



برنامه بازآموزی کارکنان آزمایشگاه‌های استان هرمزگان
معاونت درمان



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی هرمزگان

نمونه برداری و تشخیص صحیح قارچ شناسی

گروه قارچ شناسی وانگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی بندرعباس
آذر ۱۴۰۳

قارچها موجوداتی هتروتروف (**Heterotroph**) بوده و تنها از مواد آلی تغذیه مینمایند. قارچها مواد غذایی مورد نیاز خود را بلع و یا هضم ننموده، بلکه عمدتاً آنها را از طریق جداره خود جذب میکنند(هتروتروف جذبی). اگرچه نیازهای تغذیه ای قارچها متنوع است، ولی بسیاری از آنها میتوانند بر روی محیطهای کشت ساده ای که حاوی کربوهیدراتها، منابع آلی یا غیر آلی نیتروژن دار و عناصر معدنی متعددی چون فسفات، پتاسیم، منیزیم، آهن، روی، گوگرد و منگنز باشند، بخوبی رشد و تکثیر یابند. معمولاً محیطهای کشت مرحله مخمیری قارچهای دوشکلی علاوه بر منابع کربن، حاوی تعدادی اسید آمینه، ویتامینهای مختلف، عناصر نادر و گاهی فاکتورهای رشد نه چندان مشخصی میباشد .

هر چند تا کنون متجاوز از ده میلیون گونه مختلف قارچی کشف شده و احتمالاً هنوز تعداد زیادی از گونه های ناشناخته در طبیعت موجود می باشند، ولی از میان گونه های شناخته شده عمدتاً حدود تا ۱۵۰ تا ۲۰۰ گونه هستند که توانائی ایجاد بیماری در انسان و حیوانات را دارا میباشند. عفونتهای حاصله از قارچها دارای طیف وسیعی بوده و بسته به محل آن به پنج گروه عفونتهای سطحی، جلدی، مخاطی، زیرجلدی و احشائی طبقه بندی میشوند. هر چند عفونتهای احشائی آنها میتواند کشنده باشد، ولی انواع سطحی و جلدی غالباً محدود و قابل بهبود میباشند. قارچها را میتوان به 2 گروه بیماریزا و فرصت طلب طبقه بندی نمود. امروزه پیشرفتهای وسیعی در امور درمان و پیشگیری از عفونتهای قارچی پاتوژن صورت گرفته و از موارد بروز آنها کم و بیش کاسته شده است ولی به همان نسبت برانسیدانس (موارد بروز) عفونتهای فرصت طلب افزوده شده است.

ابزارهای مورد نیاز در آزمایشگاه قارچ شناسی



نمونه های قابل قبول برای آزمایش مستقیم میکروسکپی

بافت و آسپیره های بدست آمده از نواحی که در حالت نرمال باید استریل باشند عالی ترین نمونه ها هستند.

- موها، تراشه های پوست و خرده های ناخن که عفونی شده اند نمونه های مفیدی برای آزمایش مستقیم میکروسکپی به منظور جداسازی درماتوفیت ها و سایر قارچ هائی که عامل عفونت در این نواحی هستند می باشند.

- لازم است میکروبیوتای قارچی و باکتریائی که با ارگان های معینی مرتبط هستند را در نظر داشت، زیرا این عوامل بصورت نامطلوبی جداسازی و بدست آوردن پاتوژنها از این نواحی را تحت تاثیر قرار می دهند و ممکن است بر پیچیدگی تفسیر آزمایش مستقیم و کشت بیفزایند. بعنوان مثال نمونه های خلط و BAL ممکن است حاوی میکروبیوتای نرمال از ناحیه ی اوروفارنکس باشد که ممکن است روی پاتوژن های کند رشد را بپوشاند و تفسیر آزمایش مستقیم و کشت را با مشکل مواجه سازند نمونه خلط ناشتاکه بعد از شستشو با مواد ضد عفونی گرفته شده باشد مناسب است.

- نمونه ی وسط ادرار و نمونه ادراری که از کاتتر مستقیم (سوند سوپراپوبیک) و بدنبال رعایت استانداردها بدست می آید قابل قبول هستند.

- ادرار بدست آمده از کاتترهای کار گذاشته شده در مجاری ادراری غیر قابل قبول می باشند.

- آزمایش مستقیم CSF ممکن است برای آزمایشگاههایی که روی گروههای جمعیتی خاصی از بیماران (عنوان مثال گروه هائی که در آنها شیوع بالای HIV وجود دارد) کار می کنند مفید باشد.

- به استثنای آزمایشات مربوط به واژن، آزمایش مستقیم برای سایر نمونه ها نباید با سواب انجام گیرد .

بیماریهای قارچی سطحی

بیماری هایی که در این دسته قرار میگیرند عبارتند از:

۱- تینه آورسیکالر (Tinea versicolor) یا (pityriasis versicolor)شوره چرب سر (dandruff)

۲- تینه آنیگرا (Tinea nigra)

۳- پیدرا (Piedra)

۴- اتومایکوزیس (Otomycosis)

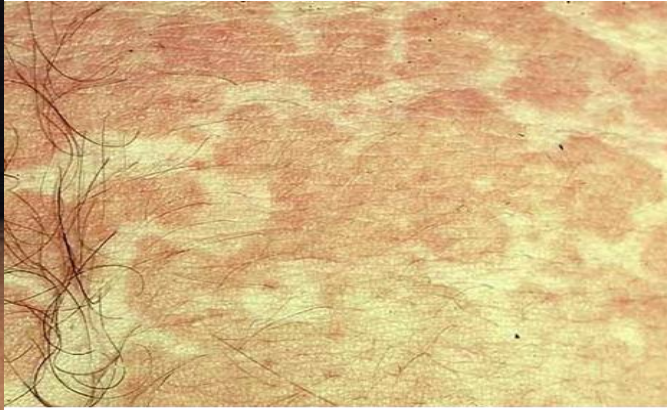
۵- کراتیت

۶- اریتراسما (Erythrasma)

۷- ترایکومایکوزیس آگزیلاریس (Trichomycosis axillaris)

Hint: دو بیماری آخر جزو بیماریهای باکتریایی هستند ولی به دلیل تشابه علائم کلینیکی با بیماریهای قارچی سطحی همچنین تشابه محل ابتلا در بدن (که اغلب نواحی چین دار بدن است) بین عفونتهای قارچی سطحی دسته بندی میشوند و به همین ترتیب در آزمایشگاه قارچ شناسی مورد شناسایی و تشخیص قرار میگیرند.

تینا ورسیکالر



- بیماری قارچی سطحی که اغلب در مناطق گرم و مرطوب و بین مردان جوان شایعتر است. به طور کلی بیماریهای قارچی سطحی در مناطق گرم و مرطوب (نواحی Tropical و Subtropical یعنی نواحی نزدیک به خط استوا) به دلیل تعریق زیاد بدن، شیوع بیشتری دارند. به همین دلیل این بیماریها در سنین جوانی و در بین مردان که فعالیت بیشتری دارند شایعترند
- علائم بالینی شامل لکه های محدود و نامنظم با رنگهای مختلف (از بی رنگ تا کرم و قهوه ای حتی قهوه ای تیره) و به شکل شوره دار و پوسته دار در نواحی چرب بدن (مانند سینه، پشت، بازو، گردن و شکم) را شامل میشود.

تشخیص آزمایشگاهی

آزمایش مستقیم:

(a) روش چسب اسکاچ

(b) KoH ۱۰ درصد

(C) رنگ آمیزی گرم و گیمسا

(D) لامپ وود

۲) کشت:

(a) دیکسون آگار: (اختصاصی برای گونه های مالاسیا)

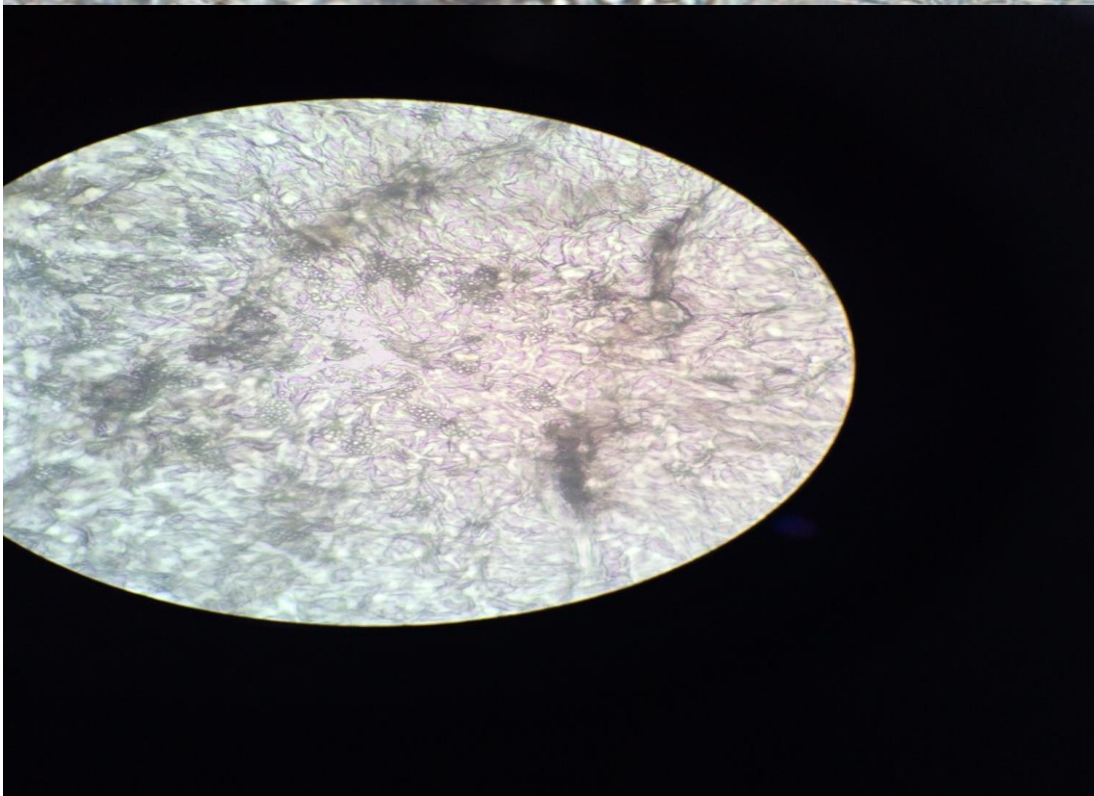
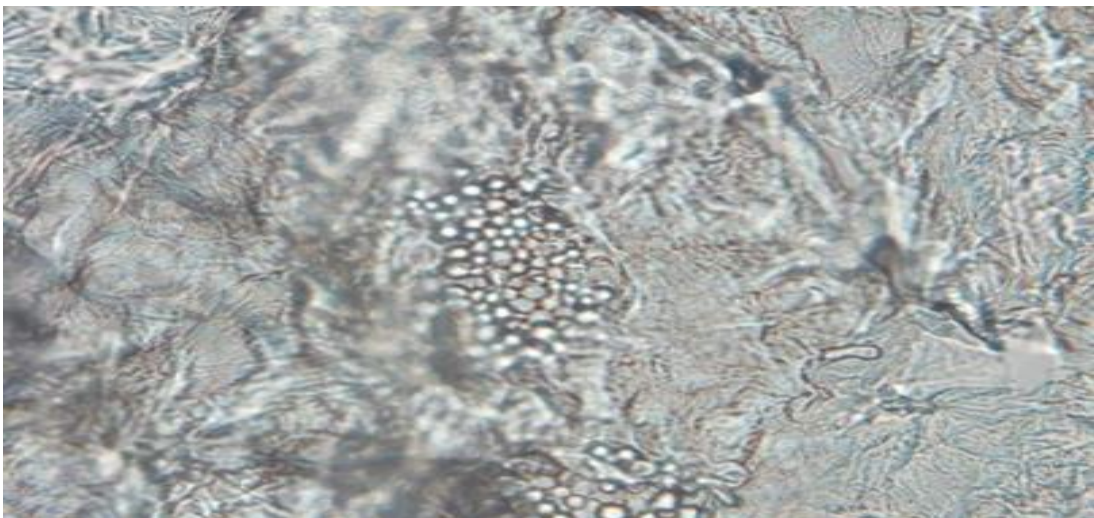
(b) SDA با روغن زیتون در ۲۵ درجه سانتیگراد

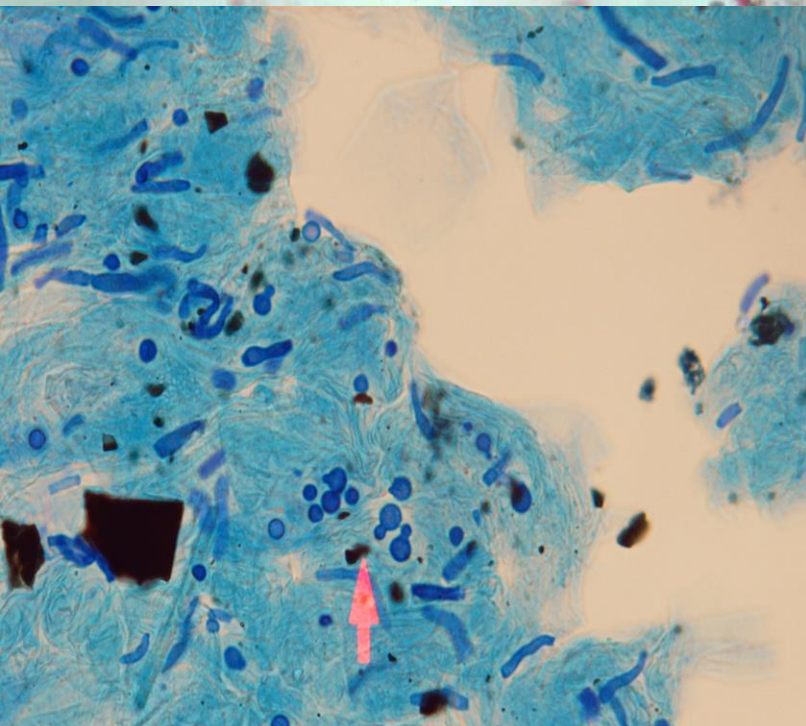
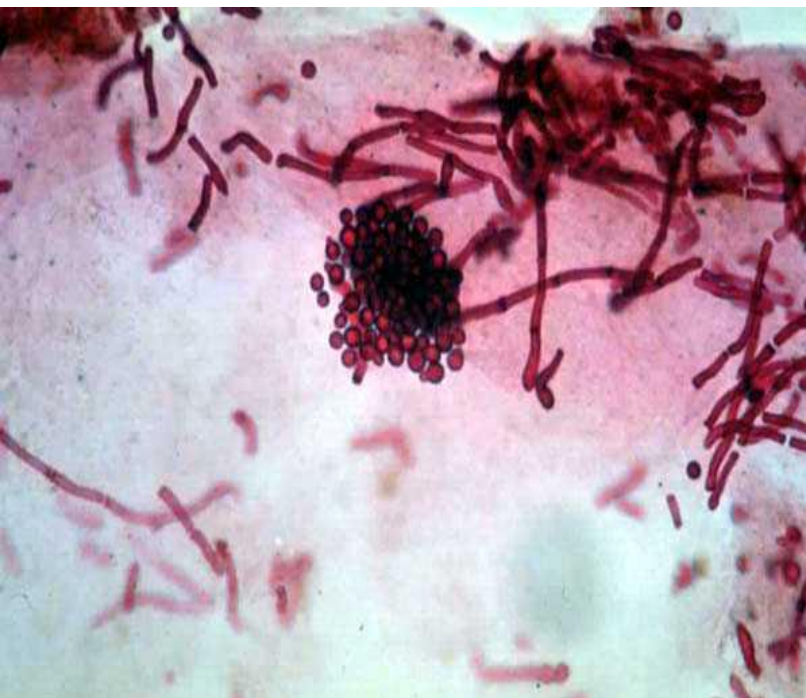
کشت نمونه برای تشخیص ضروری نیست

هشدار توسط پزشک

- ۱- ۲ تا ۳ روز حمام نرفته و بعد نمونه گیری شود.
- ۲- درمان قبل از فرستادن به آزمایشگاه صورت نگیرد.
- ۳- از بیمار خواسته شود روی زخم پماد یا لوسین نزند.

• تشخیص آزمایشگاهی از طریق آزمایش مستقیم انجام میشود که متداول ترین روش تشخیص آزمایشگاهی تینه آورسیکالر میباشد. بهترین روش نمونه برداری پوستی از ضایعات این بیماری، استفاده از نوار چسب اسکاچ (یا همان چسب شیشه ای) میباشد؛ به این روش که قطعه ای از نوار چسب اسکاچ را برداشته و روی ضایعه می چسبانیم، سپس کمی فشار داده و آن را خلاف جهت از روی بدن کنده و مستقیماً (بدون رنگ آمیزی) روی لام میچسبانیم تا آن را با بزرگنمایی های ۱۰ و ۴۰ مشاهده کنیم. در صورتی که بخواهیم رنگ آمیزی انجام دهیم، از رنگ بلودومتیلن استفاده میکنیم؛ به این روش که گوشه ی چسب را بلند میکنیم و اقطره بلودومتیلن به آن میافزاییم، سپس بدون شستشو، آن را مجدداً روی لام میچسبانیم و با بزرگنمایی های ۱۰ و ۴۰ بررسی میکنیم.





پتاس ۱۰٪ یک محلول تشخیصی برای آزمایشگاه قارچ شناسی است که در تمامی آزمایش های مستقیم استفاده میشود؛ یعنی میتوان علاوه بر بررسی با نوار چسب اسکاچ، از پتاس ۱۰٪ هم استفاده کرد. در تشخیص های آزمایشگاهی از غلظتهای ۱۰٪ تا ۲۰٪ پتاس (به طور میانگین ۱۵٪ استفاده میکنیم؛ به این روش که ابتدا پوسته ها را با اسکالپل استریل، میتراشیم و روی لام جمع میکنیم و به آنها ۱ یا ۲ قطره پتاس ۱۰٪ اضافه میکنیم و روی آن، لامل قرار میدهیم، سپس کمی آن را فشار داده و برای هضم شدن پوسته ها، آن را از روی شعله عبور می دهیم و زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰ بررسی می کنیم .

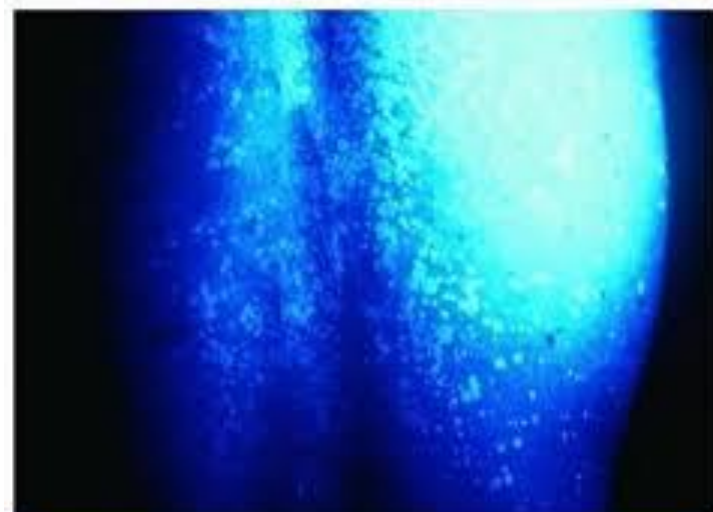
زیر میکروسکوپ، سلولهای مخمری جوانه دار به نام بلاستوکونیدی را میتوان مشاهده کرد و به گونه ای در کنار هم قرار گرفته اند که زیر میکروسکوپ، منظره خوشه انگوری ایجاد می شود (به تعداد ۸۰ تا ۱۰۰ عدد در کنار هم قرار گرفته اند) در کنار آنها، قطعات هایف خمیده، پهن، کوتاه، چهار گوش و با انتهای مورب دیده میشود که به این نمای میکروسکوپی (**Meat spaghetti**) گفته میشود؛ زیرا بلاستوکونیدی ها شبیه توپ های گوشتی و هایف ها شبیه اسپاگتی میباشند.

محیط کشت دیکسون آگار



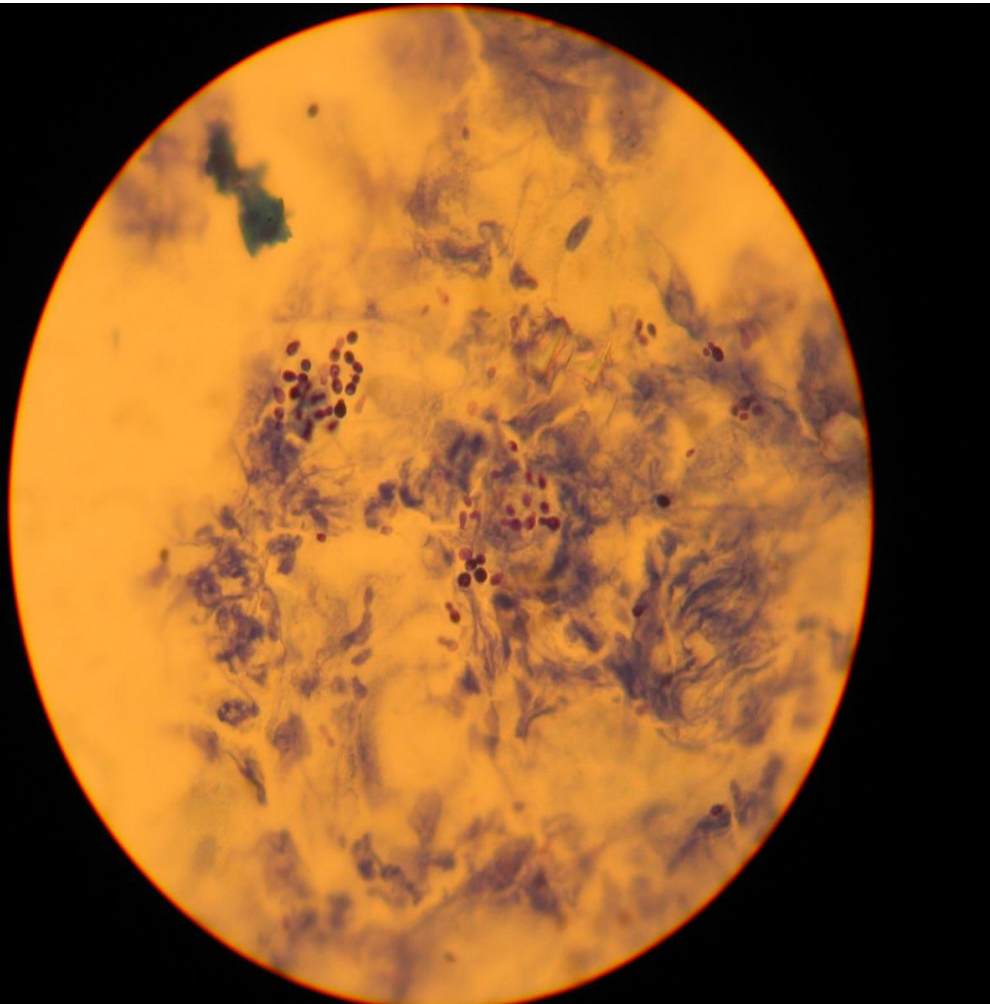
Culture of *Malassezia furfur* on Dixon's agar (contains glycerol mono-oleate)

لامپ وود (WOOD,S LAMP)



p. versicolor under Wood's lamp

- این نور حاوی اشعه اولتراویولت با فیلتر اکسید نیکلی است
- فلورسانس زرد طلایی می دهد
- در یک اتاق تاریک بر روی ناحیه مشکوک نور را تابانده و فلورسانس را مشاهده میکنیم



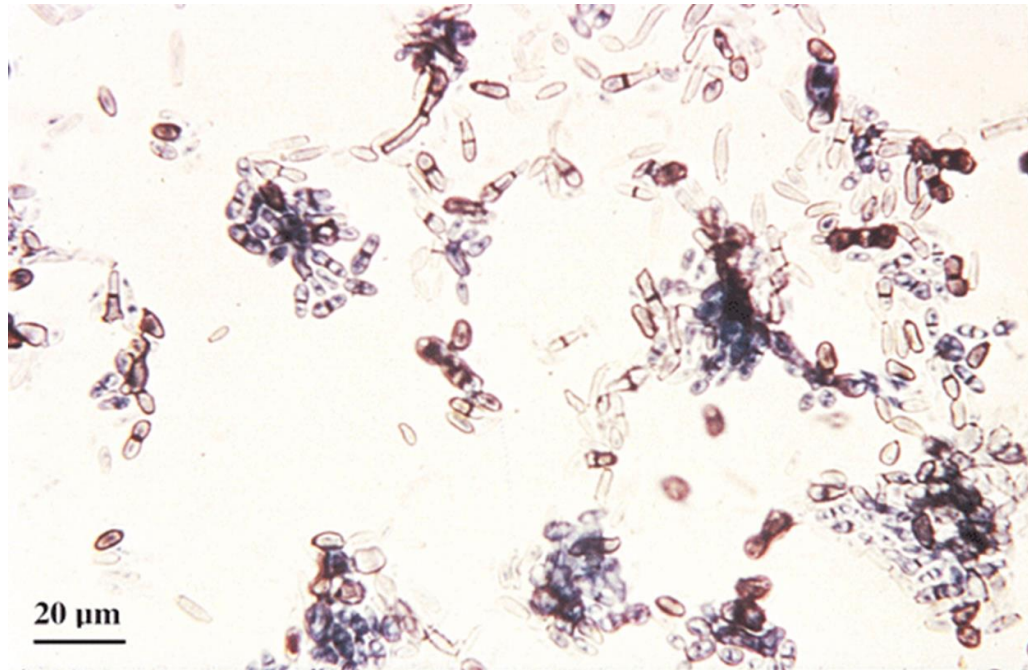
شوره چرب سر (دندروف): به وسیله قارچ های مالاسزیا ممکن است به وجود بیاید (توسط مالاسزیا گلوبوزا یا مالاسزیا فورفور یا سایر گونه های مالاسزیا)، که در واقع تفاوت آن با تینه آورسیکالر که عاملشان همان مالاسزیایها هستند این است که در شوره چرب سر، ما بلاستوکونیدی ها را به شکل سلولهای گرد و جوانه دار می بینیم که عموماً از حالت گرد، کشیده ترمیشوند (بطری مانند) زیرا سلولهای مخمری در پوسته های چرب سر، به دلیل چربی بیشتر سر نسبت به بدن، به فرم بیضی در می آیند که با جوانه شبیه به بطری های هدف در بازی بولینگ دیده میشوند). علاوه بر این، به هیچ وجه در شوره های چرب سر، هایف مشاهده نمیشود، در حالی که در بدن، قطعات هایف هم در کنار بلاستوکونیدی دیده میشود که نشان دهنده تاثیر میزان چربی بر روی حضور یا عدم حضور هایف ها میباشد (چربی سر از بدن بیشتر است)

کچلی سیاه (تینه آ نیگرا)



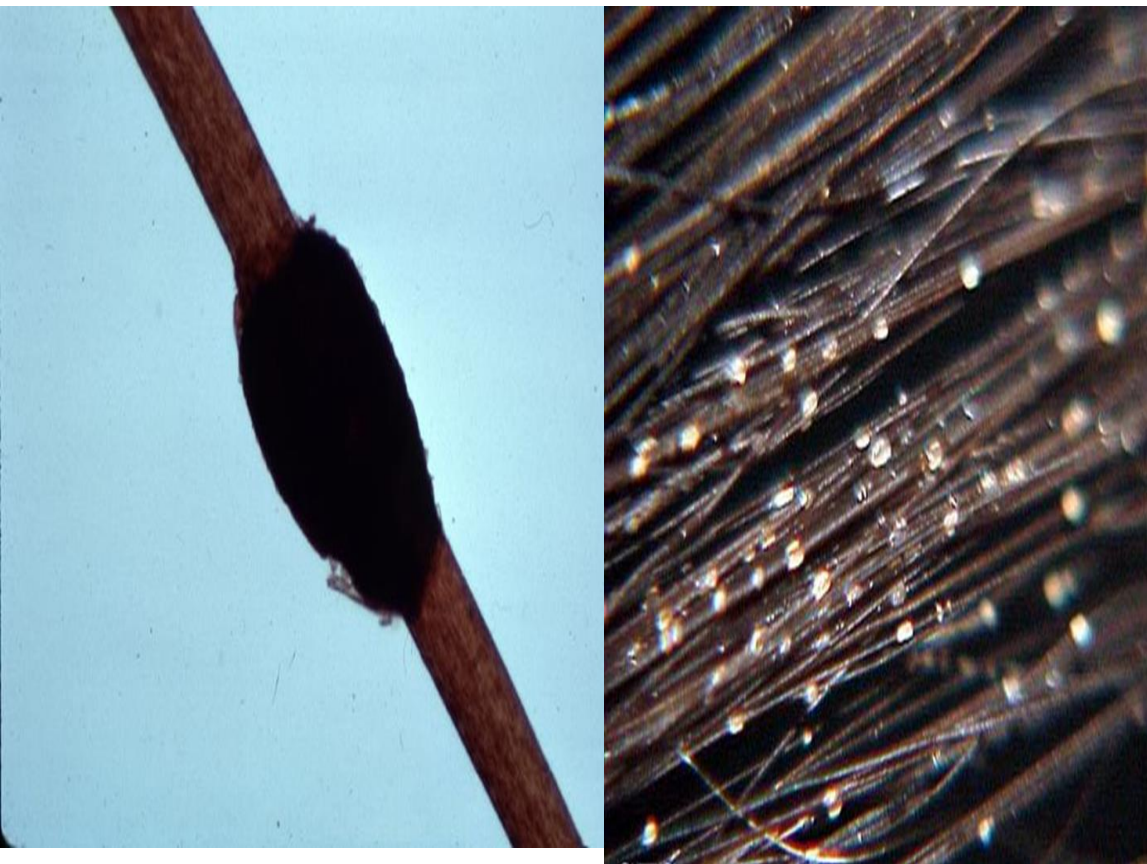
- عفونت سطحی مزمنی است که عامل قارچی به طبقه شاخی پوست حمله میکند
- غالباً کف دست و پا
- عامل بیماری قارچی سیاه به وفور در خاک، زباله، گیاهان و سبزیهای در حال فساد، خاکهای دارای مواد آلی
- عامل: اگزوفیالا ورنیکی

تشخیص آزمایشگاهی



- آزمایش مستقیم: پوسته ها را با اسکالپل تراشیده و با KOH بررسی میکنیم.
- در زیرمیکروسکوپ میسیلیوم های قهوه ای تا زیتونی با شاخه های جانبی مشاهده میشود
- میسیلیوم دارای تیغه میانی انشعابات زیاد ولی فاقد بلاستوکونیدی
- قسمت راسی نازکتر و دارای رنگ پریدگی میباشد

پیدرا



- پیدرا عارضه قارچی ساقه مو می باشد که با ایجاد گره های نامنظم و متعدد در طول ساقه مو مشخص می گردد.
- گره ها در واقع توده های متراکم قارچ در اطراف ساقه مو بوده و برحسب رنگ گره دو نوع پیدرای سیاه و سفید قابل تشخیص است.
- عامل پیدرای سیاه (پیدرا هورتایی) *Piedraia hortae*
- عامل پیدرای سفید (ترایکوسپورون بیژلی) *Trichosporon beigelii*

تشخیص آزمایشگاهی

برای تشخیص آزمایشگاهی میتوانیم قطعاتی از مو را که حاوی گره ها هستند با قیچی بچینیم و روی لام بگذاریم برای دیدن موها معمولا از لاکتوفنل ساده بجای پتاس.٪ ۱۰ استفاده میکنیم (سپس ۱ تا ۲ قطره لاکتوفنل میریزیم تا بیشتر به داخل موها نفوذ کند و موها را شفاف کند تا بتوانیم این گره ها را

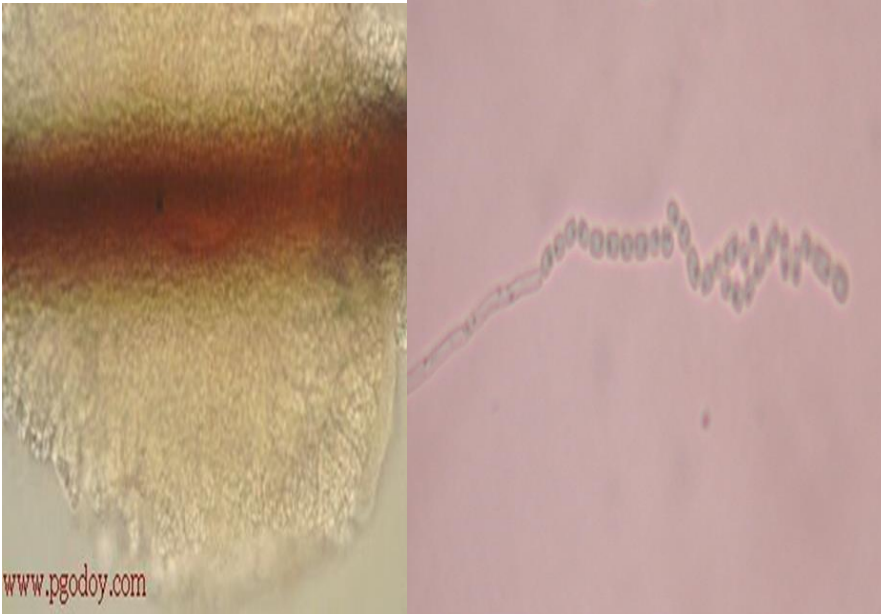
تشخیص دهیم

- پیدرای سفید:

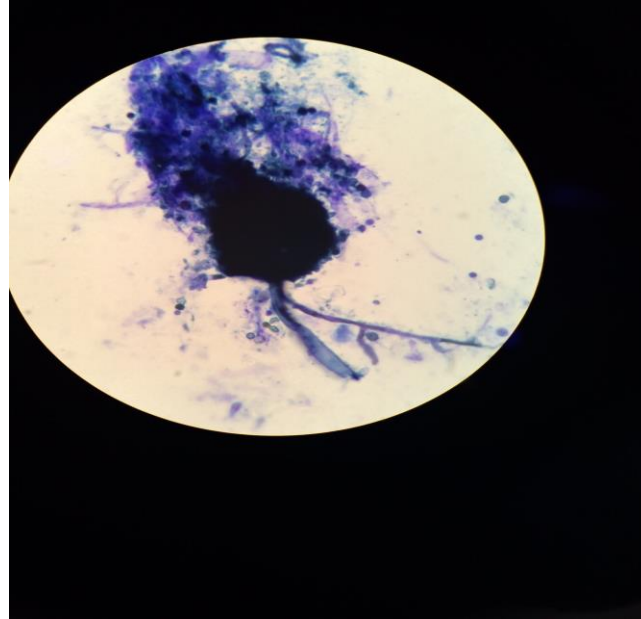
- در داخل گره سلولهای مخمری با جوانه و بدون جوانه ،میسیلیوم، و آرتروکنیدی دیده میشود

- پیدرای سیاه:

- واجد گره های قهوه ای مایل به سیاه و گرد می باشد که از یک قسمت محیطی و یک قسمت مرکزی تشکیل شده است، در توده مرکزی استرومای حاوی آسک دیده می شود. (آسکوستروما) و در درون هر آسک ۸ آسکسپور هلالی شکل و خمیده موجود می باشد.

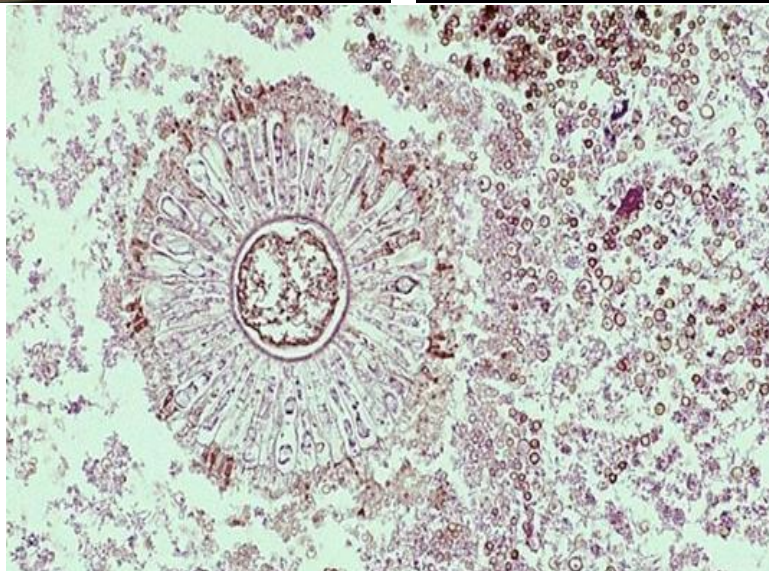


اتومایکوزیس

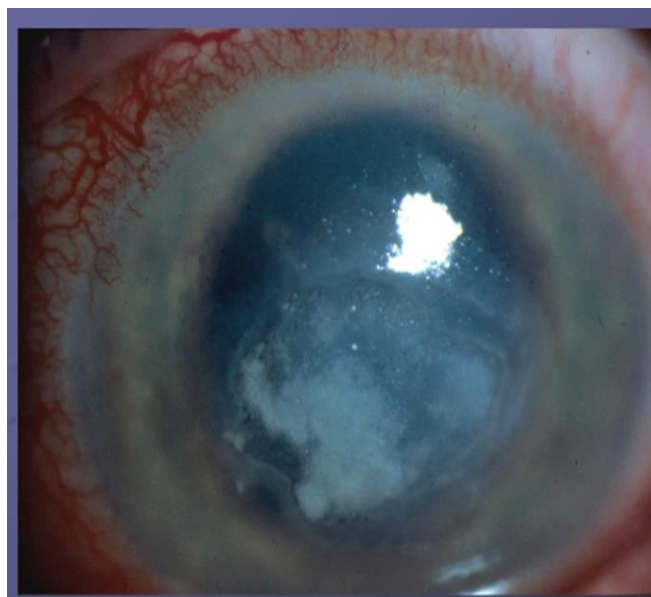


- برای تشخیص آزمایشگاهی، میتوان از آزمایش مستقیم یا کشت استفاده کرد:

در آزمایش مستقیم، با استفاده از پتاس ۱۰٪ و یا با استفاده از رنگ آمیزی های گرم، گیمسا یا بلودومتیلن لام تهیه میکنند. اگر عامل بیماری، قارچ کلونیزاسیون قارچ کپکی در گوش ساپروفیتی مثل *A.niger* باشد، میسلیومهای منشعب و دارای تیغه میانی، وزیکول قارچ، کونیدیوفور و اسپور که مثل چتر در سر اسپورزای قارچ قرار دارد را میتوان مشاهده کرد. اگر عامل بیماری سایر قارچ های رشته ای مثل درماتوفیت ها باشد، میتوان هایفهای دارای آرتروکونیدی و تیغه میانی را مشاهده کرد، و در نهایت اگر عامل بیماری، عوامل مخمری باشد، سلولهای مخمری جوانه داروهایف کاذب دیده میشود.



کراتیت قارچی



- به دو صورت :
- **کونژکتیویت (ورم ملتحمه)**: قرمزی، اشک ریزی، سوزش، خارش
پشت پلک و فتوفوبی (نور ترسی)
- **کراتیت**
- توسط عوامل گندروی موجود در طبیعت
- آ.فومیگاتوس-آ.فلاووس-آ.نیجر به همراه کاندیدا
آلبیکنس، فوزاریوم و اکتینوما یسس اسرائیلی و بویس شایعترین
عوامل اتیولوژیک هستند

تشخیص

- کونژکتیویت: به کمک سوآپ از پشت پلک
- کراتیت توسط پزشک با تراشیدن قرنیه

تشخیص اریتراسما



نمای میکروسکوپی باکتری در رنگ آمیزی بلودومتیلن

در آزمایش مستقیم، ابتدا با استفاده از اسکالپل استریل نمونه برداری کرده و با رنگ بلودومتیلن یا پتاس٪ ۱۰، لام تهیه میکنیم. در رنگ آمیزی بلودومتیلن، ابتدا گسترش میکروبی تهیه میکنیم و آن را با حرارت، فیکس میکنیم، سپس با رنگ آمیزی بلودومتیلن رنگ کرده و با بزرگنمایی های ۴۰ و ۱۰۰ با روغن زیر میکروسکوپ مشاهده میکنیم. زیر میکروسکوپ میتوان قطعات رشته مانند نازک اکتینومیستها را که قطر کمتر از ۱ میکرون دارند، به همراه قطعات خرد کوكسى و باسیلى شكلى كه باكتري از خود به جا ميگذارد را مشاهده كرد خود باكتري از باسيلها كوچكتر و ظريفتر است.

با چراغ وود یا نور UV: ایجاد فلورسانس قرمز لعلى قرمز آجرى یا مسى

میکند



نمای ظاهرى بيمارى با لامپ وود

ترایکوما یکوزیس آگزیلایس



- تشخیص آزمایشگاهی این بیماری با آزمایش مستقیم انجام میشود؛ ابتدا موهای آلوده را قطعه قطعه کرده و سپس با افزودن ۱ تا ۲ قطره لاکتوفنل ساده، آن را زیر میکروسکوپ مشاهده میکنیم.
- در زیر میکروسکوپ، ما باکتری را مشاهده نمیکنیم، بلکه مشاهده غلاف ناهموار زرد رنگ در اطراف ساقه مو برای تشخیص بیماری کفایت میکند.

درماتوفیتوزیس

اشکال کلینیکی درماتوفیتوزیس عبارتند از:

کچلی سر (Tinea capitis)

کچلی بدن (Tinea corporis)

کچلی ناخن (Tinea unguium)

کچلی کشاله ران (Tinea cruris)

کچلی پا (Tinea pedis)

کچلی ریش (Tinea barbea)

کچلی دست (Tinea manum)

- یکی از مهمترین عفونتهای قارچی جلدی، عفونت درماتوفیتوزیس است. این عفونت با اسامی دیگری از جمله کچلی یا tinea و ringworm هم شناخته میشود. در این دسته از عفونت قارچی، بافتهای کراتینیزه بدن از جمله پوست و ضمایمش مثل مو و ناخن در اثر جایگزین شدن دسته ای از قارچها به نام درماتوفیتها مبتلا میشود. شدت این بیماری به فاکتورهای مختلفی بستگی دارد؛ از جمله: نوع سوش و یا گونه درماتوفیت که عفونت را ایجاد کرده (که بر اساس گونه تظاهرات مختلفی ایجاد میشود)، حساسیت میزبان به عوامل عفونی خاص (ممکن است بعضی از میزبانها نسبت به بعضی از عوامل حساسیت بیشتری نسبت به سایر میزبانها داشته باشند) و وضعیت عمومی میزبان مبتلا به عفونت



کچلی سر



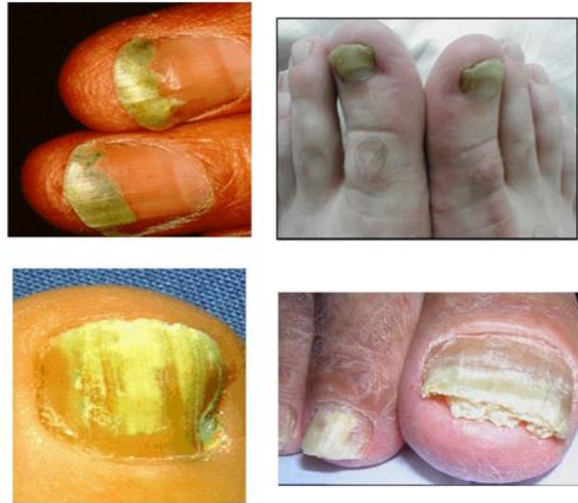
کچلی بدن



کچلی کشاله ران



کچلی پا



کچلی ناخن



کچلی ریش و سبیل



کچلی دست

تشخیص درماتوفیتوزیس

- تشخیص عفونتهای درماتوفیتی بسیار اهمیت دارد زیرا می تواند در مدیریت بهتر درمان بیماری کمک کننده باشد. مراحل مختلفی در فرآیند تشخیص داریم که یکی از مهم ترین مراحل آن، نمونه گیری است (ابتدایی ترین قدم برای تشخیص است). نمونه برداری در درماتوفیتوزیس بر حسب نوع ضایعه یا فرم بالینی ایجاد شده، متفاوت است:
- نمونه برداری ضایعه در جلد: از قسمت های فعال ضایعه به خصوص لبه های ضایعه به وسیله اسکالپل گندشده استریل پوسته ها را می تراشیم. برای تمیز کردن پوست یا سطح پوست سر از الکل ۷۰ درجه استفاده کنید
- نمونه برداری ضایعه در ناخن: تجمعات و دبری جمع شده بین بافت زنده و بستر زیر ناخن با استفاده از اسکالپل گندشده استریل (ابتدا با ناخنگیر باید لبه آزاد ناخن ها گرفته شود و تا جاییکه بیمار احساس درد میکند پیشرفت) تراشیده شده و برداشته میشود.
- نمونه برداری ضایعه در نواحی مو دار (مثل کچلی سر یا ریش): مو باید کاملاً از فولیکول کنده شود. برای این کار ابتدا باید موهای بلند را کوتاه کنیم، سپس با موچین استریل، مو را از فولیکول می‌کنیم (۱۰ تا ۱۵ تا مو). همچنین اگر پوسته ها درگیر هستند، آنها هم باید برداشته شوند، یک روش جایگزین برای جمع آوری نمونه های پوست سر استفاده از برس استریل و یا یک مسواک کوچک یا یک سواب مرطوب شده است

نمونه برداری از کچلی سر



اندوتریکس

• **اکتوتریکس:** در کچلی سر نوع اکتوتریکس اسپورها و آرتروکونیدیهای قارچ در اطراف ساقه مو تا نزدیک فولیکول مو رشد میکنند.

عمدتاً گونه های درماتوفیت از جنس تریکوفایتون و میکروسپوروم حیواندوست و انساندوست در این نوع کچلی نقش دارند

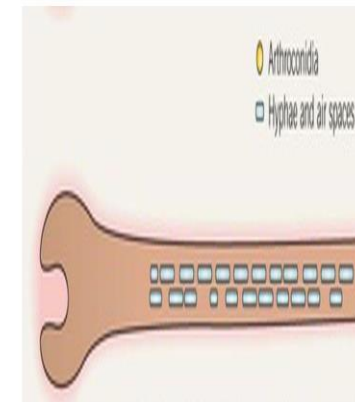
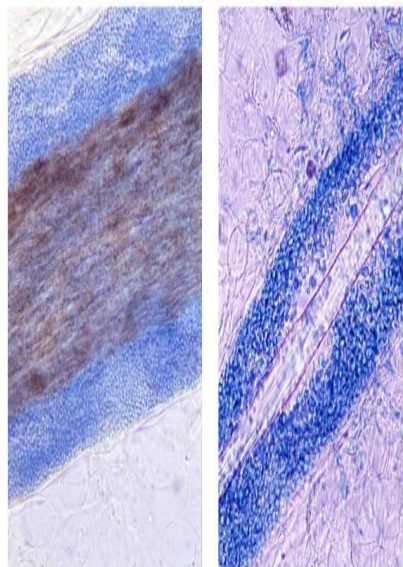
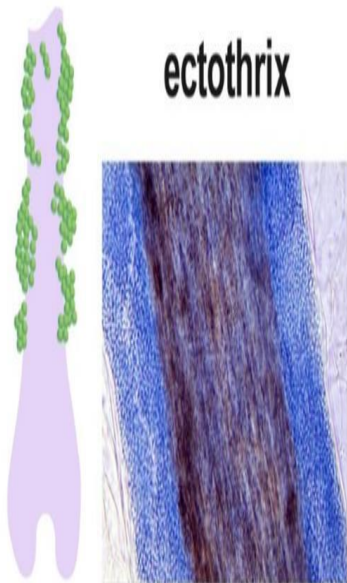
• **اندوتریکس:** در کچلی سر از نوع اندوتریکس، آرتروکونیدیها و اسپورهای قارچ در داخل ساقه مو رشد میکنند. این نوع عفونت عمدتاً

در اثر گونه های انساندوست جنس تریکوفایتونها ایجاد میشود.

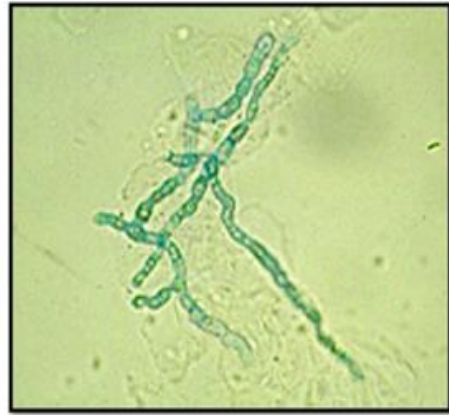
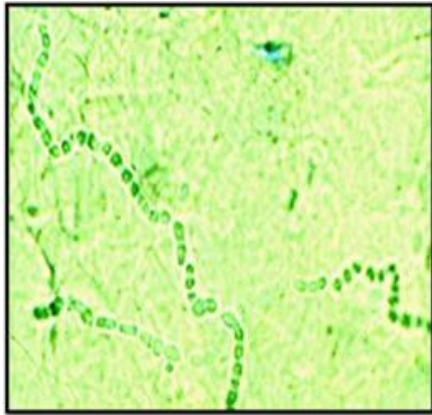
• **فاووس:** در کچلی سر از نوع فاووس Favus، میسلیمهای قارچ هستند که در داخل ساقه مو رشد میکنند و مو را مبتلا میکنند

• کچلی سر از نوع فاووس یک عفونت التهابی حاد فولیکولهای مو است و این عفونت در اثر گونه تریکوفیتون شوینلاینی (یک درماتوفیت

انساندوست) ایجاد میگردد

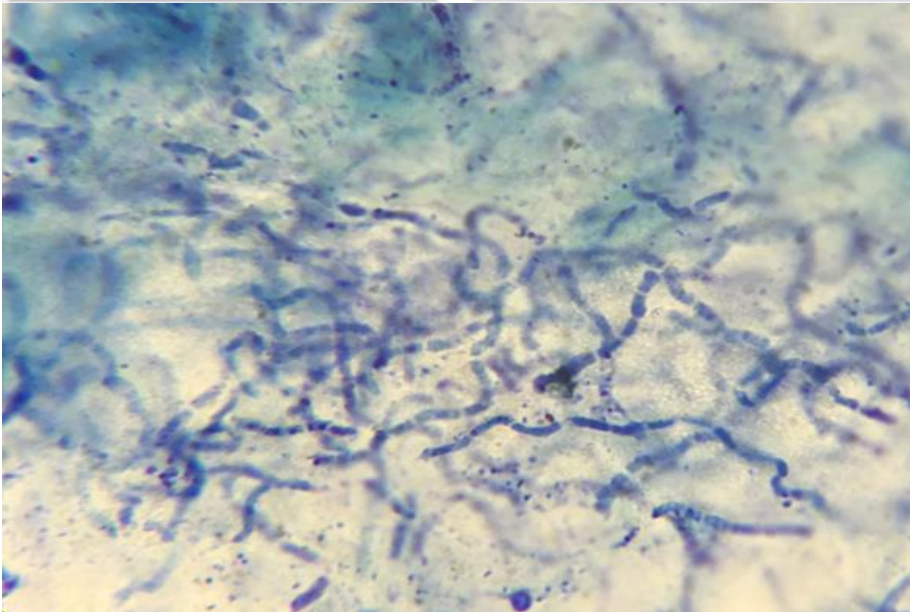


- بررسی های آزمایشگاهی روی نمونه ها شامل دو نوع **مستقیم** (با استفاده از میکروسکوپ) و **کشت** میباشد
- بررسی میکروسکوپی نمونه های گرفته شده از بیماران، در فرآیند تشخیص بیماری درماتوفیتوزیس بسیار کاربرد دارد. نمونه ها را با KOH ۱۰ یا ۲۰ درصد، شفاف میکنند. بدین منظور پس از اضافه شدن KOH، برای شفاف سازی به آن زمان میدهیم و یا با عبور دادن از روی شعله به گونه ای که به جوش نیاید این کار صورت میگیرد و سپس لام آماده شده را زیر میکروسکوپ مشاهده میکنیم و ساختارهای عناصر قارچی را جستجو میکنیم. (۱۰ یا ۲۰ گرم در ۱۰۰CC آب مقطر)



درصد KOH به ضخامت نمونه بستگی دارد، مثلاً برای ناخن یا پوست ضخیم از درصد بالا (حدود ۲۰٪) استفاده میشود. اندازه و شکل هایفها و میسلیمهای قارچی همراه با قطعات آرتروکونیدی، باعث افتراق قارچ های عامل درماتوفیتوزیس (درماتوفیتها) از سایر قارچها (به خصوص قارچهای رشته ای ساپروفیت) میشود و میتواند تشخیص اولیه بیماری درماتوفیتوزیس را در بررسی های میکروسکوپی به ما بدهد. هایفها و قطعات آرتروکونیدی در بین سلولهای اپیتلیوم پوستی به صورت زنجیروار پشت سر هم قرار میگیرند. **اضافه کردن DMSO (دی متیل سولفوکساید) به پتاس باعث شفاف شدن سریع نمونه های ضخیم وبافت ناخن میشود**

مشاهده عناصر قارچی به صورت مستقیم، فقط میتواند تشخیص اولیه بیماری درماتوفیتوزیس را به ما بدهد. ولی نمی تواند نوع عامل بیماری را به ما نشان دهد.



کشت

- یکی دیگر از اقدامات تشخیصی روی نمونه بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس، کشت نمونه بر روی محیط‌های مناسب برای رشد عوامل ایجاد کننده عفونت است. کشت نمونه ها، نوع عامل بیماریزای قارچی را از روی مشخصاتی که قارچ پس از رشد روی محیط کشت به جا میگذارد، به ما نشان میدهد. شناسایی گونه های درماتوفیتها از لحاظ پیش آگهی و درمان بیماری اهمیت دارد و بررسی کشت صورت گرفته روی نمونه ها در این شناسایی بسیار مهم است.
- بدین منظور نمونه ها در محیط سابورو دکستروز آگار **SDA حاوی سیکلوهگزامید و کلرامفنیکل** کشت داده میشوند. سابورو دکستروز آگار محیط کشت عمومی قارچها در قارچ شناسی پزشکی است که در این بررسی به آن کلرامفنیکل (جهت جلوگیری از رشد باکتریهای درون نمونه) و سیکلوهگزامید (جهت جلوگیری از رشد سایر قارچهای ساپروفیت و قارچهای کپکی دیگر) اضافه میکنیم. به دلیل رشد سریع قارچهای ساپروفیتی، ممکن است آنها محیط کشت را آلوده کرده و مانع رشد درماتوفیتها شوند.
- پس از تلقیح، محیط های کشت به مدت ۱ تا ۴ هفته در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد نگهداری میشوند تا پس از تولید و رشد کلونیهها، از لحاظ مشخصات ماکروسکوپی و میکروسکوپی بررسی شده و نوع قارچ درماتوفیت مشخص شود.



ت. شوئن لاینی



ت. وروکوزوم



ت. منتاگروفایتیس



ترایکوفایتون روبروم



میکروسپوروم جیپسٹوم



م. کنیس



اپیدرموفایتون فلوکوزوم

نمونه های سطحی

سه گروه از قارچ ها با نمونه های سطحی مرتبط هستند (پوست، ناخن، و مو) که شامل درماتوفیت ها، کپک های غیردرماتوفیتی، و مخمرها می باشند.

تمام درماتوفیت ها بطور کلی پاتوژن هستند.

تشخیص عفونت هائی که در اثر کپک های غیردرماتوفیتی و مخمرها ایجاد می شوند همچنان مناقشه انگیز است که آیا بعنوان عوامل عفونت های شبه درماتومیکوزی (پوست، ناخن، و مو) شناخته شوند یا خیر. (non- Dermatophyte mold)

استاندارد طلائی برای تعیین دقیق عفونت ها بوسیله ی این ارگانیزم ها شامل موارد زیر است:

-عناصر قارچی در آزمایش میکروسکپی و یا هیستوپاتولوژی با قارچ جدا شده از کشت سازگار باشد.

-تکرار جداسازی عامل مسبب از بیمار در غیاب درماتوفیت ها

اگر اهمیت ایزوله ناشناخته باشد براساس چنین معیارهائی یک یادداشت (comment) ممکن است به گزارش آزمایشگاه اضافه شود مانند:

This isolate may commonly be found in the environment and can contaminate specimens or colonize patients. Laboratory results should be "correlated with the clinical presentation. Contact the mycology laboratory if further discussion is required".

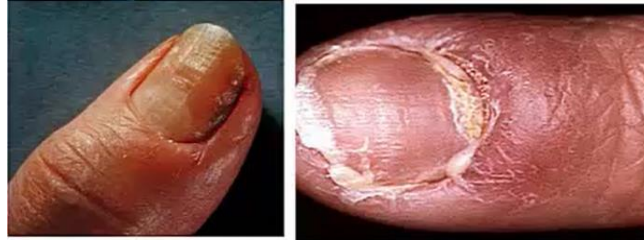
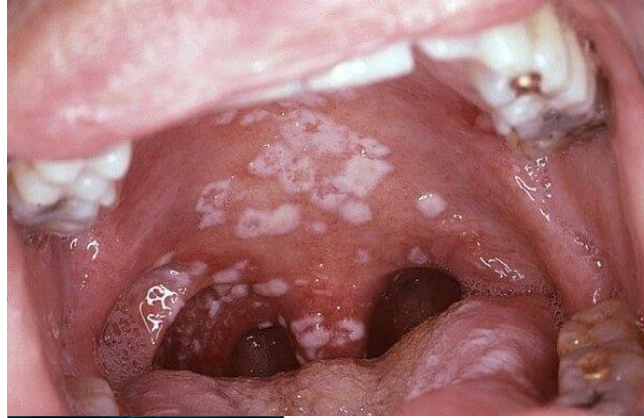
برطبق مطالعات گزارش شده در سراسر دنیا کپک های غیردرماتوفیتی به درجات مختلفی (۱/۵٪ تا ۶٪) بعنوان عامل میکوزهای غیردرماتوفیتیک شناخته شده اند.

نمونه های درماتولوژیکال

-نمونه های مورد نظر برای کشت درماتوفیتها نباید در یخچال قرار گیرند.

-موفقیت کشت درماتوفیت مستقیما با مقدار نمونه ی دریافت شده ارتباط دارد.

کاندیدیازیس



- این بیماری متداولترین نوع عفونتهای قارچی فرصت طلب (opportunistic) است که در نتیجه عفونت با قارچ **کاندیدا** اتفاق میافتد
- قارچ کاندیدا یک قارچ مخمر است که به عنوان فلور طبیعی در پوست و سطوح مخاطی انسان وجود دارد و در سطوح داخلی دستگاه گوارش (حفره دهان، مری و روده ها)، دستگاه تنفس و دستگاه ادراری-تناسلی (مخصوصاً واژن) یافت میشود. هرگاه بدن میزبان ضعیف شود، این قارچ تکثیر پیدا میکند و به بافت مورد نظر حمله و ایجاد بیماری میکند.
- قارچ کاندیدا گونه های مختلفی دارد که مشهورترین و مهمترین آنها (*Candida albicans*) است
- این قارچ در زیر میکروسکوپ ساختمان تک سلولی دارد و از این نظر با قارچهای رشته ای متفاوت است. قارچ کاندیدا در حالت فلور نرمال خودش، به صورت سلول مخمری به تعداد اندک در پوست و سطوح مخاطی مشاهده میشود. اما در حالت بیماریزای خود علاوه بر تکثیر، حالت آن نیز از حالت مخمری به شکل mycelial در میآید که اصطلاحاً به آن (pseudohyphae) هایف کاذب یا (pseudomycelium) (میسلیوم کاذب) میگویند.

- این بیماری از لحاظ کلینیکی اشکال متنوعی دارد (پلی کلینیکال) و با تعدادی از بیماریهای پوستی، مخاطی و سیستمیک که توسط میکروارگانیزمهای دیگر ایجاد شده ممکن است اشتباه گرفته شود؛ پس ابتدا باید نمونه مناسب (برحسب محل عفونت) تهیه شود:

- ضایعات پوستی: skin scrapping و نمونه گیری از ناخن

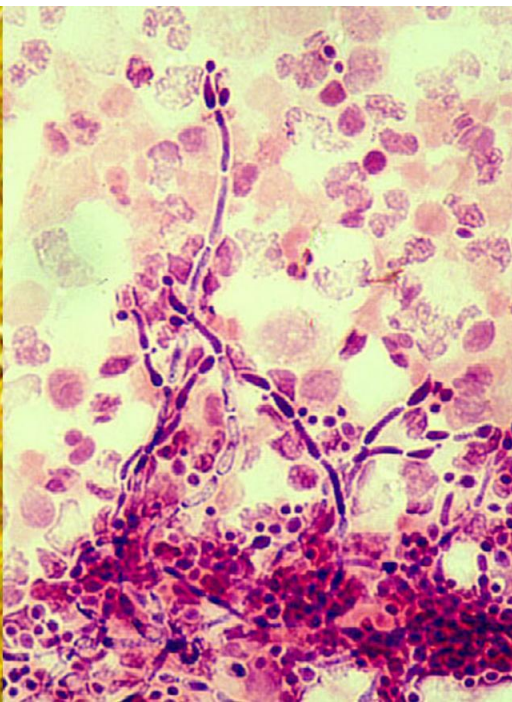
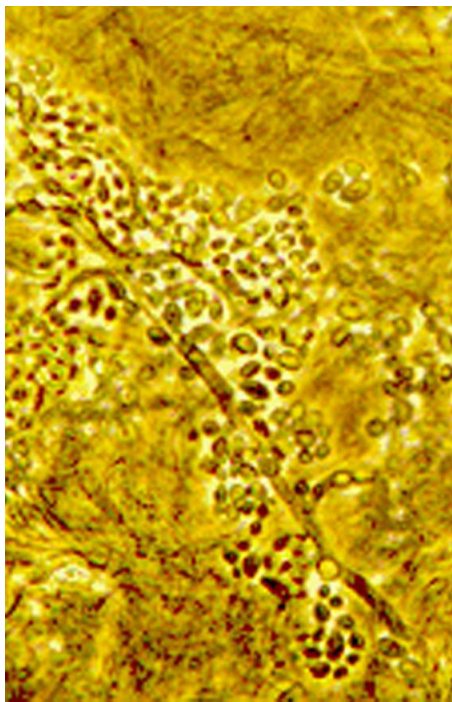
- ضایعات مخاطی: برداشت تراشه از سطح دهان، زبان، یا نمونه گیری از واژن از طریق سواب

- ضایعات سیستمیک: نمونه های خون، ادرار، CSF و bronchoalveolar lavage (BAL)

- این نمونه ها باید مورد آزمایش مستقیم قرار بگیرند (روش اصلی و سریعتر و راحتتر) و همینطور برای تشخیص گونه باید آن را کشت بدهیم. در آزمایش مستقیم باید فرم مهاجم قارچ (pseudohyphae یا میسلیم کاذب) را به همراه بلاستوکونیدی زیاد مشاهده

کنیم (آزمایش Gold standard)

- برای تشخیص گونه، نمونه باید کشت داده شود. باید در محیط sabouraud dextrose agar در دمای ۲۵-۳۰ درجه) قارچ را کشت دهیم؛ سپس با تستهای افتراقی (فیزیولوژی، بیوشیمیایی) یا به وسیله PCR این کلونیها را تعیین هویت کنیم. امروزه استفاده از PCR، برای تعیین و تشخیص نوع کاندیدا بسیار مهم است. استفاده از روش serology به صورت کمکی مؤثر است، اما به تنهایی برای تشخیص کاربرد ندارد. از تست جرم تیوب میتوان برای تشخیص کاندیدا آلبیکنس استفاده کرد(اضافه کردن یک آنس کلنی مجهول به ۲ سی سی سرم انسان و گذاشتن در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲ ساعت)

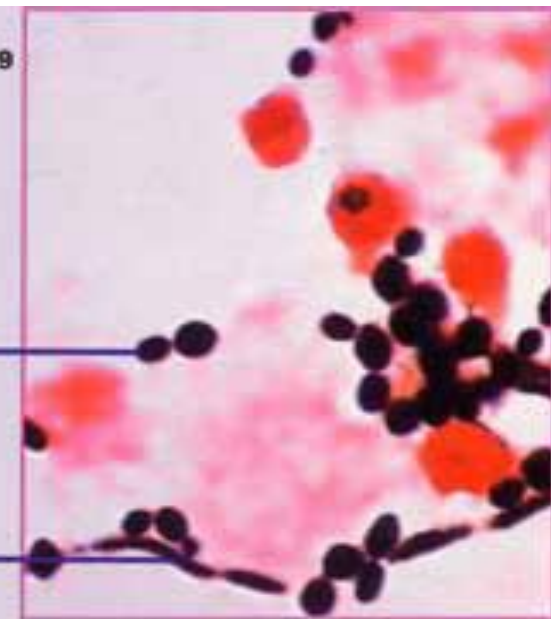


کاندیدیازیس

Image Courtesy of Merck & Co., Inc. 1999

budding yeast

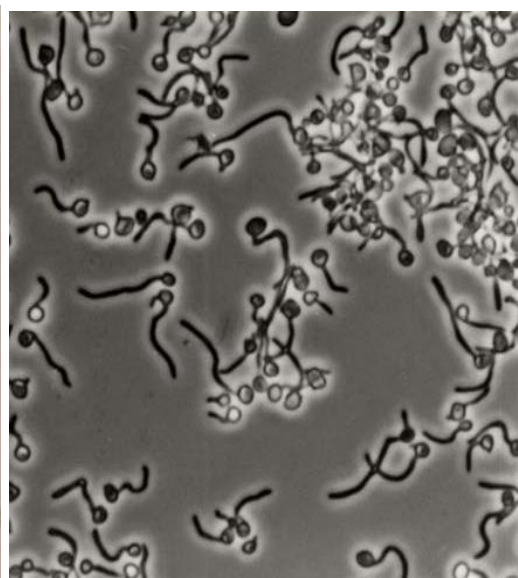
pseudohyphae



Gram stain of clinical specimen showing *Candida albicans*



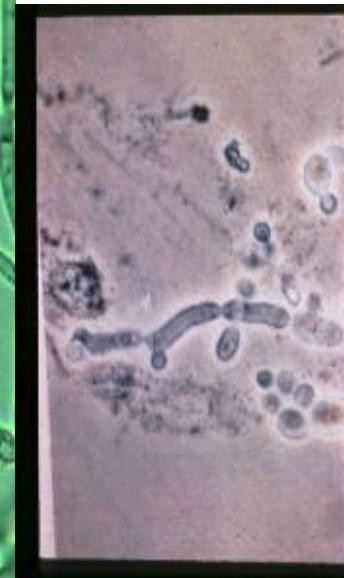
جرم تیوب



جرم تیوب



کاندیدا آلبیکنس



کاندیدیازیس

Mucormycosis

- یک بیماری قارچی فرصت طلب است که به دنبال تهاجم قارچهای mucoral در افراد مستعد شکل میگیرد .

- این قارچها رشد سریعی دارند و میسلیومهای آن معمولاً سپتوم یا تیغه میانی ندارند (برخلاف aspergillus) این قارچ قند دوست است و در محیط قندی رشد سریعی دارد. از گونه های مهم این رده میتوان به Absidia ،Rhizopus ،Rhizomucor و Mucor اشاره کرد. از نظر بیماریزایی قدرت تهاجم عروقی زیادی دارند و به عروق خونی بافتهای مختلف حمله کرده و خونرسانی به آنها را مختل کرده و باعث نکروزیس بافت میشوند. (البته این تهاجم در aspergillosis هم به طور خفیفتر دیده میشود و وجه تمایز این دو وجود سپتوم و تیغه عرضی در میسلیوم aspergillosis و عدم وجود آن در میسلیوم mucormycosis است)

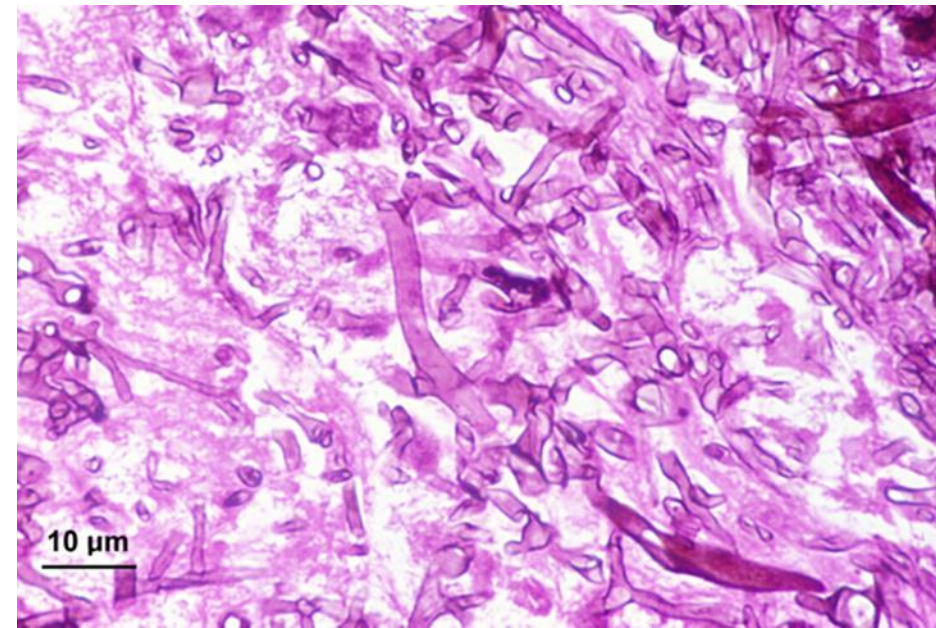
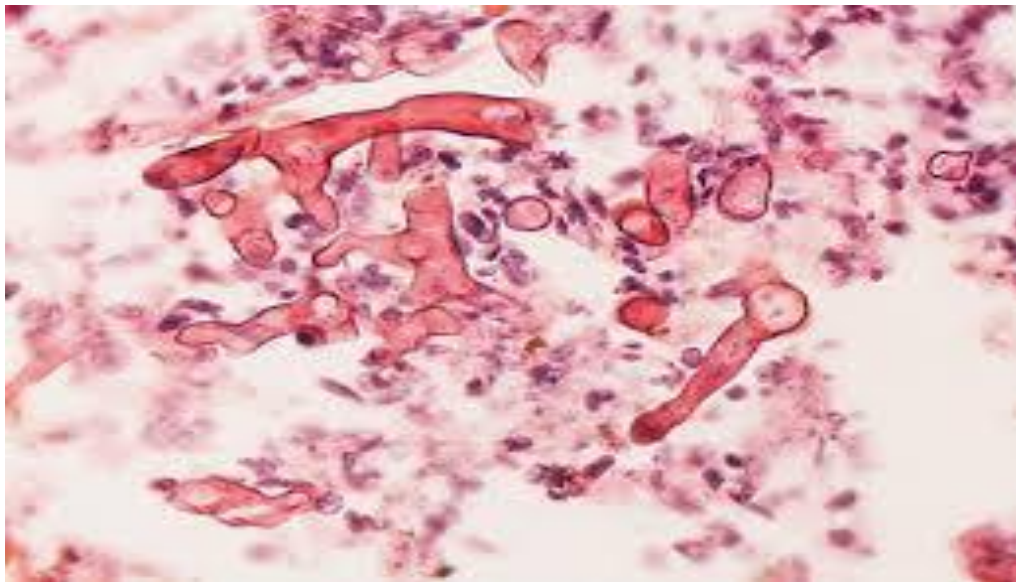
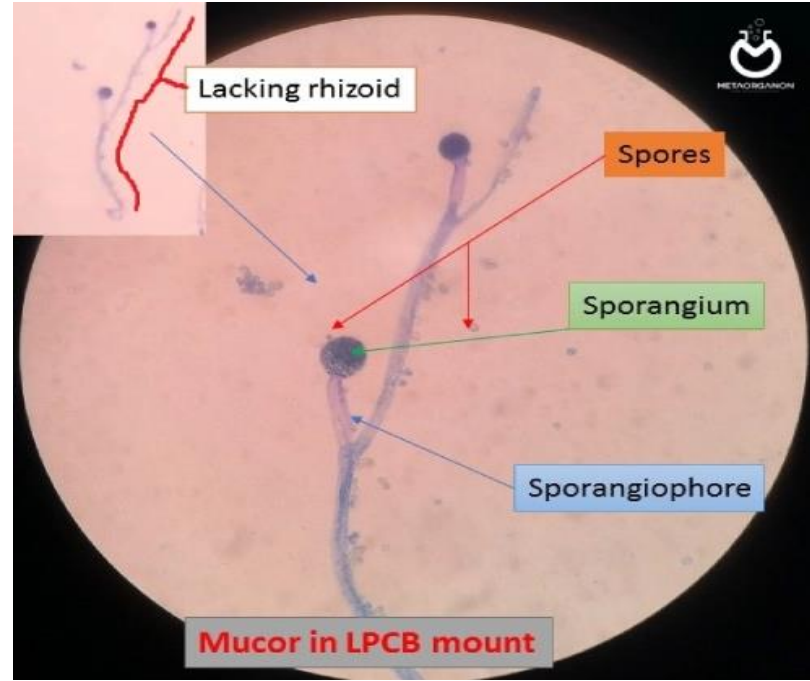
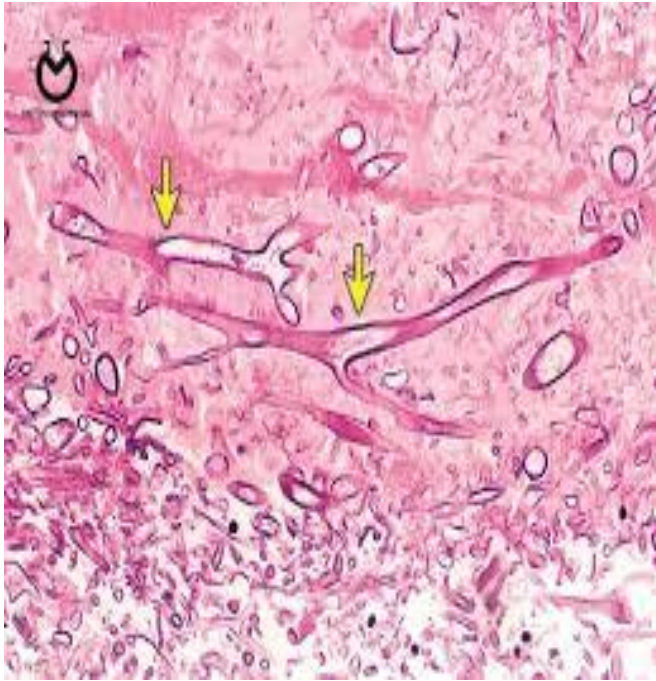
- فاکتورهای زمینهای: از فاکتورهای مستعدکننده افراد به بیماری میتوان به دیابت، سرطانها به ویژه سرطانهای خونی، مصرف طولانی مدت برخی داروها، سوء تغذیه و کمبود برخی ویتامینها، تروماها و سوختگی اشاره کرد.

یکی از شایعترین زمینه ها، دیابت است



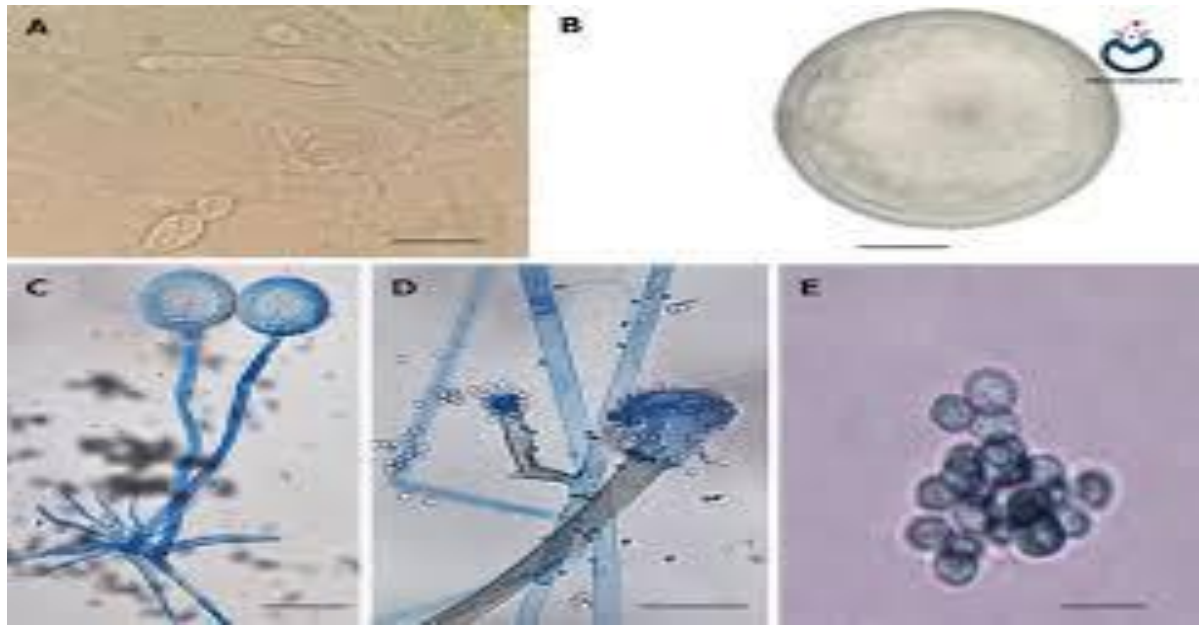
تشخیص

- بر حسب محل ضایعه و شکل بیماری تشخیص داده میشود. با توجه به علائم و تاریخچه موجود، پزشکان به بیماری مشکوک میشوند و نمونه هایی را به آزمایشگاه قارچ شناسی ارجاع میدهند. بر حسب محل عفونت، نمونه مناسب باید تهیه شود
 - نمونه های مربوط به اشکال مختلف کلینیکی مورکورمایکوزیس به این صورت هستند:
 - موکورمایکوزیس جلدی: از Biopsy پوست
 - موکورمایکوزیس راینوسربرال: از بیوپسی سینوسهای بینی
 - عفونت مغزی از CSF
 - در عفونت ریوی از خلط و BAL برخی اوقات نمونه های خونی هم استفاده میشوند
 - **نکته مهم** درباره نمونه های قارچهای فرصت طلب این است که نمونه ها باید به صورت تازه به آزمایشگاه ارسال شوند و در آزمایشگاه به صورت سریع مورد بررسی قرار گیرند. نگهداری نمونه ها به صورت طولانی مدت باعث رشد آلوده کننده ها و تشخیص اشتباه میشود. در صورت وجود مشکل میتوان از cold box یا یخچال به مدت حداکثر ۲۴ ساعت برای نگهداری نمونه استفاده کرد
- نمونه ها باید مورد آزمایش مستقیم و کشت (در sabouraud dextrose agar در دمای ۲۲ تا ۳۵ درجه) قرار بگیرند. آزمایش مستقیم بسیار اهمیت دارد و کشت به عنوان روش کمکی است و به تنهایی ارزشی ندارد. در آزمایش مستقیم مشاهده هایف یا میسلیم بدون تیغه میانی نشاندهنده **mucomycosis** است که میتواند انشعاب داشته یا نداشته باشد.
- به دلیل عدم وجود دیواره، موکورمایکوز حالت نواری (روبانی شکل) و خمیده پیدا میکند که در مقاطع آسیب شناسی و در آزمایش با پتاس کاملاً مشهود است.



• نکته ای که در کشت وجود دارد این است که در خیلی از موارد با وجود مثبت شدن آزمایش مستقیم موکور مایکوزیس، در کشت قارچ رشد نمیکند و نمیتوان جنس و گونه قارچ را تشخیص داد که از لحاظ درمانی مشکلی ایجاد نمیکند. به دلیل این که این قارچ خود، آلوده کننده محیط کشت محسوب میشود، تشخیص قطعی آن کمی سخت است و باید نمونه در شرایط خوب و تازه مورد بررسی قرار گیرد

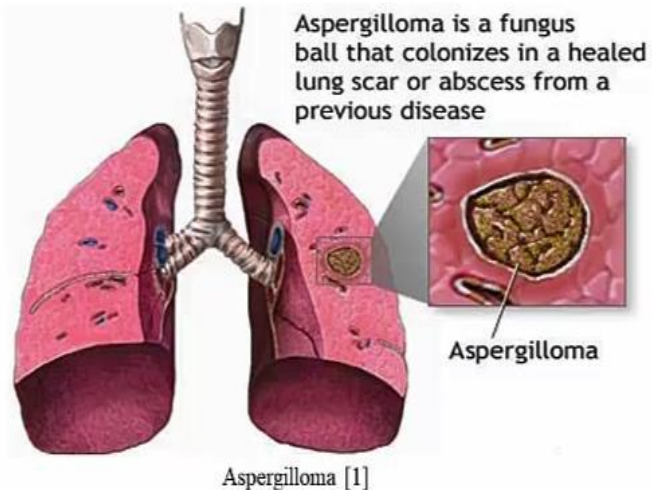
• کلونیهای قارچ سرعت رشد زیادی دارند و در محیط کشت ظرف ۲۴ ساعت کلونیهای قابل تشخیص تشکیل میدهند و سطح پتری را پوشانده و بالا میآیند و بر حسب جنس و گونه به رنگهای سفید، خاکستری، سیاه و قهوه‌ای مشاهده میشوند.

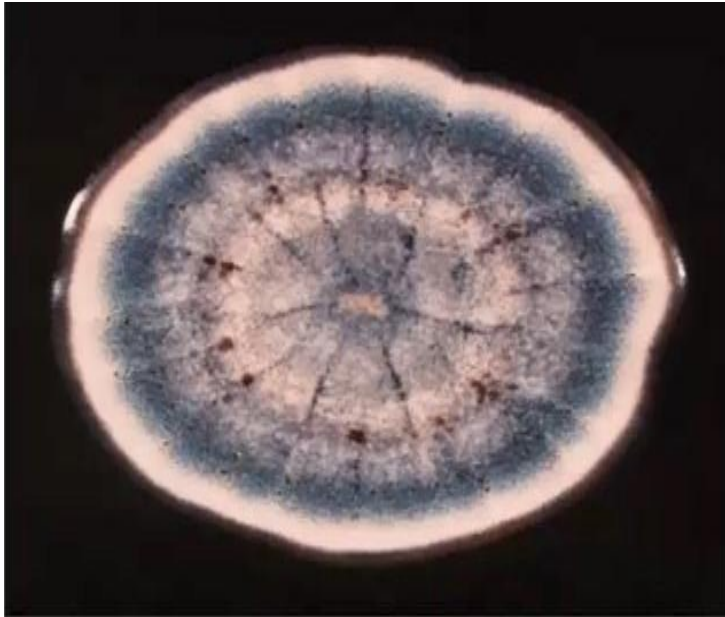
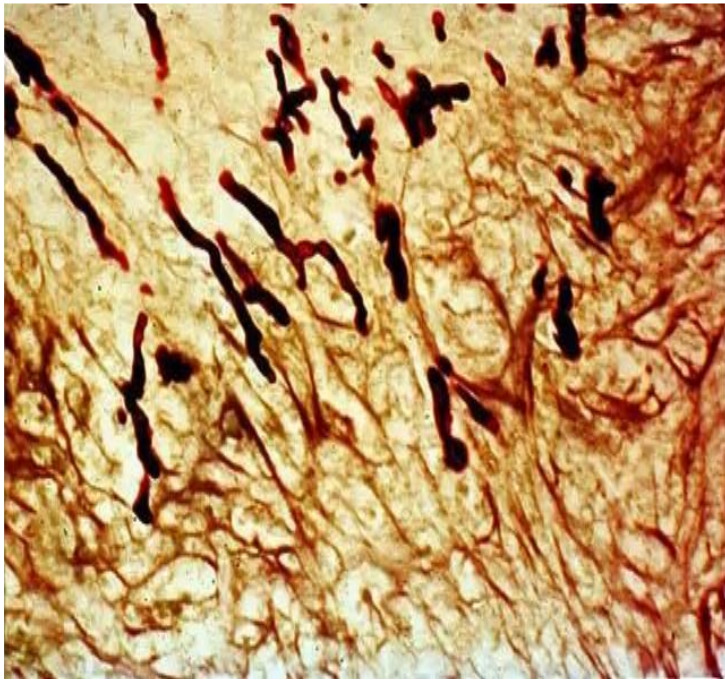


آسپرژیلوزیس

- *A. fumigatus* مهمترین و شایعترین گونه به شمار میرود، به دنبالش *A. flavus* (که در ایران در بیشتر موارد به عنوان عامل اصلی شناخته میشود)، *A. niger*، *A. clavatus*، *A. nidulans*، *A. niveus* از دیگر گونه های این قارچ هستند. این میکروارگانیسم در هوا و فضای اطراف ما، در گل و گیاه و به طور کلی در تمام محیط اطراف ما به صورت spore مشاهده میشود. از طریق باد و جریان هوا منتشر میشود و میتواند با تنفس به ریه برسد و باعث عفونت شود؛ البته این بیماری در گروه عفونتهای قارچی

فرصت طلب است و در میزبانهای حساس و ضعیف ایجاد بیماری میکند





- نمونه گیری: خلط (sputum) و BAL در عفونت ریوی، خون و ادرار در عفونت سیستمیک، بیوپسی در عفونتهای پوستی و nasal-orbital
- Biopsy بهترین نمونه است اما در تمام بافت امکان تهیه آن وجود ندارد. مثلاً در ریه چون تهیه biopsy روش تهاجمی است و خطر خونریزی وجود دارد، امکانپذیر نیست.
- این نمونه ها باید مورد آزمایش مستقیم کشت قرار بگیرند.
- در آزمایش مستقیم باید در نمونه زیر میکروسکوپ میسیلیومهای تیغه دار (سپتوم دار با دیواره عرضی) مشاهده شود. در این حالت تا ۹۹٪ تشخیص قطعی است؛ اما برای تشخیص نهایی نمونه باید مورد کشت قرار بگیرد و ما قارچ آسپرژیلوس را از محیط کشت جداسازی کنیم. قارچ ممکن است در زیر میکروسکوپ با انشعابات با زاویه حاده در حالت بیماری دو شاخه شده باشد (dichotomous)، که البته اهمیت تشخیصی ندارد و وجود دیواره عرضی مهمتر است؛ چرا که علائم بالینی این بیماری مشابه بیماری mucormycosis بویژه در سینوسهای بینی است؛ ولی قارچهای mucoral سپتوم ندارند و سیر بیماری سریعتری دارند. امروزه میتوان از بیومارکرها مثل آنتی ژنهای گالاکتومانان و بتاگلوکان در تشخیص این بیماری استفاده کرد.
- اما باید به طور کمکی از این روشها در کنار آزمایشهای قارچ شناسی و کشت استفاده کرد و به تنهایی به دلیل وجود false positive ها قابل استفاده نیست. اگر چه این روش به دلیل استخراج بیومارکرها از خون روش ساده تری است.
- در انتها در فرایند تشخیص حتماً باید به تاریخچه بیمار و زمینه ها توجه کنیم.

Cryptococcosis

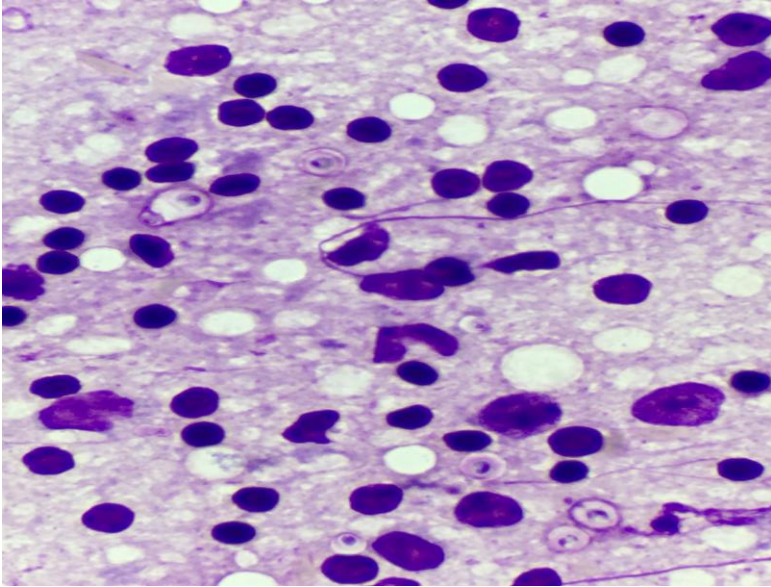
- این بیماری توسط مخمری بنام *Cryptococcus neoformans* ایجاد میشود. این مخمر در روده برخی پرندگان مثل کبوتر به صورت فلور نرمال وجود دارد. به همراه مدفوع آنها دفع میشود و به وسیله باد پخش میشود. راه انتقال به بدن انسان عمدتاً از طریق تنفس و گاهی از طریق آب و مواد خوراکی آلوده است. این بیماری هم برای بروز نیاز به زمینه هایی مانند دیابت، ایدز یا سرکوب سیستم ایمنی در پیوندها دارد. البته اگر مقدار زیادی از قارچ وارد بدن شود، ایجاد بیماری بدون وجود زمینه ها هم ممکن است.

تشخیص

- تشخیص براساس محل عفونت نیاز به نمونه مناسب دارد. در عفونتهای مغزی ، CSF مورد نمونه گیری قرار میگیرد. در عفونت تنفسی، خلط و BAL و در ضایعات پوستی و موضعی، از بیوپسی استفاده میشود. در عفونتهای سیستمیک خون، ادرار هم مورد آزمایش قرار میگیرد. برای تشخیص بیماری باید هر دو روش آزمایش مستقیم و کشت بصورت مکمل استفاده شود؛ زیرا در آزمایش مستقیم حداکثر تا ۵۰٪ موارد بیماری قابل شناسایی است.

- در آزمایش میکروسکوپی (مستقیم) از تست **Indian ink** و یا **Chinese ink** استفاده میشود. این تست روشی قدیمی اما ساده و استاندارد است و با آن میتوان تا ۵۰٪ موارد بیماری را تشخیص داد و کشت به کمک این روش میآید.

- ابتدا باید نمونه را سانتریفیوژ کنیم و از رسوب ته سانتریفیوژ استفاده کنیم. سپس **Indian ink** را به آن اضافه کنیم و سلولهای مخمری کپسول دار را مشاهده کنیم. از اختصاصات **cryptococcus neoformance** به عنوان یک مخمر، داشتن یک کپسول است؛ چون کپسول نفوذپذیر نیست. در **Indian ink**، سلول به صورت هاله ای شفاف در زمینه تاریک مشاهده میشود. اندازه این کپسول در حالت بیماریزایی افزایش می یابد. البته قارچ میتواند جوانه زده باشد یا بدون جوانه باشد که اهمیت تشخیصی ندارد.



- برای کشت از محیط *sabouraud dextrose agar* در دمای ۳۷ درجه استفاده میشود. پس از چند روز کلونیهای تقریباً "سیال" درون قارچ به رنگهای کرم تا صورتی ظاهر میشوند. از خصوصیات کلونیهای *cryptococcus* روان بودن است (برخلاف کلونی های *candida* که کاملاً ثابت است) کپسول در محیط کشت کوچکتر است. البته مجدد باید از کلونی تست گرفته شود و در زیر میکروسکوپ کپسول مشاهده شود تا مبادا با قارچهای دیگری اشتباه گرفته نشود. میتوان از روشهای سرولوژی هم برای تشخیص استفاده کرد که برای تشخیص این بیماری روش مناسبی است. با انجام تست *latex* بر روی خون بیمار یا حتی CSF میتوان بیماری را با روش سرولوژی تشخیص داد.



جدول ۴-۵- روش‌های اصلی مورد استفاده در بررسی میکروسکوپی
مستقیم قارچ‌ها [۲۱،۲۳].

روش	موارد استفاده	نوع قارچ
هیدروکسیدیتاسیم ۵۲-۶۱ درصد	نمونه را به منظور مشاهده بهتر قارچ شفاف می‌سازد. نمونه باید پس از شفاف شدن در زیر میکروسکوپ بررسی شود.	عناصر قارچی متعلق به اکثر قارچ‌های رشته‌ای و مخمرها، فرم مخمّری قارچ‌های دوشکلی در بافت و آرتروسپوره‌های درماتوفیتی موجود در موهای آلوده
سفیدکالکوفلونور (۱/۰ درصد)	عناصر قارچی دارای فلئورسانس را با میکروسکوپ مخصوص می‌توان دید	شناسایی اکثر قارچ‌ها در گسترش‌های مرطوب و مقاطع بافتی ممکن است.
جوهر هندی یا نیگروزین	تهیه گسترش مرطوب در مورد نمونه‌های مایع مغزی - نخاعی و ترشحات شفاف	کپسول اختصاصی کریپتوکوکوس نتوفورمنس را می‌توان دید.
گرم یا متیلن بلو	گسترش‌های بافتی تثبیت شده و ترشحات را به خوبی می‌توان بررسی کرد	سلول‌های مخمّری نظیر کاندیدا آلیکنس و باکتری‌ها را می‌توان دید. کریپتوکوکوس نتوفورمنس به سختی رنگ می‌گیرد
آنتی بادی فلئورسانس	مقاطع بافتی منجمد و گسترش‌های تثبیت شده را می‌توان بررسی کرد	در برخی از آزمایشگاه‌های تخصصی و در مورد برخی از قارچ‌ها نظیر بلاستومایسس درماتیتیدیس وجود دارد.
پرئودیک اسید شیف بارنگ زمینه هما توکسیلین	مقاطع بافتی منجمد و تهیه شده در پارافین (نمونه‌های بیوپسی و بافت)	با این روش اکثر عناصر قارچی را در داخل بافت می‌توان دید. قارچ‌ها در این روش به رنگ صورتی درمی‌آیند. بررسی واکنش بافتی ناشی از تهاجم و حمله قارچ‌ها را نیز می‌توان بررسی کرد.
گوموری متنامین سیلور	مقاطع بافتی منجمد و تهیه شده در پارافین (نمونه‌های بیوپسی و بافت)	با این روش اکثر عناصر قارچی را که به رنگ قهوه‌ای تیره در می‌آیند می‌توان مشاهده کرد.
رایت و گیمسا	گسترش‌های تثبیت شده مغز استخوان و گسترش‌های فشاری تهیه شده از بیوپسی‌ها	مشاهده فرم مخمّری هیستوپلازما کپسولاتوم

جدول ۲-۴- نمونه‌های بالینی و قارچ‌هایی که به‌طور معمول از آنها جداسازی می‌شوند [۲۳].

نمونه	جنس‌های معمول قارچ‌های بیماری‌زا
خون	کاندیدا، کریپتوکوکوس، هیستوپلاسما، توروپسیس
استخوان و مغز استخوان	بلاستوما یسس، کریپتوکوکوس، هیستوپلاسما
مایع مغزی - نخاعی	کاندیدا، کوکسید یوئیدس، کریپتوکوکوس، هیستوپلاسما
تراشه‌های قرنیه	آسپرژیلوس، کاندیدا، فوزاریوم
تراشه‌ها و ترکیبات کانال شتوایی	آسپرژیلوس، کاندیدا
مو	میکروسپوروم، پیدرا، ترایکوفیتون، ترایکوسپورون
مایع مفصلی	بلاستوما یسس، کوکسید یوئیدس، اسپوروتریکس
بافت‌های جلدی - مخاطی	کاندیدا، پاراکوکسید یوئیدس
ناخن	آسپرژیلوس، کاندیدا، اپیدرموفیتون، میکروسپوروم، اسکوپولاریوپسیس، ترایکوفیتون
باقت بینی	آبسیدیا، آسپرژیلوس، موکور، زایزوپوس، رینوسپورید یوم
پوست	کاندیدا، بلاستوما یسس، کوکسید یوئیدس، کریپتوکوکوس، اپیدرموفیتون، مالاسزیا، هیستوپلاسما، میکروسپوروم، ترایکوفیتون، عوامل مایستوما
خلط و مایع شستشوی برونش	آسپرژیلوس، بلاستوما یسس، کاندیدا، کریپتوکوکوس، کوکسید یوئیدس، هیستوپلاسما، موکور، زایزوپوس، اسپوروتریکس، پاراکوکسید یوئیدس، ژئوتریکوم
بافت‌های زیر جلدی و آبسه‌ها	بلاستوما یسس، کلادوسپوروم، کوکسید یوئیدس، کریپتوکوکوس، اگزوفیالا، فونسکا، هیستوپلاسما، لوبوآ، فیالوفورا، اسپوروتریکس
ادرار	کاندیدا، کریپتوکوکوس، هیستوپلاسما، توروپسیس
نمونه‌های واژینال	کاندیدا
شیر	کریپتوکوکوس، کاندیدا، ترایکوسپورون، آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، آلترناریا

جدول ۱-۴ نمونه‌های بالینی که به طور معمول برای بررسی قارچ شناسی به آزمایشگاه ارسال می‌شوند [۲۳].

نمونه	روش جمع آوری	نمونه‌های نامناسب	آماده‌سازی نمونه	محیط کشت	آزمایش مستقیم	زمان حذف نمونه
آبه	به صورت استریل به وسیله سرنگ و سوزن از آبه‌های بسته	نمونه‌های به دست آمده از زخم‌های باز، نمونه‌های تهیه شده با سواب	تلقیح مستقیم، تلقیح رسوب حاصل از سانتریفوژ نمونه	لوله‌های حاوی BHIA, SCC, SDA. نگره‌داری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد	پتاس ۱۰ درصد یا PAS	۴ هفته
خون	۸ میلی‌لیتر در لوله‌های ونوجکت حاوی ماده ضد انعقاد	خون‌های لخته شده	نگه‌داری نمونه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد پیش از آماده‌سازی، انتقال نمونه به محیط‌های خون دوفازی	پلیت‌های حاوی SDA؛ کشت مجدد هر ۴۸ ساعت یکبار روی SDA، BHIA، و نگره‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد	PAS، گیمسا، گرم	۲ هفته
مغز استخوان	۰/۲ تا ۰/۳ میلی‌لیتر در یک سرنگ چهارپارته	مغز استخوان لخته شده	تلقیح مستقیم در محیط کشت و آماده‌سازی در طی دو ساعت، نگه‌داری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا پیش از آماده‌سازی	لوله‌های حاوی SDA, SCC, SDA خون‌دار، نگره‌داری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد	PAS، گیمسا	۴ هفته (۱۲ هفته در موارد مشکوک به هیستوپلازما)
ترشحات برونش‌ها	جمع‌آوری مایع برونشی در ظرف استریل	نمونه‌های خشک شده	تلقیح مستقیم قطعات بافتی در محیط کشت؛ ترشحات برونشی در محیط‌های مایع تلقیح می‌شوند و تا زمان آماده‌سازی باید در یخچال نگه‌داری شوند	لوله‌های حاوی BHIA, SCC, SDA. مایع شستشوی برونشی در لوله‌های حاوی BHI برات کشت داده می‌شود. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری می‌شوند.	پتاس ۱۰ درصد، PAS	۴ هفته
مایع مغزی - نخاعی	۳ میلی‌لیتر در لوله استریل	مقادیر ناکافی نمونه	تلقیح مستقیم در محیط کشت، نمونه باید تا پیش از آماده‌سازی در یخچال نگه‌داری شود	پلیت‌های حاوی BHIA, SDA؛ نگره‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد	جوهر هندی (حداقل ۳ اسمیر جهت منفی تلقی کردن نمونه مورد نیاز است)	۲ هفته

REPORT OF LABORATORY INVESTIGATION

“Mycology”

Patient's name: Lab no.: Date: Sender

Source: Scalp scales/scalp hair/skin scales/toenail/fingernail/toewebs/groin/...

I- Direct Examination

KOH 10% preparation

Blue de methylene staining

Scotch tape method

***Positive Result**

Fungus elements present in skin, Nail and scalp:

Typical dermatophyte hyphae breaking up into arthroconidia (Dermatophytosis)

Branching filaments (Dermatophytosis)

Septate, branched hyphae and budding cells (Malassezia furfur or other Malassezia spp.)

Budding cells in different size & shapes (Malassezia furfur or other Malassezia spp.)

Pseudohyphae and budding cells (Candidiasis)

Long filaments, small coccoid forms and rod-like organism (Corynebacterium minutissimum)

Only Budding cells (Candida spp., Saccharomyces spp., or other true yeasts)

:Fungus elements present in scalp hair

spores outside the hair shaft (Ectothrix)

spores inside the hair shaft (Endothrix)

mycelium and arthrospores inside the hair shaft (Favus)

***Negative Result**

Fungal elements not present.

II- Culture:

Fungus not Isolated

Specimen/ Culture Unsatisfactory

Organism(s) Isolated/ Identified

با شکر از توجّه شما

