الذي غش بها الحليب إذا زادت درجة الـ SH عن 8، وهذا يعادل نسبة حموضة قدرها 0.18 %.

ب- ليست درجة تجمد كل نوع من أنواع الحليب –0.55 درجة مئوية، فهي لحليب الماعز حوالي –0.61 درجة مئوية ولحليب الأم –0.53 درجة مئوية وحتى لحليب الأبقار فهي ما بين –0.53 درجة مئوية إلى –0.57 درجة مئوية بمتوسط يقدر في حليب القطيع بـ –0.55 درجة مئوية.

الثاني : حساب نسبة المواد الصلبة اللادهنية في الحليب :

تنخفض نسبة المواد الصلبة اللادهنية، انخفاضاً يتوقف على كمية الماء المضافة إلى الحليب لذلك يمكن استخدام المعادلات لحساب نسبة الماء المضاف :

100 (م1 – م2)

نسبة % ماء مضاف في كل 100 كغ حليب = ------------، :

م1

م1 = %مواد صلبة لا دهنية في الحليب الطبيعي (تعتبرهذه النسبة في القطر العربي السوري 8.25 %)

م2 = % مواد صلبة لادهنية في العينة المختبرة كما يظهر عند تقديرها بها كمية

100 (م1 –م2)

كمية الماء المضاف (بالكغ) إلى كل 100 كغ حليب طبيعي =---------كغ

م1

3-الكشف عن غش الحليب بنزع الدهن أوإضافة الحليب الفرز : عند الغش بإزالة الدهن من الحليب تقل نسبته في الحليب، عن الحد الطبيعي، لذلك تستخدم المعادلة التالية في الكشف عن هذا الغش :

(د1 – د2) 100

كمية الحليب المغشوش بنزع الدهن في كل 100 كغ حليب طبيعي =-------

د1

د1 = نسبة الدهن الموجودة في الحليب الطبيعي (حسب هيئة المواصفات السورية يجب ألا تقل نسبة الدهن في الحليب البقري عن 3، 3 %)

د2 = نسبة الدهن في العينة المفحوصة

4 : الكشف عن الغش المزدوج :

عند غش الحليب غشاً مزدوجاً، تنخفض نسبة الدهن في الحليب مرتين :

الاولى عند إزالة جزء منه، والثانية نتيجة لإضافة الماء. لذلك تحسب كمية الغش الكلية بالاعتماد على انخفاض نسبة الدهن من المعادلة التالية :

(د1 – د2) 100

كمية الغش الكلية في كل 100 كغ من الحليب = ----------

د1

لأن :

كمية الغش الكلية = كمية الماء المضاف +كمية الحليب الفرز المضاف (أوكمية الحليب المنزوع منه الدهن) وأن كمية الماء المضاف تحسب من المعادلة التالية:

(م1 –م2) 100

كمية الماء المضاف في 100 كغ من الحليب = ----------، فإن :

م1

كمية حليب الفرز المضاف = كمية الغش الكلية – كمية الماء المضاف.

كمية الحليب غير المغشوش في كل 100 كغ حليب مغشوش =100 – كمية الغش الكلية في 100 كغ حليب كما يمكن بالطريق الحسابي البسيط معرفة كمية الماء وكمية حليب الفرز المضافة إلى كل 100 كغ حليب طبيعي.

5: اختبار وجود كاربونات الصوديوم في الحليب :

يلجأ بعض منتجي الحليب لإضافة كربونات الصوديوم Na2Co3، لتعديل الحموضة الزائدة ومنع ارتفاعها، لأن لهذه تفاعلاً قلوياً.

يتم الكشف عن كربونات الصوديوم، بأخذ 10 مل من الحليب، ويضاف إليها 10 مل من الكحول 95 % ثم يضاف للمزيج 2–3 نقاط من محلول حامض الروزاليك 1% في الكحول ويتم الرج جيداً. فإذا تكون لون أحمر وردي كان الحليب محتوياً على الكاربونات، أما إذا بقي اللون بنياً، فإن الحليب لا يحتوي على هذه المادة.

6–الكشف عن غش الحليب بإضافة الماء الاوكسجيني H2O2 :

: المواد والأدوات اللازمة :

أ– أنابيب اختبار 10 –15 مل.

ب–محلول من مادة بارافنيلين داي أمين Para phenelenediamine في الماء 2% (وزن / حجم).

: كيفية الاختبار :

أ– أضف إلى 5 مل حليب في أنبوبة اختبار 5 مل حليب خام، ثم أضف إلى الخليط 5 نقط من محلول مادة البارافينيلين داي أمين، ثم رج الخليط جيداً.

ب–إذا ظهر لون أزرق خلال دقيقة كان الحليب محتوياً على الماء الاوكسجيني H2O2.

ملاحظة : يلاحظ أن الماء الاوكسجيني H2O2 يتحلل إلى ماء وأكسجين إذا خزن الحليب مدة طويلة أوعند معاملة الحليب بالحرارة.

7: الكشف عن غش الحليب بإضافة حامض الساليسليك Salicylic acid :

: الأدوات والمواد اللازمة :

أ– دوارق أرلنماير أوكؤوس زجاجية سعة 250 –500 مل.

ب–ماصات 25 مل أوأسطوانات مدرجة 100 مل.

ت–محلول مخفف من حمض HCl في الماء بنسبة 1–3 (حجماً).

ث–الإثير الإثيلي Ethyl ether.

ج– محلول 0.5 % من كلوريد المعدنيك المتعادل.

ح– قمع دورق ترشيح.

خ- جفنة من البورسلان.

: طريقة العمل :

أ- نضيف إلى 100 مل حليب 5 مل من محلول حمض كلور الماء Hcl.

ب-نرج الخليط حتى يتم تجبن الحليب ثم نرشح الخليط.

ت-نضيف للرشاحة 50 -100 مل من الأيثر الأثيلي ونرج جيداً للاستخلاص.

ث-نفصل طبقة الأيثر الأثيلي ونغسلها بـ 5 مل ماء مرتين.

ج- نبخر الجزء الأكبر من الأيثر الأثيلي في جفنة من البورسلان في بخار حمام مائي.

ح- نترك الباقي من الأيثر الأثيلي ليتبخر.

خ- نضيف نقطة من محلول كلوريد المعدنيك إلى ما تبقى في الجفنة، فإذا تكون لون بنفسجي كان الحليب مغشوشاً بإضافة حامض الساليسااليك.

8-الكشف عن الغش بإضافة النشاء :

يضاف النشاء للحليب خاصة بعد غشه بنزع الدهن، لزيادة لزوجته، مما يعطي المستهلك انطباعاً خاطئاً بغناه بالدهن، وللكشف عن إضافة النشاء أوالدقيق إلى الحليب يتم الآتي :

يوضع في أنبوب اختبار 3 ملل من عينة الحليب بعد مزجها جيداً ثم يسخن الحليب للغليان فوق اللهب مباشرة، وبعد أن يبرد إلى درجة حرارة الغرفة يضاف إليه نقطة من محلول اليود تركيز 1% ثم يرج الأنبوب فإذا تكون لون أزرق يختفي بالغليان ويعود عند التبريد، دل ذلك على غش الحليب بإضافة النشاء أوالدقيق.

9-الكشف عن الغش بإضافة السكروز :

يغش الحليب بإضافة السكروز لرفع لزوجته وإخفاء غشه بإضافة الماء، ويمكن الكشف عن هذا الغش كما يلي :

أ- يوضع 15 ملل من الحليب في أنبوب اختبار ويضاف إليه 1ملل من حمض كلور الماء المركز و 0.1 ملل من الريزورسينول ويرج المزيج جيداً

ب-يوضع أنبوب الاختبار في حمام مائي مغلي 5 دقائق فإذا تكون لون أحمر فهذا يدل على غش العينة بإضافة السكروز

10-الكشف عن الغش بإضافة الفورم ألدهيد :

أ- يوضع 10 ملل من عينة الحليب الممزوجة جيداً في أنبوب اختبار

ب-يضاف فوق العينة باحتراس وهدوء بعد إمالة الأنبوب 5 ملل من حمض الكبريت المركز بحيث يسيل الحمض إلى قاع الأنبوب دون أن يختلط بالحليب.

إذا تكون لون بنفسجي على السطح الفاصل بين الحمض والحليب فهذا يدل على غش الحليب بالفورم ألدهيد

- يجب أن يحتوي حمض الكبريت المضاف على شوارد كلور الحديديك أو تواجد مادة مؤكسدة أثناء الاختبار.

المصطلحات العلمية

Acid-base balance	**التوازن حمض- أساس**
Amyloidosis	**استحالة الكلية النشوية**
Anabolic metabolism	**الاستقلاب الابتنائي**
Anemia	**فقـر الدم**
Azoturia	**البيلة الآزوتية**
B	
Biliverdin	**بيلفردين**
C	
Cascade	**شلال**
Casts	**الأسطوانات**
Cholestasis	**ركود الصفراء**
Clearance test	**اختبارات التنقية**
Clinical Microbiology	**علم الجراثيم السريري**
Crisis	**نوبات**
D	
Degeneration	الاستحالة
Destruction	**تحطم**
Diabetes insipidus	**الداء السكري الكاذب**
Diabetes mellitus	**الداء السكري**
Disorders	**اضطرابات**
E	
epithelial Cast	**الأسطوانة الظهارية**
Epithelial cells	**الخلايا الظهارية**
Extrinsic	**خارجي**

F

Fatty cast	**الأسطوانة الشحمية**
Feces	**البراز**
Foam	**الرغوة**
Fungs	**الفطور**

G

Granular cast	**الأسطوانات الحبيبية**
Granulocytes	**الكريات المحببة**

H

Hemoglobin	**الخضاب**
Hemoglobinuria	**البيلة الخضابية**
Hemolysis	**تحلل الدم**
Hemolytic anemia	**فقر دم تحللي**
Hyaline cast	**الأسطوانة الزجاجية :**
Hyperglycemia	**فرط غلوكوز الدم**
Hyperinsulinism	**فرط أنسولين الدم**
Hyperkalemia	**فرط البوتاسيمية**
Hypernatremia	**فرط صوديوم الدم**
Hypochromia	**نقص الصباغ**
Hypoglycemia	**نقص غلوكوز الدم**
Hypokalemia	**نقص البوتاسيمية**
Hyponatremia	**نقص صوديوم الدم**
Hypoxemia	**نقص أكسجه الدم**

I

Indican	**الأنديكان**
Infestation	**الاحتشاء**

K

Keratocyte	**الخلايا القرنية**
Kinetic	**حركية**

L

Leucocytosis	**كثرة الكريات البيضاء**
Leukocyte	**الكرية البيضاء**
Leukopenia	**قلة الكريات البيض**
Lymph blast	**الأرومات اللمفاوية**
Lymphopenia	**نقص الكريات الليمفاوية**

M

Mastitis	**التهاب الضرع**
Metabolic acidosis	**الحماض الاستقلابي**
Monocytopenia	**قلة الوحيدات**
Myoglobine	**الميوغلوبين**
Myopathies	**اعتلال العضلات**

N

Nephrosis	**الكلاء**
Neutrophil	**العدلات**
Normonatremia	**صوديوم دم سوي**

O

Odor	**الرائحة**
Oliguria	**قلة التبول**
Osmolality	**التناضحية**

P

Pancreas	**المعثكله**
Pancreatitis	**التهاب المعثكله**
Paradoxical acid urea	**بيلة حمضية تناقضيه**
Peritubular	**حول الأنيبيبات**
Platelets	**الصفيحات الدموية**
Polyuria	**زيادة التبول**
Polyuric	**البوال**
Precipitation	**ترسيب**

Primer	**المشرع**
Promyelocyte	**الكريات طليعة النقوية.**
Proteolytic activity	**النشاط المحلل للبروتين**
Proximal tubules	**الأنيبيبات القريبة**
Pure culture	**المنابت النقية**
Pyuria	**التقيح البولي**
R	
Refractometer	**مقياس الانكسار**
S	
Schistocyte	**الخلايا المتقسمة**
Scurvy	**البثع**
Specific gravity	**الكثافة النوعية :**
Squamous cells	**الخلايا الظهارية الرصفية**
Stress	**الإجهاد**
T	
Trypsin	**التربسين**
U	
Uremia	**يوريمية**
Uremic acids	**الأحماض اليوريمية**
Urinalysis	**تحليل البول**
Urinometer	**مقياس كثافة البول**
Urobilinogen	**يوروبلينوجين**
W	
Waxy cast	**الأسطوانة الشمعية**

المراجع العربية

1-	شاهين، شريف – حداد، ابراهيم **علم الفيزيولوجيا** 1997 منشورات جامعة البعث – المعهد المتوسط الطبي البيطري
2-	العبد، أسعد – الكراد، حسن **وظائف الأعضاء /1/** 2005 منشورات جامعة البعث – كلية الطب البيطري
3-	عيسى، محسن – رجو، ابراهيم – السمير، عبد الرزاق **المراقبة الصحية للألبان ومنتجاتها** 1999 منشورات جامعة البعث – المعهد المتوسط للطب البيطري
4-	الفتحي، حسان – الخلف، وليد – الشوا، معن **علم الألبان** 2004 منشورات جامعة حلب – كلية الزراعة الثانية
5-	قطرنجي، محسن – قباوي، محمد **التشخيص المخبري** 1997 منشورات جامعة البعث – المعهد المتوسط للطب البيطري
6-	ميدع، الياس **الألبان** – القسم العملي – 1990 منشورات جامعة حلب – كلية الزراعة
7-	هبرة، ناجح – ابراهيم، سامر – **التشخيص المخبري** نظري 2006 منشورات جامعة البعث – كلية الطب البيطري

المراجع الأجنبية

1-	Bellamy, . & Olexson. D. W. (2000) **Quality Assuance Handbook for Veterinary Laboratory** Jow
2-	Coles, E. H. (1986): **Veterinary Clinical Pathology**, Fourth Ed., W. B. Saunders Company
3-	Duncan, J. R; Prasse, K.W and Mahaffey, E.A. (1994): **Veterinary Laboratory Medicine**, Third Ed, Aiwa state university press.
4-	Fischbach, F.(1996): **A Manual of Laboratory & Diagnostic Tests,** Fifth Ed, Lippincott
5-	Frandson, F.R., 1986. **Anatomy and physiology of farm animals**. Lea & Febiger. Philadelphia.
6-	Kaneko, J. J. (1989) : **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, Fourth Ed., Academic Press, Inc.
7-	Meyer, D. J. and Harvy, J. W. (1998): **Veterinary Laboratory Medicine-Interpretation and Diagnosis,** Second Ed, W. B. Saunders Company
8-	Quinn, T., 1980. **Dairy farm management.** Van Nostrand Reinhold. New York.
9-	Radostitis, O.M.; Blood, D.C. and Gay, C.C. (1994): **Veterinary Medicine**, eighth Ed, Bailliére Tindall.
10-	Ramakant, Sharma; (2006) **Microbiological Analysis of Milk & Milk Products.**
11-	Robinson R. K. (2002) **Dairy microbiology** handbook. third edition
12-	Srivastava M. K. **Hndbook on analysis of milk chemical & microbiological analysis of liquid milk** (2010) International book distribution
13-	Willard, M.D; Tvedten, H. and Turnwald, G.

	H.(1999) **Small Animall Clinical Diagnosis by Laboratory Methods,** Third Ed,