

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تصاویر مربوط به جلسات عملی قارچ شناسی

استاد مربوطه: جناب آقای دکتر اسدی

تهیه و تنظیم: مهدی محمدیان سلیم، سید اصغر زاهد

زمستان ۹۵

## روش های تشخیص در قارچ شناسی

۱. نمونه برداری
۲. آزمایش مسقیم ( تهیه گسترش و رنگآمیزی و یا مشاهده با پتاں )
۳. کشت
۴. تست های سرولوژی
۵. تلقیح به حیوانات حساس آزمایشگاهی

پوست: توسط تراشیدن لایه سطحی از کناره های ضایعه توسط اسکالپل با تیغه کند یا توسط کناره یک لام شیشه ای و در برخی موارد با استفاده از نوار چسب و یا برس سر

در ضایعات وزیکول دار پس از برداشتن پوسته سطحی از درون وزیکول نمونه برداری میگیرد

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: کاندیدا، درماتوفیت ها، مالاسزیا، تراکوسپیورون

مو: تراشیدن توسط یک اسکالپل با تیغه کند بهترین روش نمونه برداری از مناطق پوستی پوشیده از مو است. مو ها را همچنین می توان توسط یک موجین کند. نمونه باید حاوی فولیکول مو، ساقه مو و پوسته باشد.

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: میکروسپوروم، تراکوسپیورون

ناخن: نمونه برداری باید از هر نقطه از ناخن که دچار دیستروفی، شکنندگی و یا تغییر رنگ شده انجام گرفت. در مواردی که ناخن ضخیم شده است تراشه ها می بایست از سطح زبرین ناخن انجام شود.

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: اسکوبولاریوپسیس، آکرومونیوم، کاندیدا، آسپرژیلوس، فوزاریوم

غشاء های مخاطی: با استفاده از سواپ مرطوب استریل و یا استفاده از اسکالپل کند استریل از سطوح اپینیال درگیر انجام می گیرد.

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: کاندیدا، ژئوتريکوم

گوش: عفونت های قارچی گوش معمولاً خشک است به جز مواردی که با عفونت های باکتریال همراه است. روش نمونه برداری از ماد موجود در گوش توسط تراشیدن با اسکالپل کند، یا سواپ مرطوب انجام می گیرد.

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: کاندیدا، تریکوفیتون مانتاگروفیتس، اپیدرموفیتون فلوكوزوم، آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فومیگاتوس، رایزوپوس

چشم: نمونه با استفاده از تراشیدن نواحی مشکوک به کراتیت قارچی توسط اسکالپل کند انجام میگیرد.

در صورت گرفتاری ملتحمه، نمونه ها توسط سواپ تهیه می شوند

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس، کاندیدا آلبیکنس، فوزاریوم سولانی

آبse: آسپراسیون و یا باز کردن آبse توسط اسکالپل

خون: برای انجام آزمایش ۱۰ میلی لیتر از خون وریدی را به یک شیشه حاوی محیط کشت خون تلقیح می کنیم. در مورد نوزادان خون کمتری لازم است. انجام کشت از خون شریانی موقعی توصیه می شود که نتیجه چندین کشت از خون وریدی جهت رشد قارچ در یک بیمار مشکوک به سپتی سمی قارچی منفی شده باشد.

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: کاندیدا، کریپتوکوکوس و هیستوپلاسم

مغزاستخوان: نمونه توسط پزشک آسپریه می شود. مقدار نمونه ۳ الی ۵ میلی لیتر از نمونه را درون سرنگی که از قبل ۰/۵ میلی لیتر هپارین استریل ۱۰۰۰/۱ داشته می کشیم.

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: هیستوپلاسم، پاراکوسیدیوئیدس برازیلینسیس، اسپوروترویکس شنکنی، کریپتوکوکوس و کاندیدا

مایع مغزی نخاعی: نمونه گیری توسط پزشک و توسط پونکسیون نخاعی انجام می شود. نمونه ایده آل حاوی ۳ الی ۵ میلی لیتر میباشد ولی در بچه ها و نوزادان حجم کمتری نیاز است.

شایع ترین و محتمل ترین ایزوبله ها: کریپتوکوکوس نوفورمنس، کاندیدا آلبیکنس

خلط: شستشوی دهان با آب یا دهان شویه رقیق بدون قرقه کردن قبل از نمونه گیری

نمونه باید هنگام صبح بلافصله پس از برخاستن از خواب دریک محفظه استریل جمع آوری شود. تاخیر زمانی بین جمع آوری نمونه و ارسال نباید بیشتر از دو ساعت طول بکشد.

در صورتی که مجبور به نگهداری نمونه قبل از آزمایش شویم حداقل تا ۲۴ ساعت می توانیم نمونه را در یخچال نگهداری کنیم

مدفوع:

نمونه در ظرف استریل جمع آوری می شود

سواپ های رکتال درون محیط ترانسپورت ارسال می شوند

نمونه ها باید به سرعت و در ٤ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه ارسال گردند

ادرار: نمونه ادراری (٢٥ الی ٣٠ میلی لیتر) که از ادرار میانی گرفته می شود معمولاً جهت تشخیص مناسب است. تأخیر بین نمونه گیری و ارسال آن به آزمایشگاه نباید بیش از دو ساعت طول بکشد. همیشه باید از حمل نمونه در محفظه حاوی اسید بوریک خودداری نماییم زیرا این ماده تاثیر منفی در رشد قارچ دارد.

شایع ترین و محتمل ترین ایزووله ها: کاندیدا، کریپتوکوکوس

بیوپسی بافتی: این نمونه توسط پژشک تهیه شده و باید شامل مرکز و حاشیه ضایعه باشد. لازم است بافت تا زمان آزمایش درون سرم فیزیولوژی استریل و بدون هیچ ماده نگهدارنده و به طور مرطوب نگه داشته شود. برای این منظور هرگز نباید از سرم فیزیولوژی تزریقی که حاوی مواد آنتی باکتریال می باشد استفاده نمود.

سایر مایعات بدن: مایعات بدن بیشتر به منظور جدا کردن قارچ های مولد عفونت های سیستمیک تهییه می شوند. نمونه ها باید درون لوله های استریل حاوی هپارین جمع آوری شوند. مایعات شفاف را به مدت ده دقیقه با دور ۱۲۰ در دقیقه باید سانتریفیوژ کرد ته نشین در شرایط استریل با پیپت خارج و برای کشت و آزمایش مستقیم کاربرد دارد.

شایع ترین و محتمل ترین ایزووله ها: در مایعات قفسه سینه ، شکم و بافت سینوویال آسپرژیلوس و کاندیدا

## شفاف کننده ها

KOH

(dimethyl sulfoxide)DMSO

پانکراتین - ان استیل ال سیستین  
لاکتو فنل

گرم (Gram)

(Giemsa)

(Methylene blue)

تلولونیدن بلو(toluidene blue)

(lactophenol cotton blue)

کالکوفلور سفید(Calcofluor-white)

موسی کارمن مایر (Mucicarmine stain )

مركب چین(India ink)

فونتا نا ماسون سیلور (Fontana-Masson silver)

(periodic acid schiff)PAS

(Gomori Methenamine-Silver ) GMS

( Hematoxylin and eosin )H&E

کریسل فست ویولت(Cresyl fast violet)

## رنگ ها

شایع ترین و محتمل ترین ایزووله ها: آسپرژیلوس، بلاستومایسیس در ماتیتیدیس، کاندیدا، کوکسیدیوئیدیس ایمیتیس، کریپتوکوکوس، ژئوتریکوم

نمونه در ظرف استریل جمع آوری می شود

سواپ های رکتال درون محیط ترانسپورت ارسال می شوند

نمونه ها باید به سرعت و در ٤ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه ارسال گردند

ادرار: نمونه ادراری (٢٥ الی ٣٠ میلی لیتر) که از ادرار میانی گرفته می شود معمولاً جهت تشخیص مناسب است. تأخیر بین نمونه گیری و ارسال آن به آزمایشگاه نباید بیش از دو ساعت طول بکشد. همیشه باید از حمل نمونه در محفظه حاوی اسید بوریک خودداری نماییم زیرا این ماده تاثیر منفی در رشد قارچ دارد.

بیوپسی بافتی: این نمونه توسط پژشک تهیه شده و باید شامل مرکز و حاشیه ضایعه باشد. لازم است بافت تا زمان آزمایش درون سرم فیزیولوژی استریل و بدون هیچ ماده نگهدارنده و به طور مرطوب نگه داشته شود. برای این منظور هرگز نباید از سرم فیزیولوژی تزریقی که حاوی مواد آنتی باکتریال می باشد استفاده نمود.

سایر مایعات بدن: مایعات بدن بیشتر به منظور جدا کردن قارچ های مولد عفونت های سیستمیک تهییه می شوند. نمونه ها باید درون لوله های استریل حاوی هپارین جمع آوری شوند. مایعات شفاف را به مدت ده دقیقه با دور ۱۲۰ در دقیقه باید سانتریفیوژ کرد ته نشین در شرایط استریل با پیپت خارج و برای کشت و آزمایش مستقیم کاربرد دارد.

شایع ترین و محتمل ترین ایزووله ها: در مایعات قفسه سینه ، شکم و بافت سینوویال آسپرژیلوس و کاندیدا

## محیط های کشت جهت جداسازی اولیه قارچ ها

- محیط های کشت اختصاصی جهت تشخیص و مصارف متفرقه
- ۱- ژلوز استات جهت تکثیر جنسی ساکارومایسین
- ۲- ژلوز عصاره مخمر آفالسل جهت تکثیر جنسی هیستوپلاسمای پسولاتوم
- ۳- ژلوز عصاره خاک (Soil Extract Agar) جهت تکثیر جنسی بلاستومایسین در ماتنیتیدیس
- ۴- محیط آسپارژین براث جهت تهیه کوکسیدیوئیدین و هیستوپلاسمین
- ۵- ژلوزدانه برنج جهت افتراق درماتوفیت ها
- ۶- چاپکس آگار برای مطالعه کانی های آسپریلوس ها
- ۷- ژلوز سیب زمینی هویج و صفراء (PCB)
- ۸- ژلاتین آگار ۱۲ درصد
- ۹- درماتوفیت تست مدیوم (DTM)
- ۱۰- گلوكز پیتون آگار برای تشخیص پنی سیلیوم مارنفی
- ۱۱- ژلوز دیکسون
- ۱۲- ژلوز کریستنس اوره
- ۱۳- ژلوز آرد ذرت ۱ درصد گلوكز

۱- سایبرو دکستروز آگار (Sabouraud dextrose agar) حاوی سیکلوهگرمید (Cycloheximide) و کلرامفنیکل (Chloramphenicol)- (SCC)

۲- ژلوز عصاره قلب و مغز حاوی خون Brain Heart Infusion (BHI) Agar

۳- ژلوز دانه نایجر حاوی کلرامفنیکل و جنتامایسین-niger seed

## محیط های کشت جهت نگهداری قارچ ها

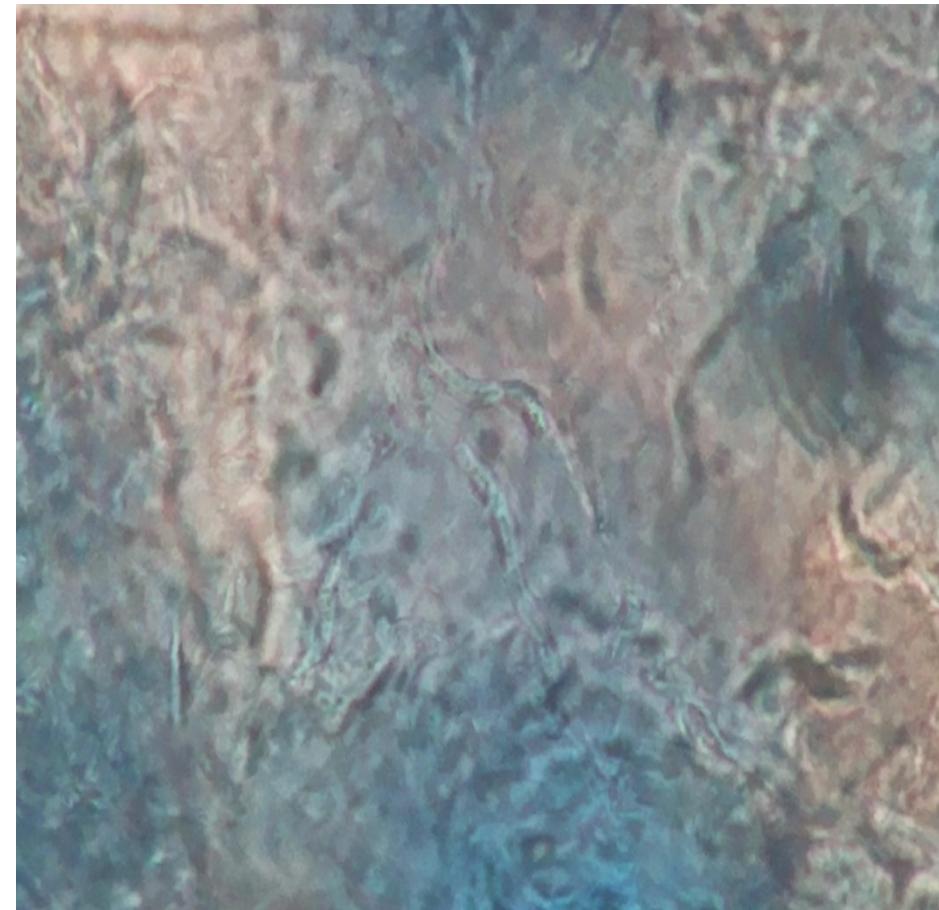
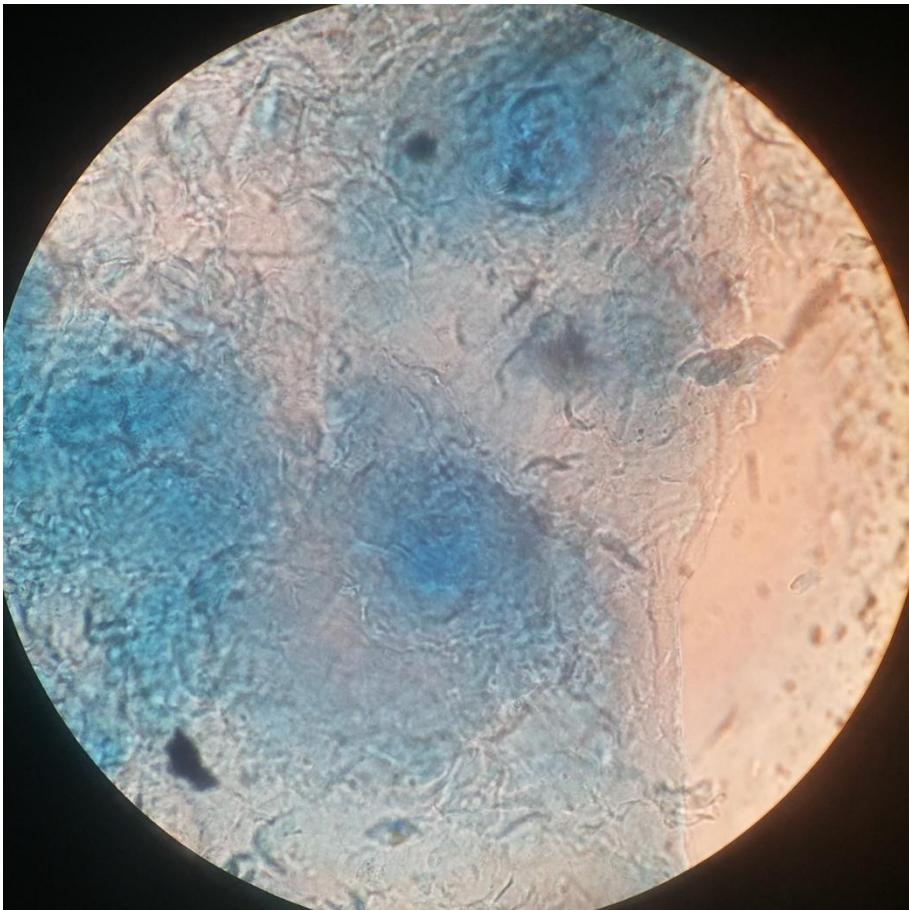
- ۱- سایبرو دکستروز آگار
- ۲- سایبرو دکستروز آگار اصلاح شده
- ۳- ژلوز عصاره جوانه جو ۲ درصد (Malt Extract Agar)
- ۴- ژلوز عصاره مخمر فسفاته (Yeast Extract Phosphate) (Smith)- اسمیت (Goodman) (گودمن)

## محیط های کشت تقویت اسپورزایی قارچ ها

- ۱- ژلوز سیب زمینی و دکستروز (Potato Dextrose Agar)
- ۲- ژلوز آرد ذرت حاوی توئین ۸۰ (Corn meal Tween)

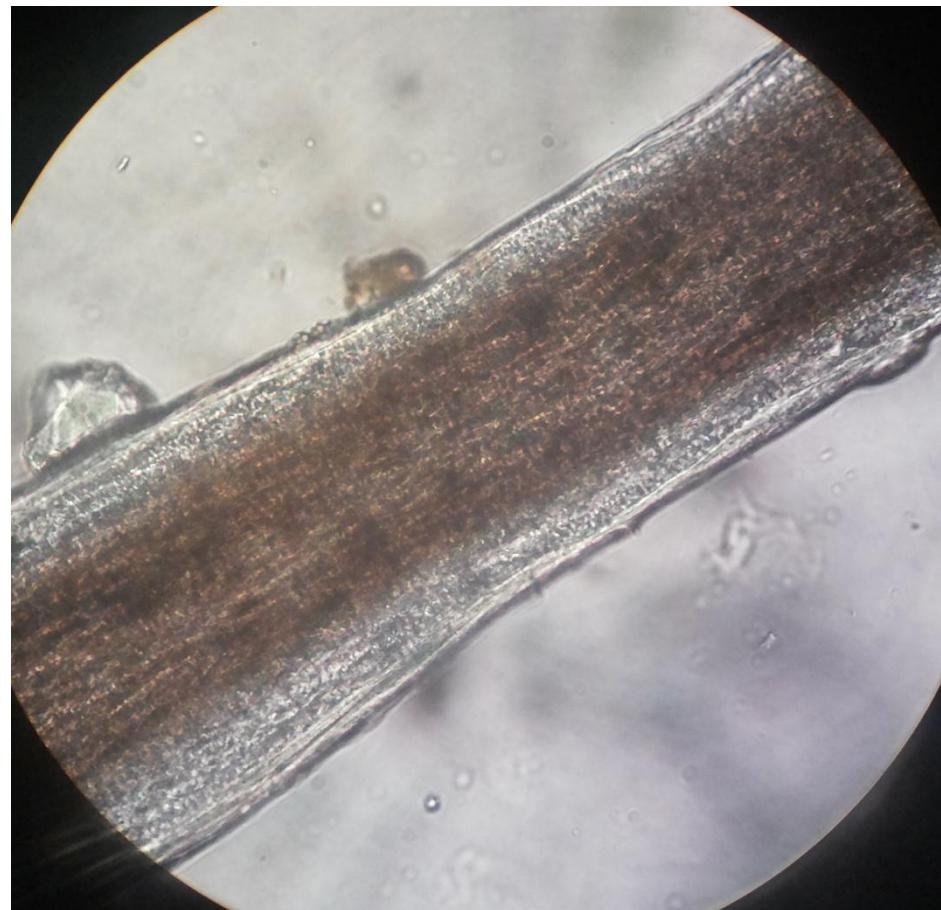
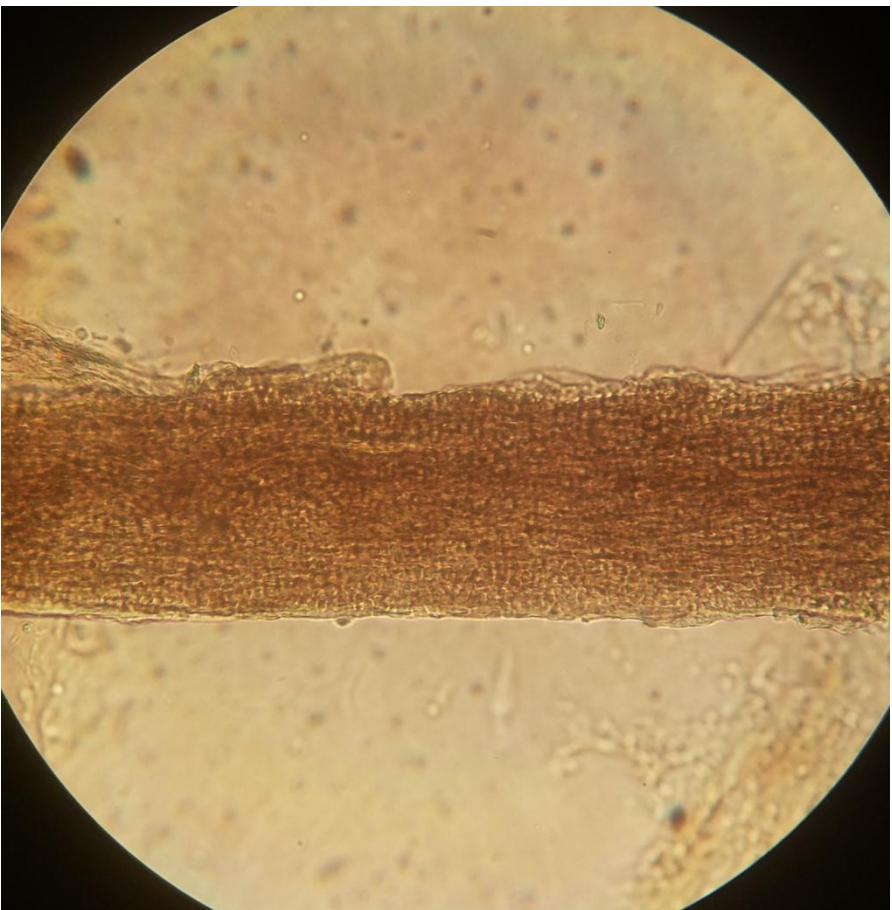
## محیط های کشت جهت نگهداری اشکال مخمری قارچ های دو شکلی

- ۱- ژلوز خوندار حاوی گلوكز و سیستئین (Cysteine)
- ۲- ژلوز عصاره مغز و قلب حاوی سرم
- ۳- ژلوز دانه پنبه (Cotton seed Agar)



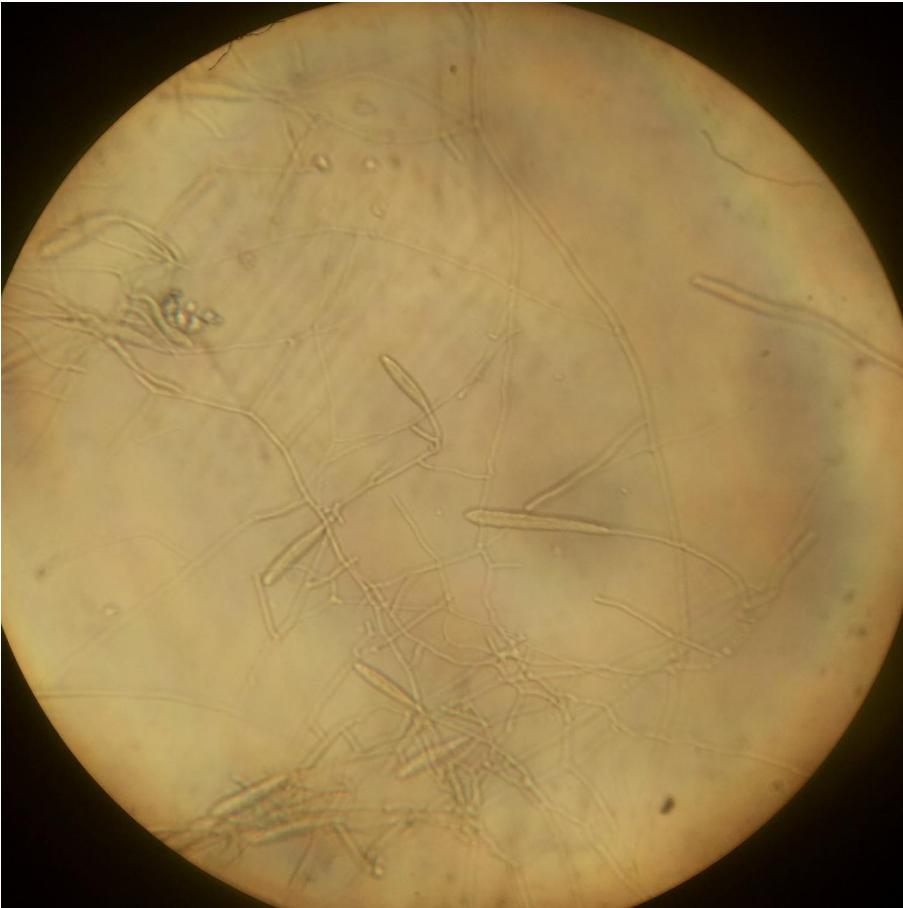
فرم فاوس در پرندگان

۱. میسلیوم ها یا هایف ها لابه لای سلولهای اپیدرم  
پوست



۳. فرم اندوتريکس در ماتوفيت ها

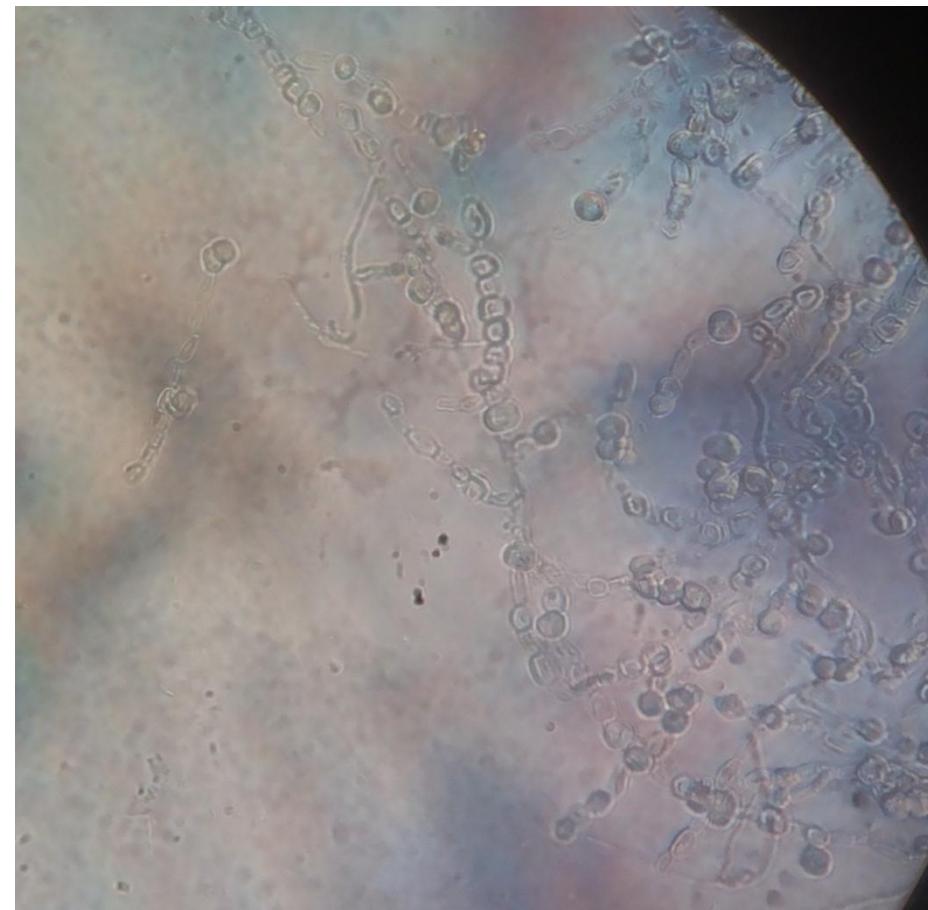
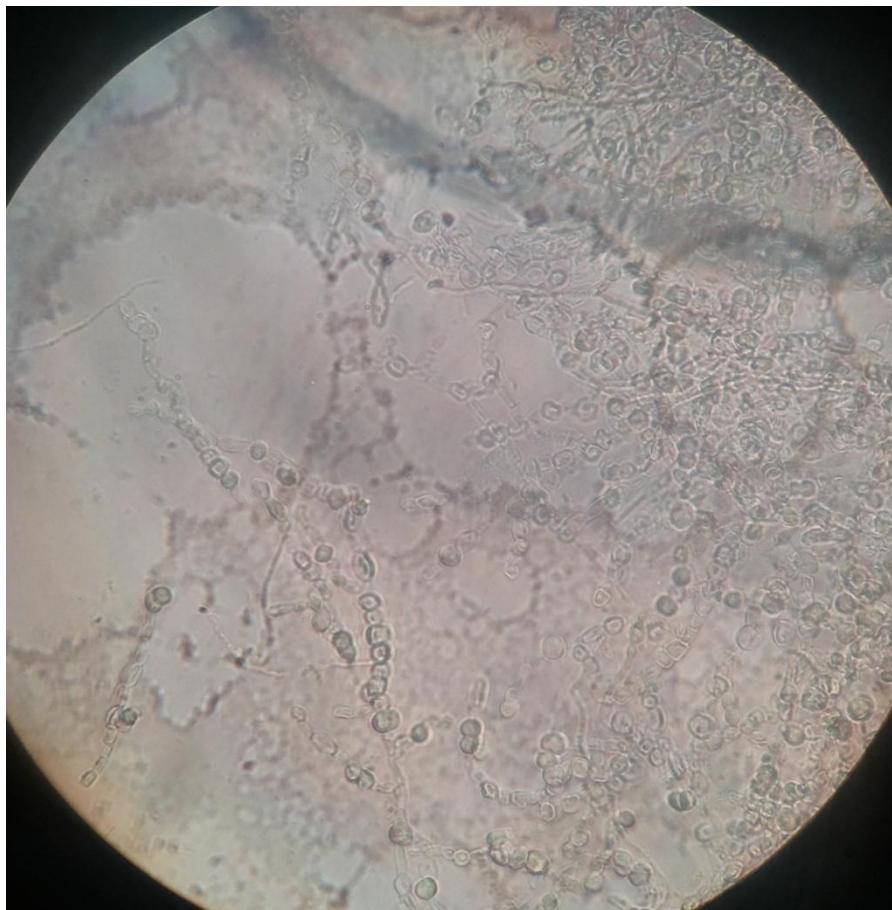
۲. فرم اكتوترويكس در ماتوفيت ها



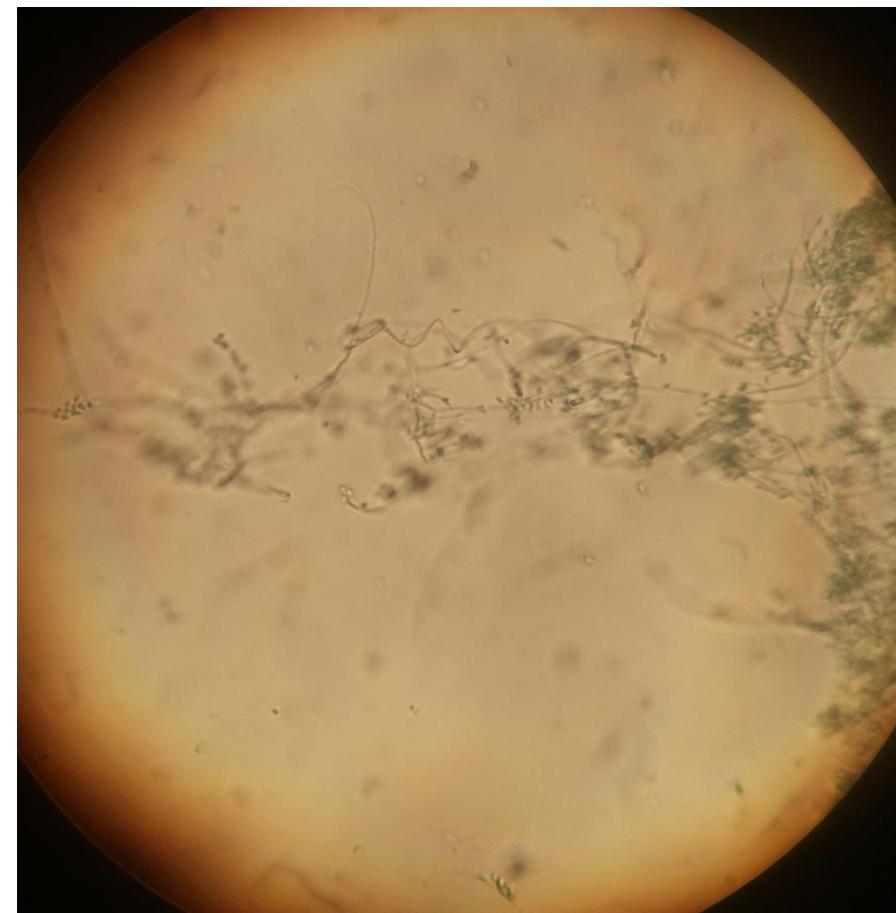
٥. تريكوميتون روبروم



٤. تريكوميتون شوان لاني



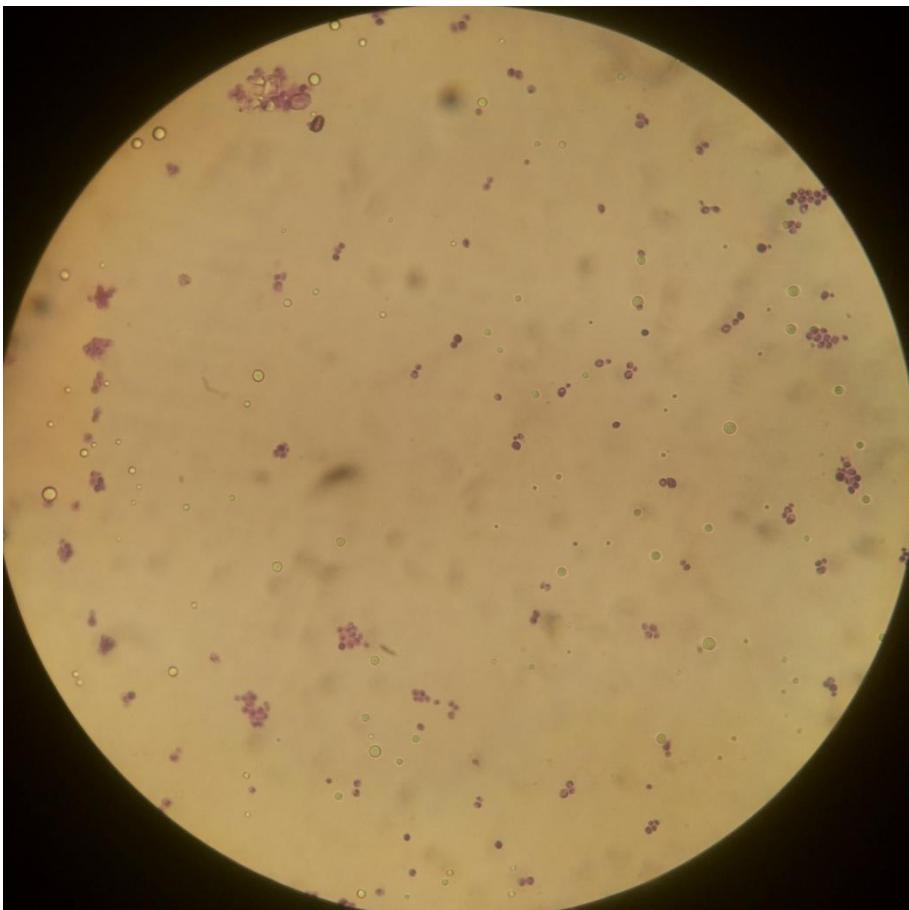
٦. تريكوموناس و جيراديوم



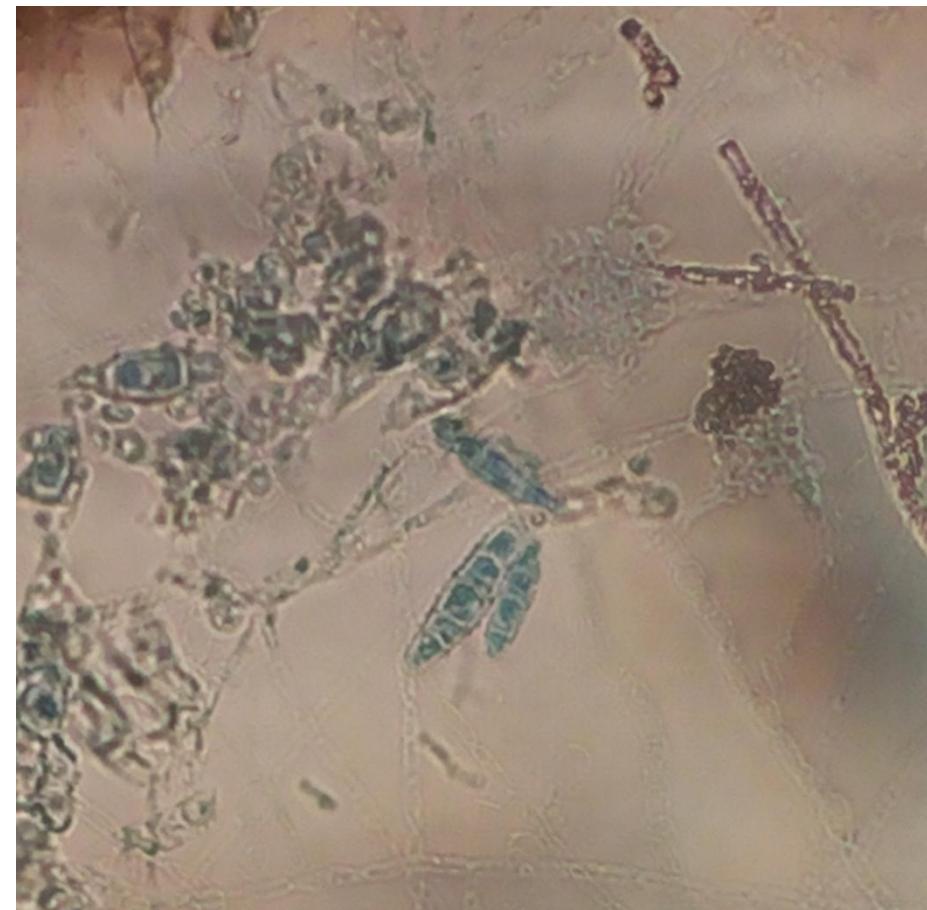
٧. تريکوفيتون منتاگروفایتیس



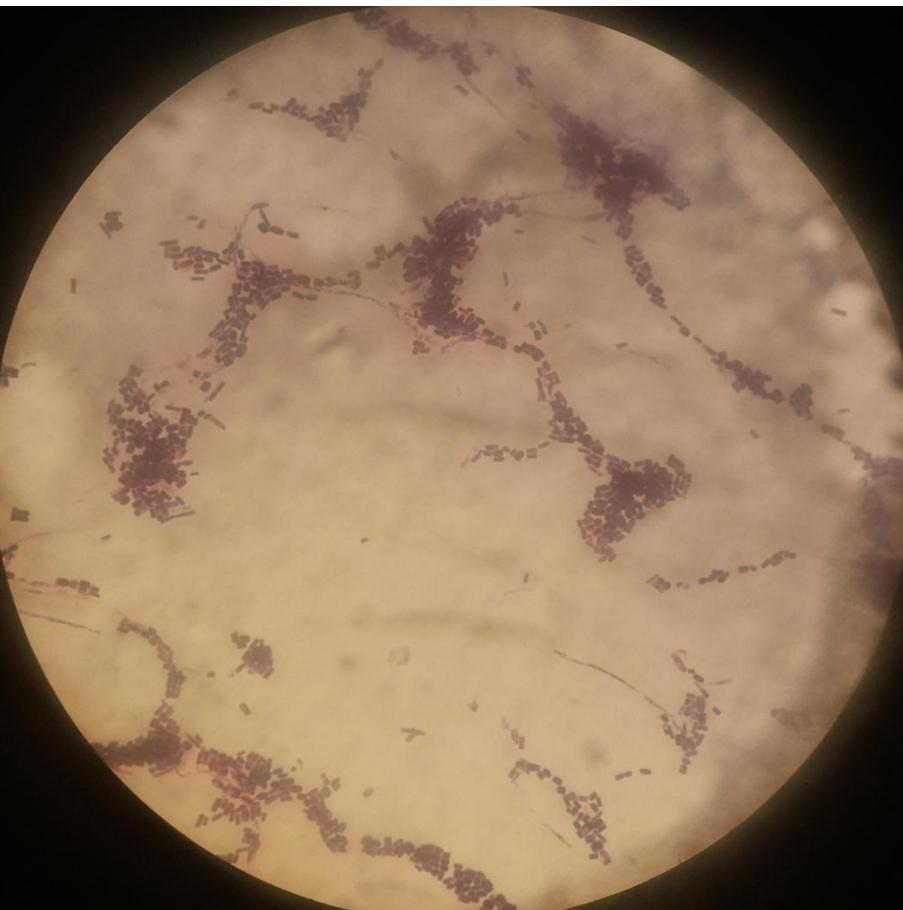
٨. مخمر رودوتولا



١٠. مخمر كانديدا آلبكنز



٩. ميكروسيپوروم جيپسئوم



١١. ڙئوٽريڪوم کانديڊوم

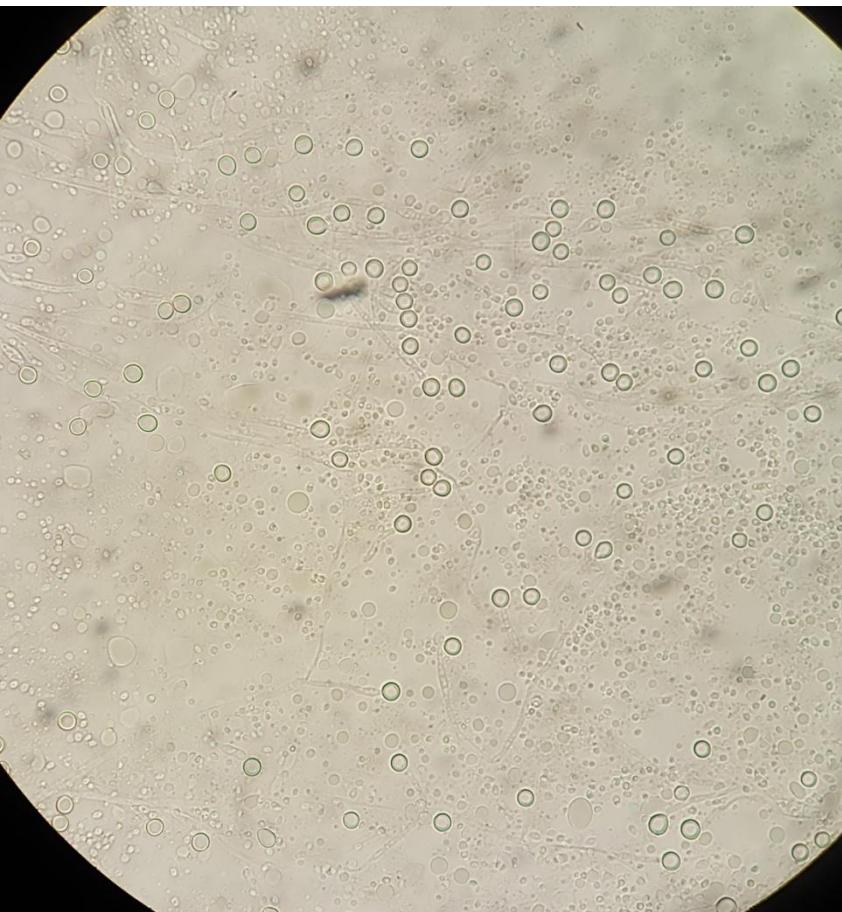


١٠. فرم کانديدا آلبينز germ tube

۱۲. میکروسپوروم کنیس



۱۳. کلامیدوکونیدی و هایف کاذب در کاندیدا آلبیکنر  
در محیط SEM

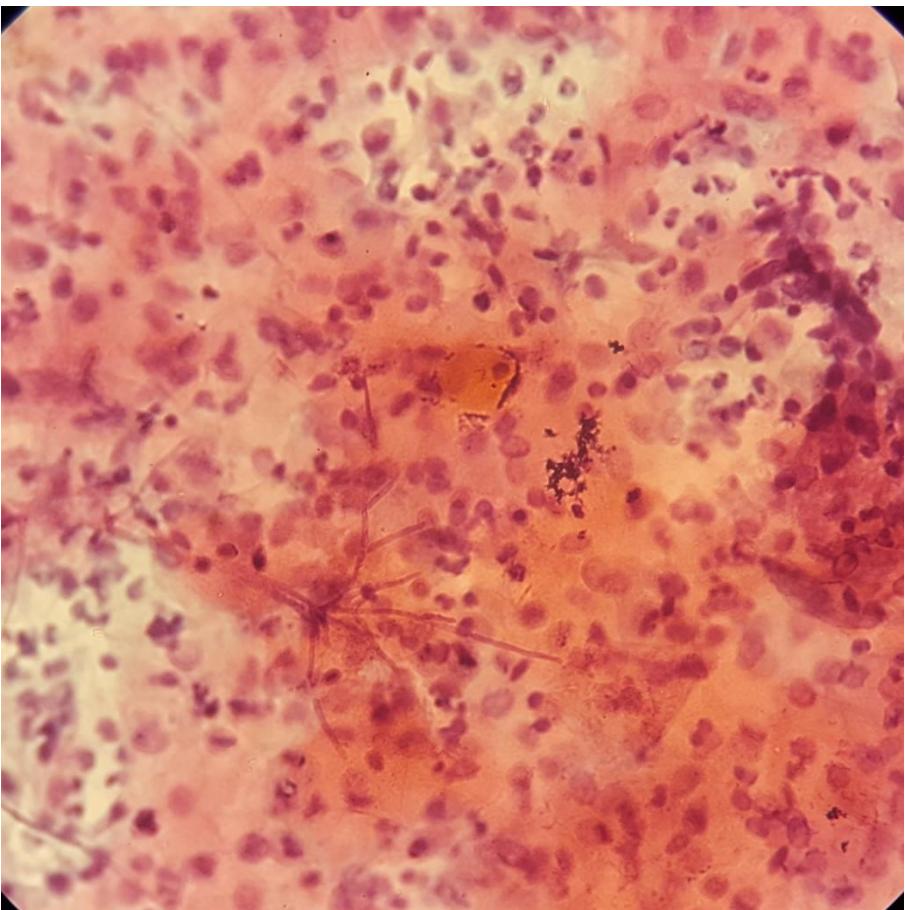




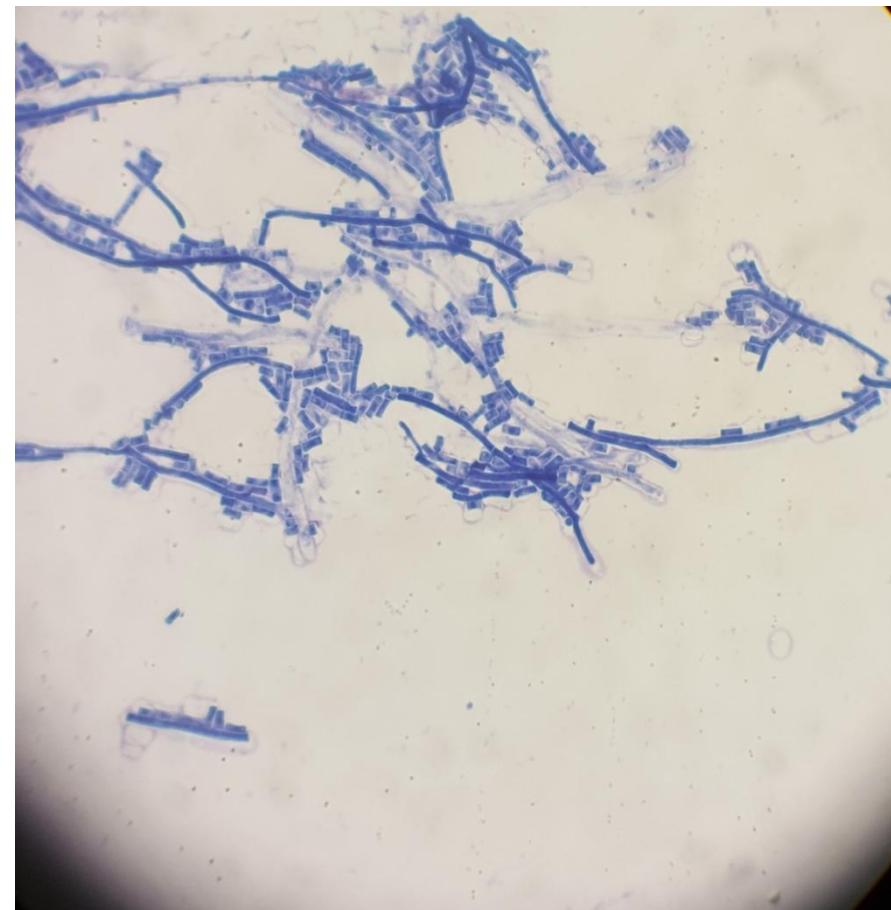
۱۵. کلیدوکونیدی های کاندیدا آلبیکنر



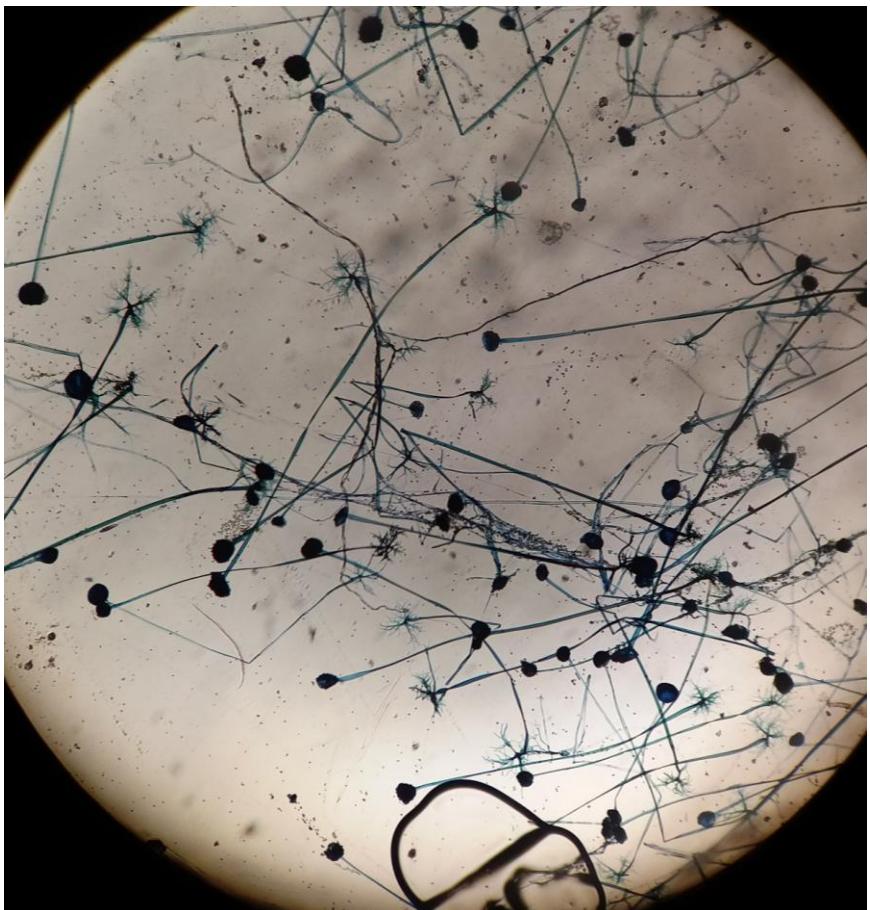
۱۶. کریپتوکوس نئوفرمنس



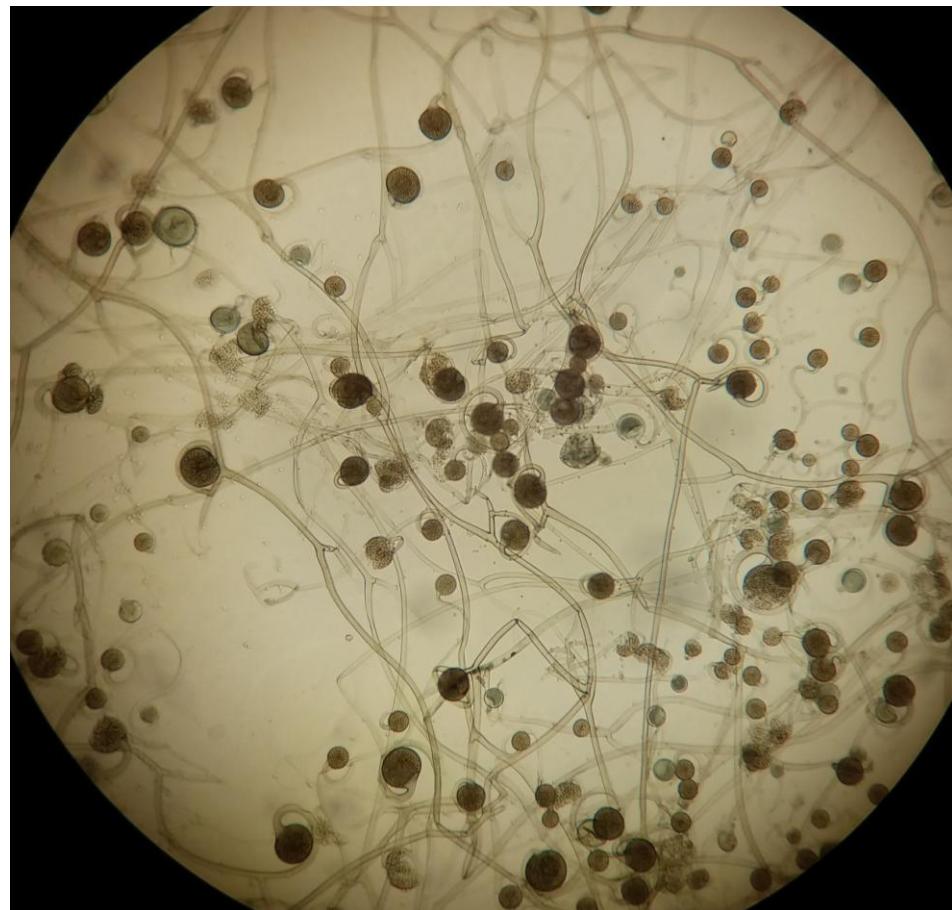
۱۷. کاندیدا آلبیکنر در مخاطات



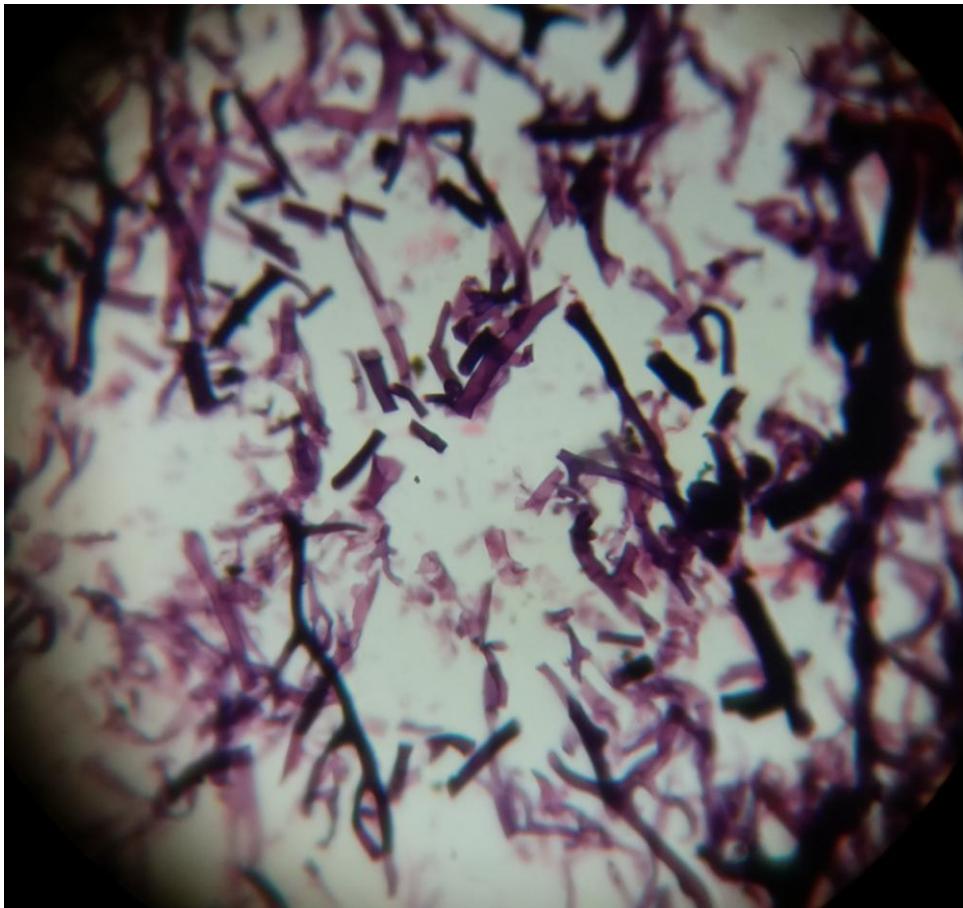
۱۶. آرترو کونیدی ژئوتريکوم کاندیدوم



۱۹. رایزوپوس



۱۸. موکور مایکوپزیس

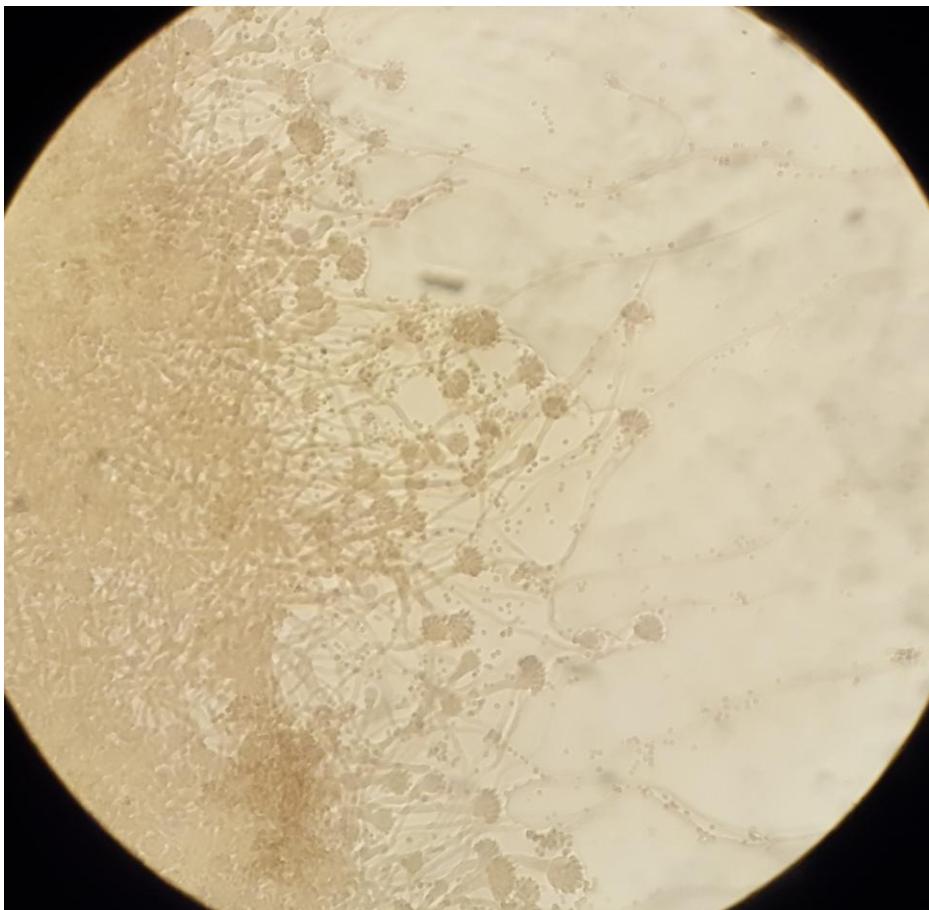


۲۱. موکور مایکوپزیس در بافت

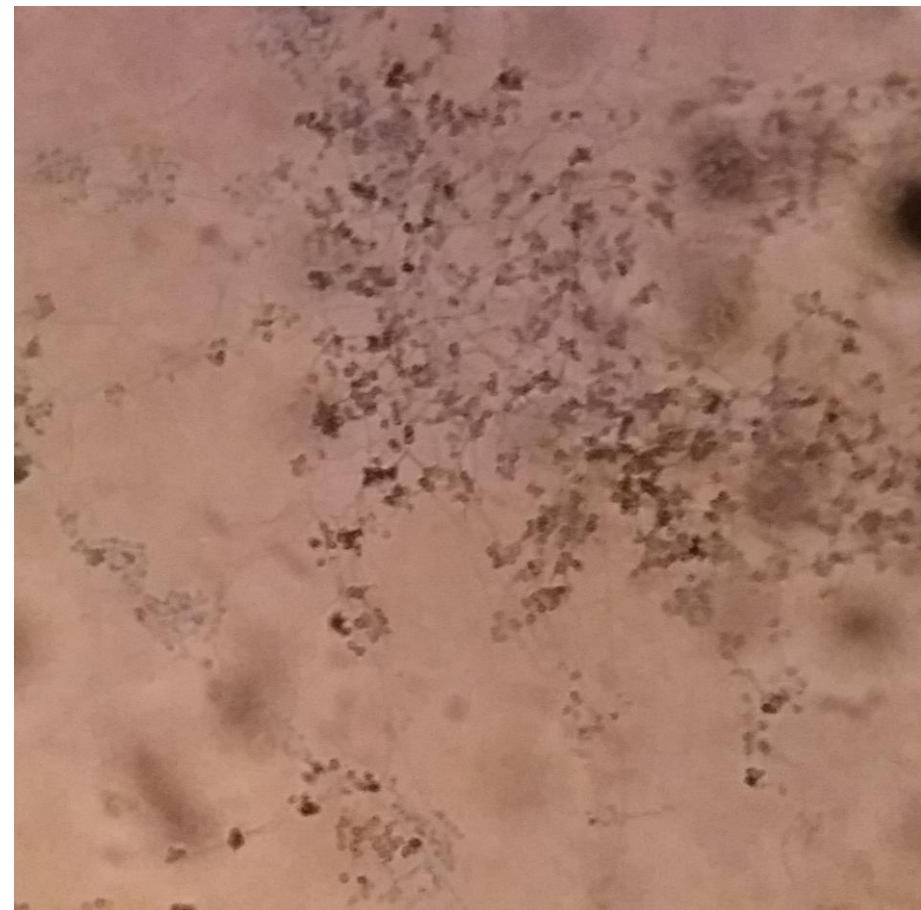


۲۰. سن سفالستروم

شبیه به گل مینا یا درخت خرما



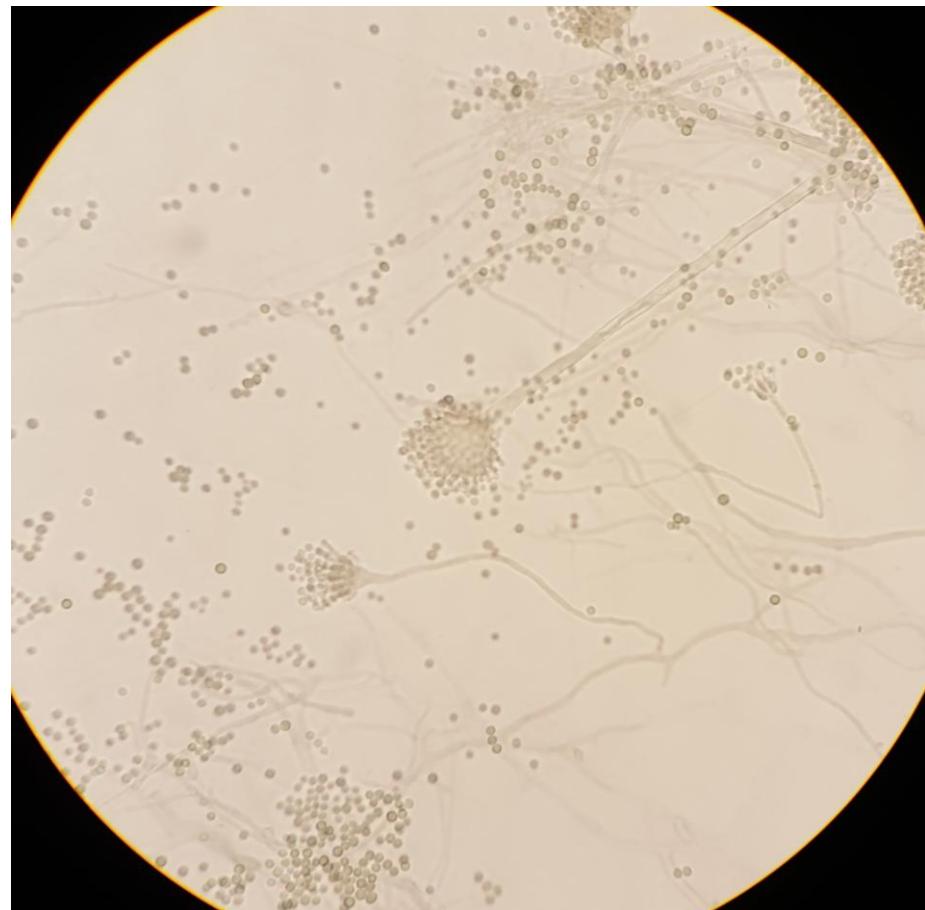
٢٣. آسپرژیلوس فومیگیتوس



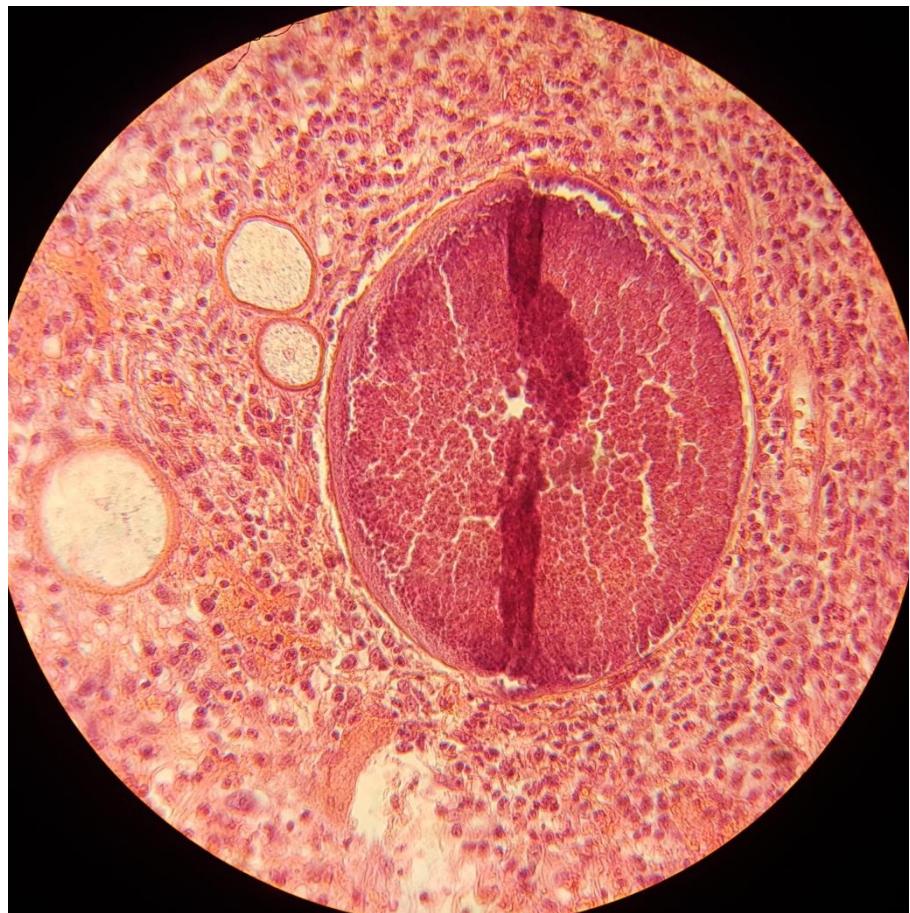
٢٤. اسپروتریکس شنکئی



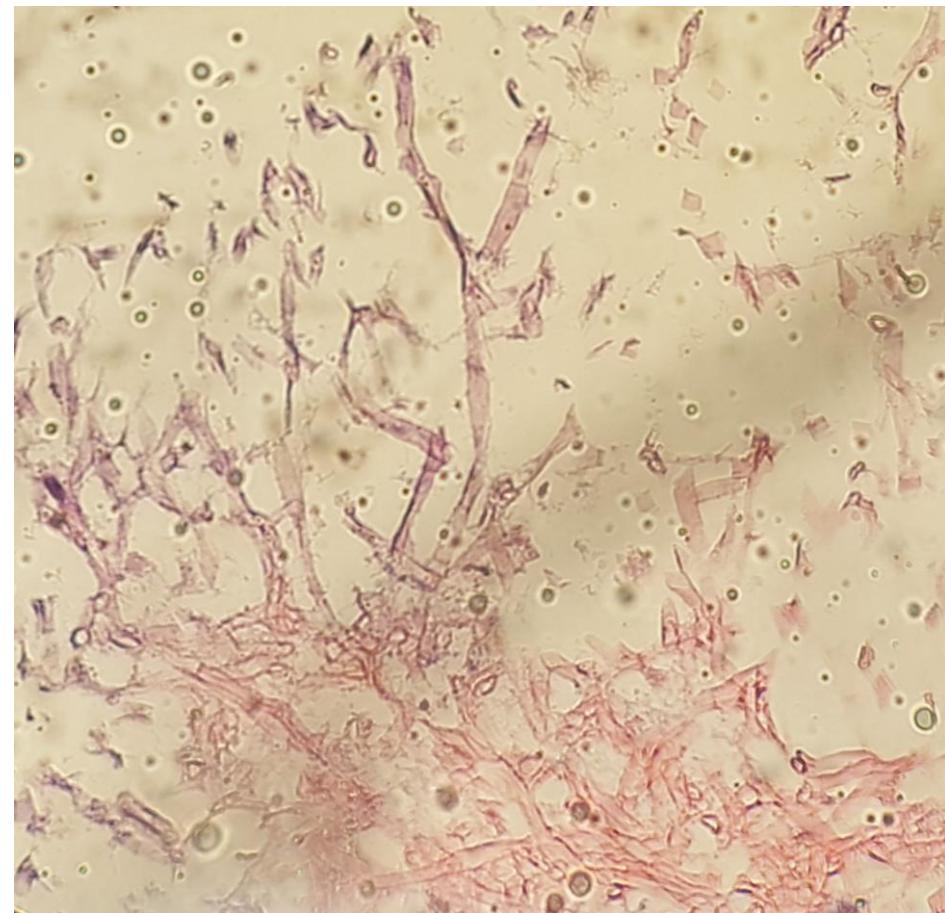
٢٠. آسپرژیلوس نایجر



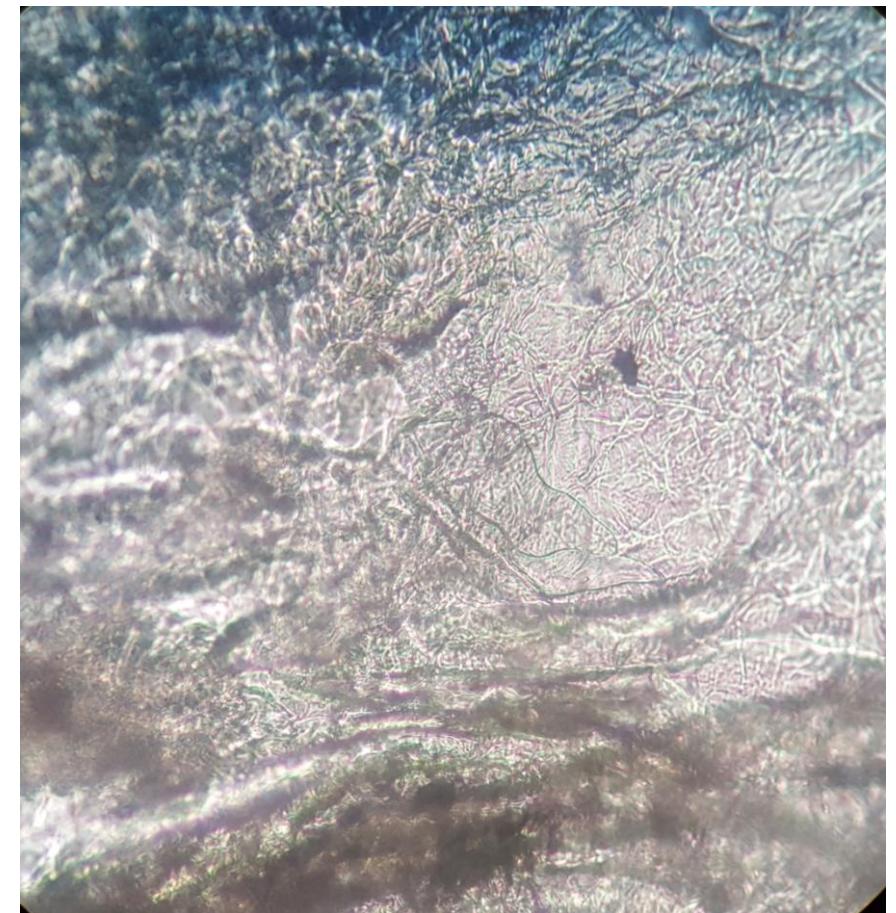
٤٢. آسپرژیلوس فلاووس



۲۲. رینوسپوریدیووم سبیری



۲۱. هایف آسپرژیلوس در بافت



٢٣ . ملاسزيا