

به نام خدا



روش های تشخیص آزمایشگاهی عفونت های قارچی سطحی و جلدی

دکتر مریم آرایش - استادیار دانشگاه علوم پزشکی دزفول

۱۴۰۳/۶/۲۸



کلیات

- ✓ قارچ ها یکی از پنج دودمان موجودات زنده هستند
- ✓ تهاجم قارچ ها به بدن انسان از اوایل سال ۱۸۰۰ میلادی شناخته شده است
- ✓ از سال ۱۹۰۰ به بعد گزارشات فراوان از بیماری های قارچی، عوامل بیماریزا، انتشار جغرافیایی و شیوع بیماری گزارش شده است.
- ✓ تاکنون تقریبا ۱۴۸ هزار گونه مختلف قارچی کشف شده که تقریبا ۳۰۰ گونه قادر به بیماری در انسان هستند



تقسیم بندی بیماری های قارچی بر حسب جایگاه بیماری در بدن

۱. بیماری های قارچی سطحی (Superficial mycosis)
۲. بیماری های قارچی جلدی (Cutaneous mycosis)
۳. بیماری های قارچی زیر جلدی (Subcutaneous mycosis)
۴. بیماری های قارچی احشائی (Systemic mycosis)

- **قارچ های بیماریزا:** هم درافراد سالم و هم درافراد با ضعف سیستم ایمنی بیماریزا هستند
- **قارچ های فرصت طلب:** درافراد با ضعف سیستم ایمنی بیماریزا هستند
- **هدف:** آشنایی با روش های آزمایشگاهی تشخیص عفونت های قارچی سطحی و جلدی

انواع نمونه ها

عفونت های قارچی احشایی:

- ☐ آبسه و زخم
- ☐ خون
- ☐ مایع مغزی نخاعی
- ☐ مایعات بدن
- ☐ ادرار
- ☐ خلط و ترشحات برونشial
- ☐ بیوپسی
- ☐ ...

عفونت های قارچی سطح / جلدی:

- ☐ پوست
- ☐ مو
- ☐ ناخن
- ☐ غشاهای مخاطی (چشم، واژن)

عفونت های قارچی زیر جلدی:

- ☐ چرک و ترشحات
- ☐ بیوپسی



جمع آوری و انتقال نمونه

- جمع آوری و انتقال مناسب نمونه به تشخیص مطلوب عفونت های قارچی به پزشک کمک می کند
- روش های انتقال و نگهداری نمونه های قارچ شناسی به همان اندازه ی روش جمع آوری نمونه اهمیت دارد
- نمونه هائی که بصورت نامناسب جمع آوری شده یا انتقال آنها بطور صحیح صورت نگرفته باشند ممکن است موجب یک تفسیر اشتباه در نتایج کشت گردد و در نتیجه به یک تصویر ناقص توام با خطا در فرآیند تشخیص بیماری منجر شوند
- جمع آوری نمونه برای کشت قارچ شبیه به کشت های باکتریال است بجز اینکه معمولا حجم بیشتری از نمونه لازم است



✓ جمع آوری نمونه با استفاده از سواب باید به مواردی از غشاء های مخاطی محدود شود که امکان وجود ارگانیزم مخمری مطرح باشد (دهان یا واژن) و یا نمونه هائی که از سر (scalp) و یا گوش جمع آوری می شود در کنار اسکراب کردن

✓ هنگامیکه از سواب استفاده می شود انتخاب **سواب های پرزدار** توصیه می شود چون مواد موجود در نمونه از سواب های پرزدار آسانتر رها می شوند و بجز برای نمونه برداری از ضایعات سر در سایر موارد بهتر است سواب ها مرطوب نگاهداشته شوند

✓ زمانیکه عفونت های قارچی در نواحی سطحی مطرح می شود تهیه ی بیوپسی بعد از دبریدمان مناسب ترجیح داده می شود ولی درمورد کچلی ها تراشه های پوست و مو و ناخن هائی که تحت تاثیر عفونت قرار گرفته اند برای آزمایش درماتوفیت ها مناسب می باشند

- مو، پوست و ناخن باید بدون اضافه کردن مواد مرطوب کننده بدلیل جلوگیری از تکثیر احتمالی میکروب های آلوده کننده به واحد قارچ شناسی تحویل داده شون
- انتقال نمونه باید در شرایط دمای اتاق انجام شود. توصیه می شود که به هر حال انتقال در کمتر از ۲۴ ساعت انجام گیرد
- هرگاه امکان آماده سازی فوری جهت اجرای آزمایشات وجود نداشته باشد نمونه باید در دمای معمولی آزمایشگاه (ambient) قرار داده شود
- نمونه هائی که بطور مناسب جمع آوری شده اند و برچسب خورده و انتقال داده شده اند به مجرد رسیدن به آزمایشگاه باید مورد بررسی قرار گیرند



معیارهای رد نمونه

- صحت نتایج کشت مستقیماً به وضعیت و شرایط نمونه ها بستگی دارد. نمونه های غیرقابل پذیرش نباید مورد بررسی قرار گیرند و در عوض، بلافاصله باید پزشک را مطلع ساخت و نمونه را باید در شرایط مطلوب نگاهداشت تا شرایط و موقعیت نامناسب برطرف شوند. امکان نتایج اشتباه (misleading) از کشت یک نمونه ی نامناسب باید به پزشک انتقال داده شود. نگهداری مدارک و سوابق رد نمونه (مستند کردن آن) مورد نیاز است.
- در صورت وجود هریک از معیارهای زیر نمونه ها باید مورد پذیرش قرار نگرفته و رد شوند:
 ۱. اگر نمونه برچسب (label) نداشته باشد.
 ۲. اگر ظرف نامناسب استفاده شده باشد.
 ۳. اگر مغایرت اسمی یا هرگونه مغایرت دیگر بین برچسب نمونه و فرم درخواست وجود داشته باشد.
 ۴. در صورتیکه اطلاعات مندرج در فرم درخواست ناقص باشد.
 ۵. هنگامیکه مقدار یا کمیت نمونه برای تمام درخواست ها کافی نباشد آزمایشگاه با پزشک معالج تماس گرفته و اولویت بندی کردن تست ها (prioritization of testing) را درخواست کند.

فرم درخواست آزمایش

- برای فراهم کردن تمامی اطلاعات بیمار برای فرآیند بیماری و نمونه، تهیه ی یک فرم درخواست کامل شده لازم و ضروری است.
- اطلاعات مطلوبی که در این فرم باید گنجانیده شود شامل:
- نام بیمار، سن، جنس، موقعیت بستری (شماره اتاق - نام پزشک - اطلاعات تماس)، محل آناتومیک نمونه برداری شده، تاریخ و زمان (ساعت) جمع آوری نمونه می باشند.
- اگر امکان داشته باشد لازم است که اطلاعات دیگری شامل تشخیص کلینیکال، تاریخچه و سابقه ی پزشکی، موقعیت های زمینه ای و هر نوع رژیم داروئی ضد قارچی یا سایر درمان های مربوطه که بیمار طی ۲ هفته ی گذشته داشته است نیز در فرم گنجانیده شود و به هر حال دانستن نکات فوق به (آزمایشگاه میکولوژی) در فرآیند تشخیص و تفسیر یافته ها کمک قابل توجهی می نماید.
- آگاهی بر تاریخچه و سابقه ی بیمار مثل مسافرت اخیر، فعالیت های شغلی، سرگرمی ها، یا تماس با حیوانات می توانند بینهایت کمک کنند باشند. درخواست های اختصاصی توسط پزشک به آزمایشگاه قارچ شناسی انتقال داده شود.
- یک برچسب باید به نمونه الصاق شده باشد که حداقل ۲ مشخصه ی مربوط به بیمار یعنی نام و محل آناتومیک جمع آوری نمونه در آن درج شده باشد. اطلاعات دیگر مثل سن، جنس، نام پزشک، تاریخ و زمان جمع آوری نمونه مفید هستند.
- آزمایشگاه برای بدست آوردن اطلاعات ضروری بهتر است با پزشک تماس بگیرد.



انواع نمونه ها

- نمونه های تناسلی

ترشحات واژینال برای جستجوی عفونتهای سرسخت مخمری بوسیله ی سواب جمع آوری می شوند.

- نمونه های چشمی

مواد چرکی ملتحمه ای توسط سواب جمع آوری می شوند.

قرنیه (با حلقه ای از صلبیه) دهنده باید در ۱ تا ۵ میلی لیتر سالین استریل عاری از مواد محافظ قرار داده شود.

برای تراشه های قرنیه یک پلیت آگار فاقد مواد مهار کننده فراهم گردد و یک لام میکروسکپی در اختیار

افتالمولوژیست قرار گیرد.

تراشه های قرنیه بداخل محیط آگاربه شکل X و یا C دو تا سه بار در نواحی مرکزی پلیت تلقیح شود و کمی از

نمونه را نیز در مرکز لام قرار داده، پلیت های آگار را در دمای اتاق نگهداری و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل نمائید.

- نمونه های گوش خارجی

استفاده از سواب برای جمع آوری نمونه های مربوط به کانال خارجی گوش قابل قبول است.

- نمونه های جامد

نمونه های ریز ریز شده (minced) و یا هموژنیزه شده، (همانند تراشه های پوست، ناخن و قطعات مو) باید در سطح آگار کاشته شوند (با خراشیدن محیط کشت) این عمل موجب می شود که شیب ضروری فشار اکسیژن که می تواند به شروع رشد ارگانیسم قارچی موجود در نمونه کمک کند، فراهم شود.



عفونت های قارچی سطحی:

(Pityriasis versicolor) ۱) پیتریازیس ورسی کالر

(Otomycosis) ۲) عفونت های قارچی گوش

(Fungal keratitis) ۳) کراتیت قارچی

...



بیماری پیتریازیس و رسی کالر



سپتامبر ۲۴، ۱۷



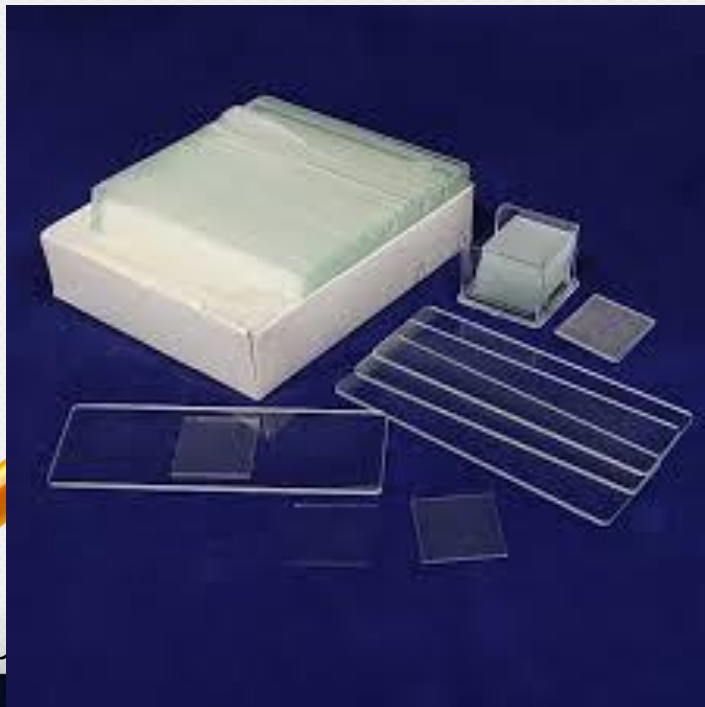
سپتامبر ۲۴، ۱۷



سپتامبر ۲۴، ۱۷

تشخیص آزمایشگاهی پتريازيس ورسى كالر

نمونه گیری:



۲۴۶۱۷

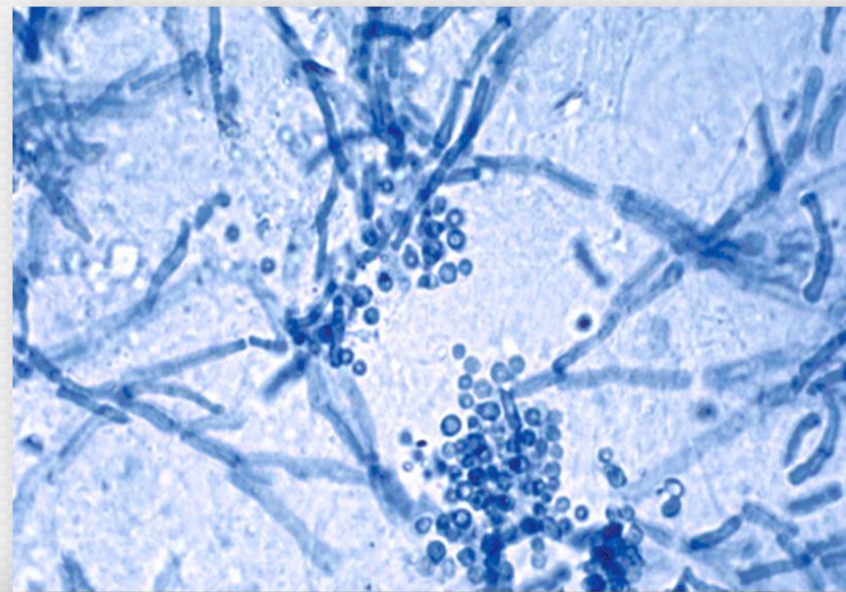
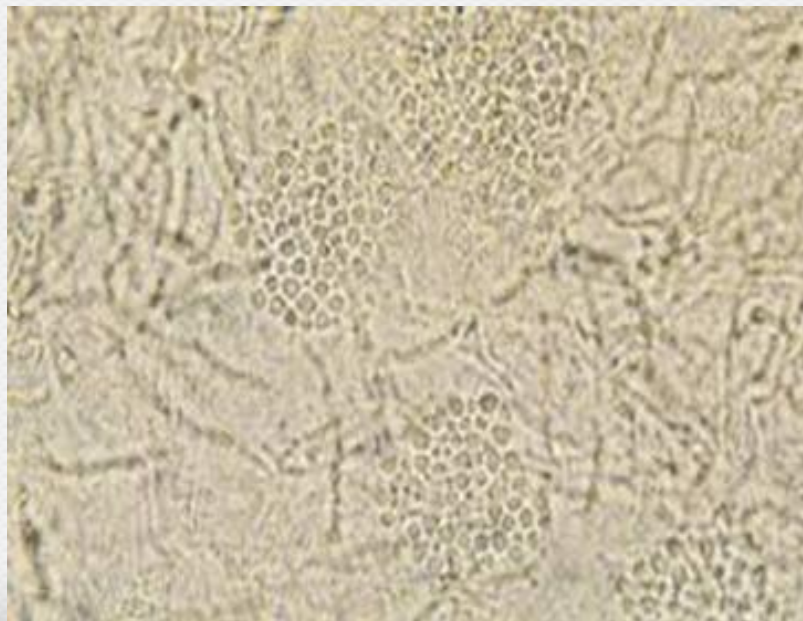
تشخیص آزمایشگاهی پتريازيس ورسى كالر

۱- تهیه لام مستقیم با 10% KOH از پوسته های اسکراب شده

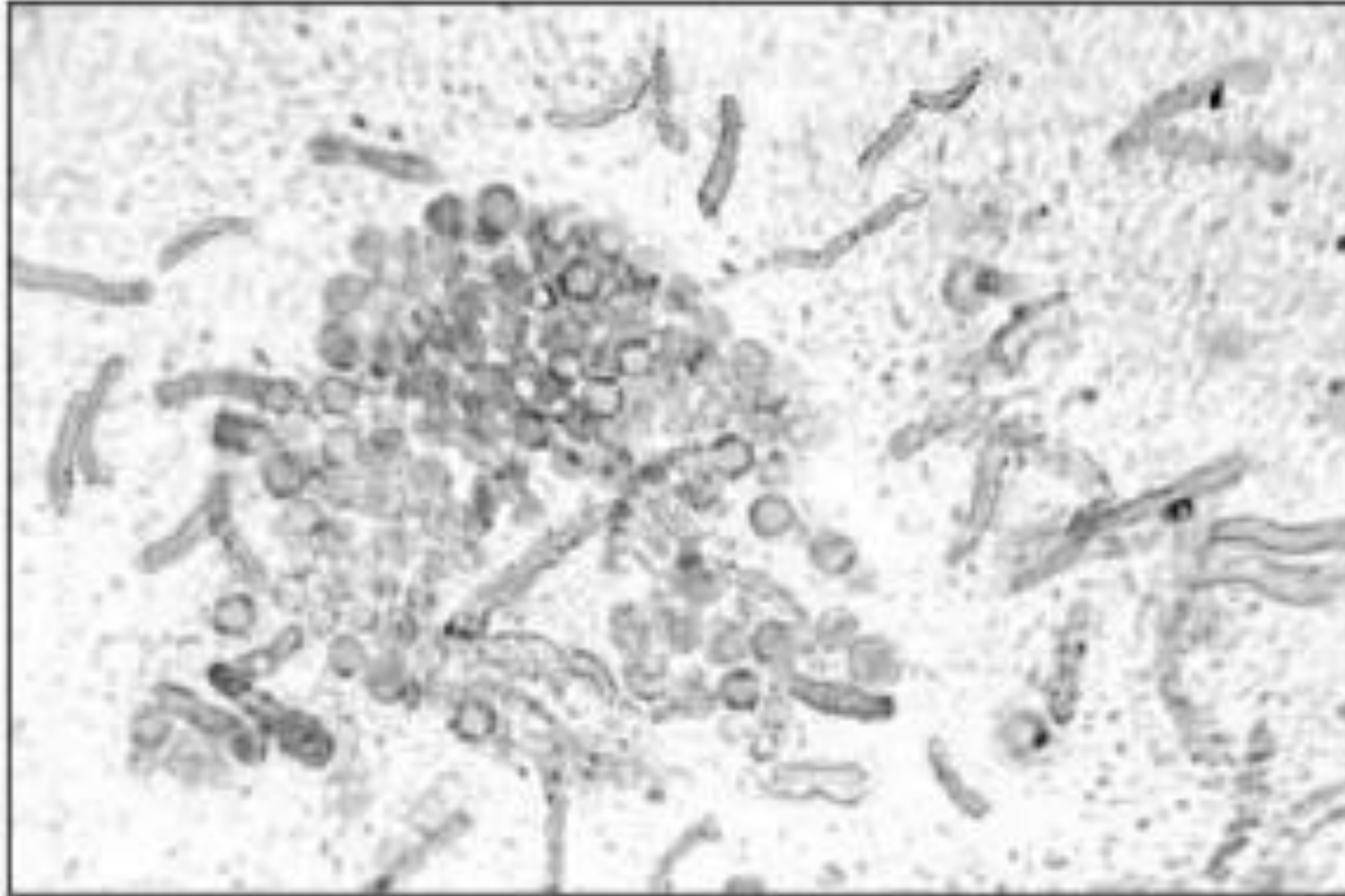
۲- کشت روی محیط سابورو دکستروز آگار



spaghetti & meatball

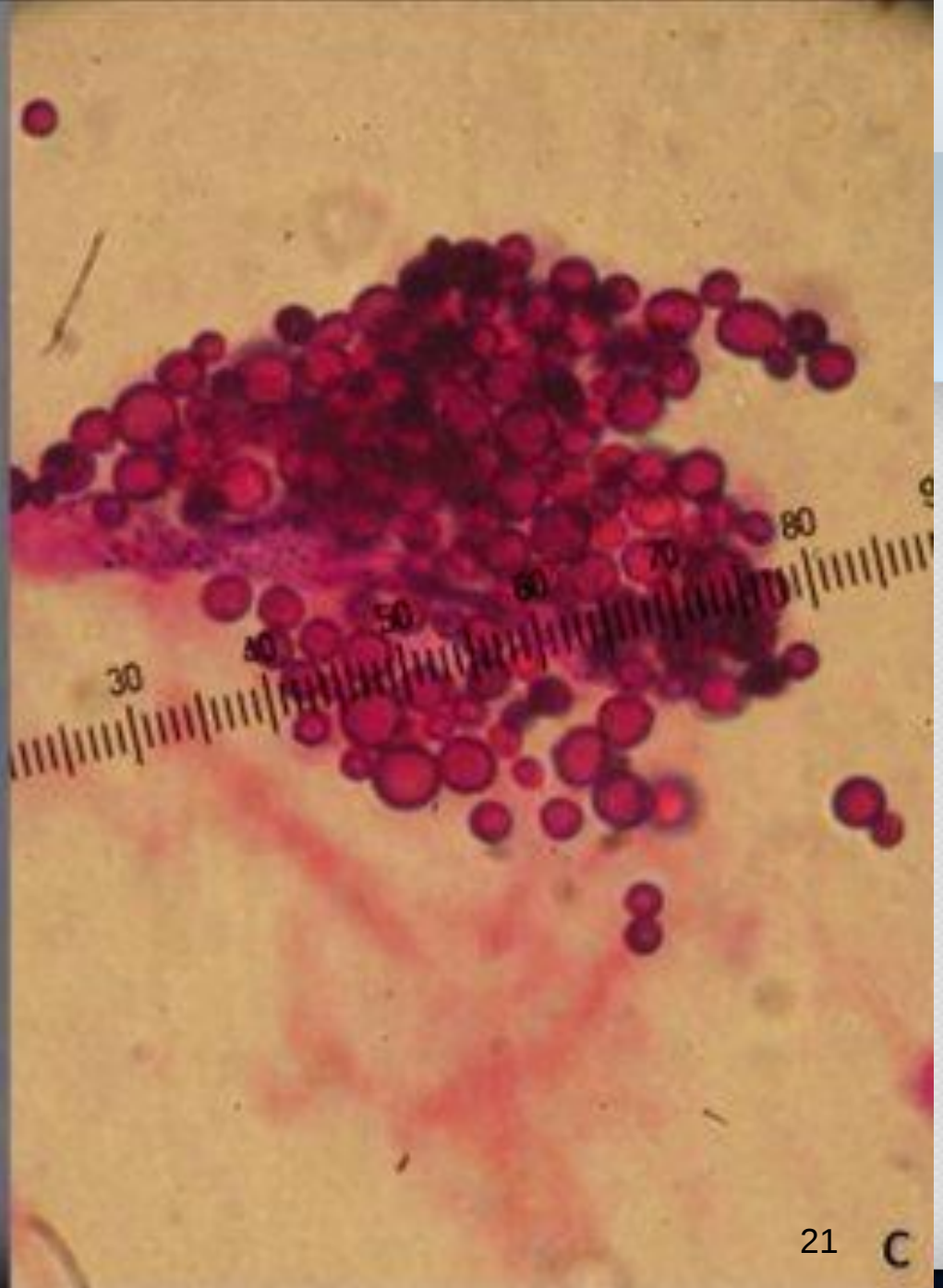


spaghetti & meatball



سپتامبر ۲۴، ۱۷

spaghetti & meatball



spaghetti & meatball

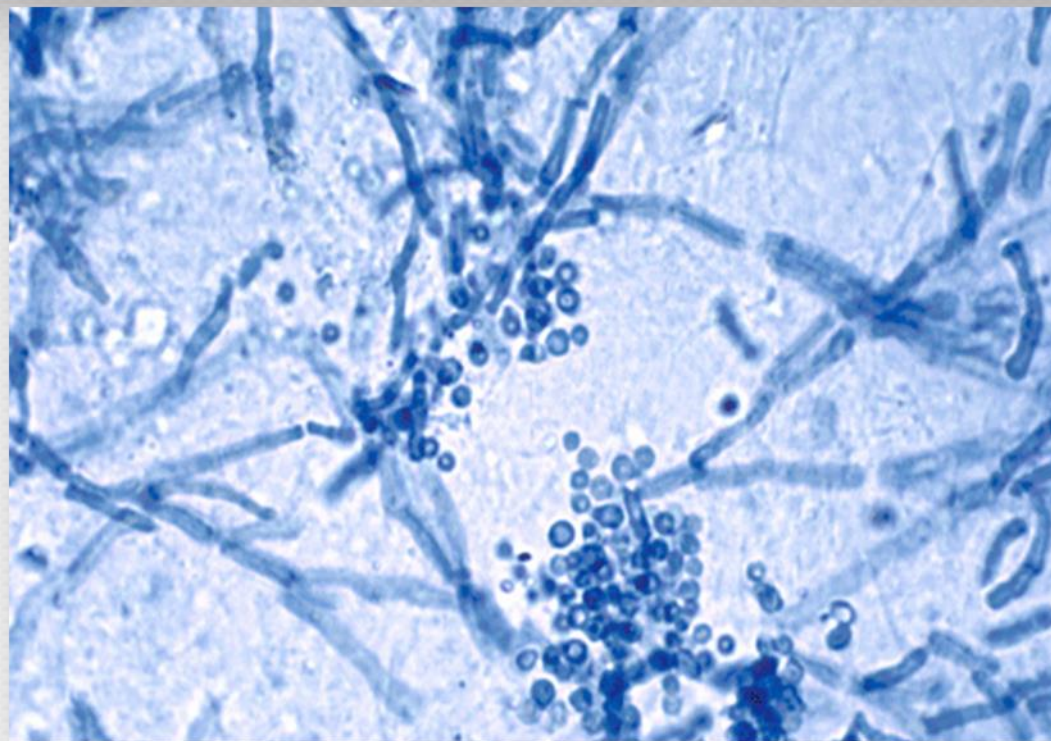
لام مستقیم با رنگ متیلن بلو



لام مستقیم با KOH



لام مستقیم با رنگ متیلن بلو **spaghetti & meatball**



اتومايكوزيس



سپتامبر ۲۴، ۱۷

اتومايكوزيس



سپتامبر ۲۴، ۱۷

تشخیص آزمایشگاهی اتومایکوزیس

نمونه گیری: توسط پزشک متخصص گوش حلق بینی انجام می شود

نمونه ها: توده موجود در گوش، ترشح و چرک، پوسته های قسمت خارجی گوش

➤ تهیه اسمیر مستقیم با KOH، رنگ آمیزی گرم، گیمسا، بلودومتیلن

آسپرژیلوس: میسلیم های منشعب با تیغه میانی، کونیدیدفور، وزیکول، استریگما، زنجیره کنیدی

دیگر قارچ های رشته ای: میسلیم های منشعب با / بدون تیغه میانی

➤ کشت نمونه ها در محیط SC

نکته: در اتومایکوزیس ارزش اسمیر مستقیم بیشتر از کشت است

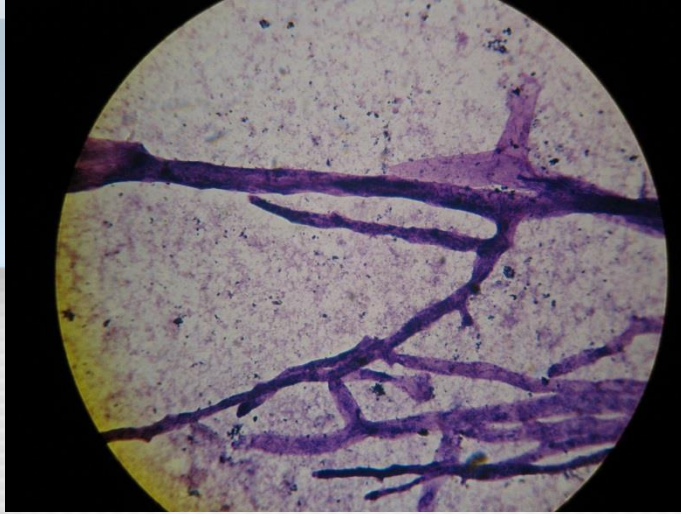


نتایج میکروسکوپی و ماکروسکوپی

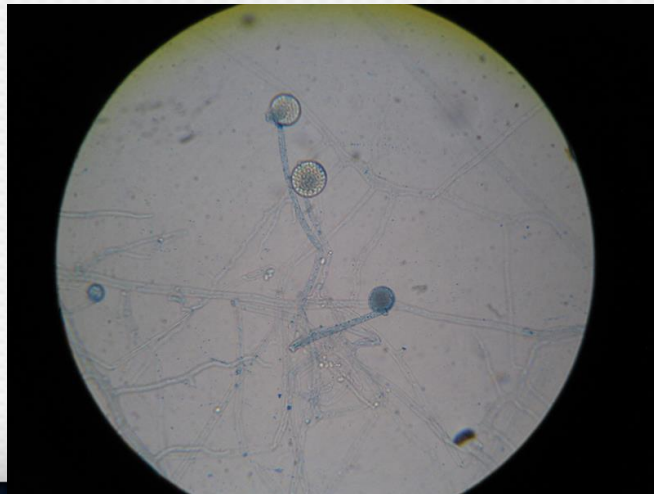


سپتامبر ۱۷، ۲۰۲۴

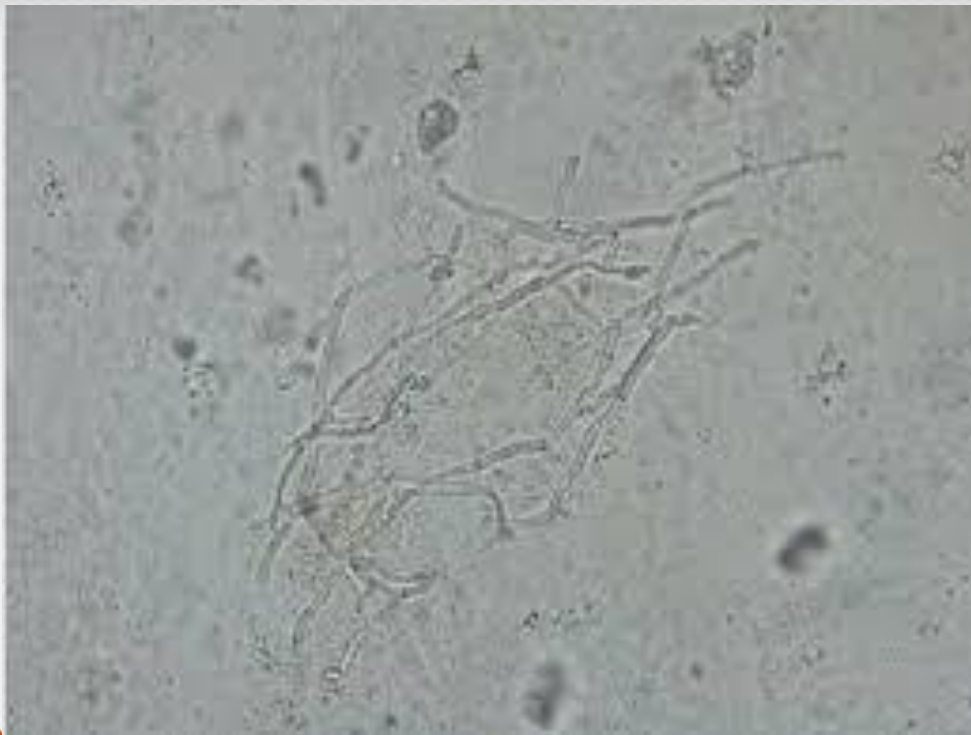
اسمیر مستقیم: میسلیم بدون تیغه میانی (رایزوپوس، موکور ...)



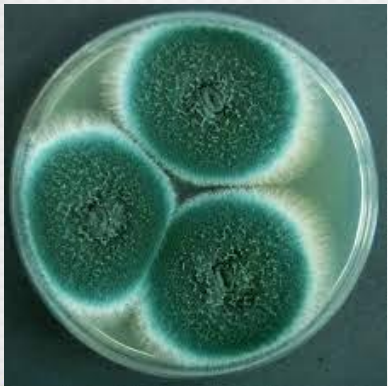
کشت: ظاهر ماکروسکوپی و میکروسکوپی رایزوپوس و موکور



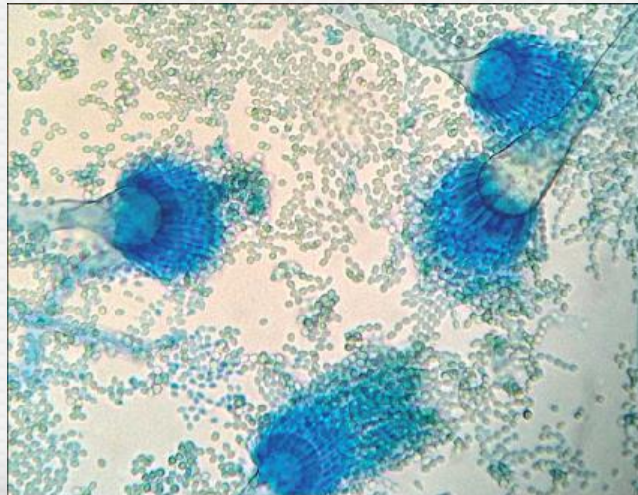
اسمیر مستقیم: میسلیم با تیغه میانی (آسپرژیلوس)



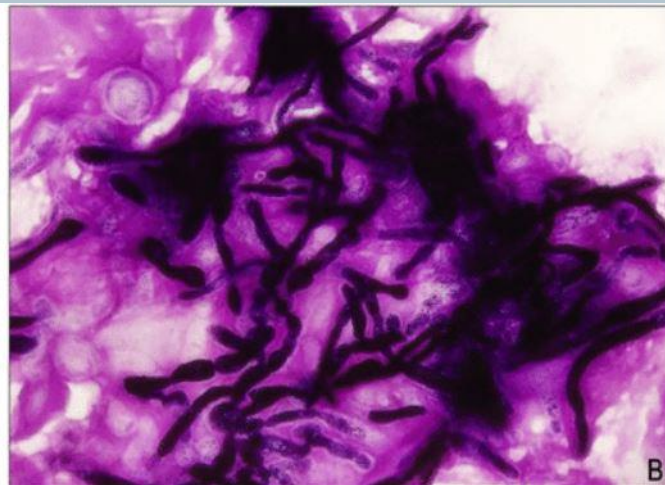
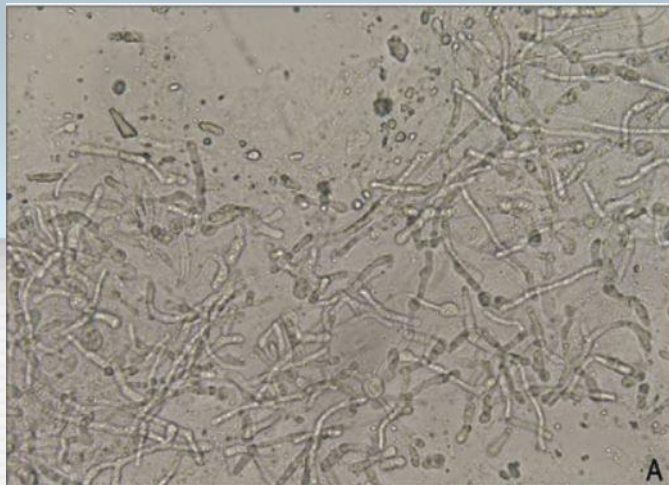
کشت: ظاهر ماکروسکوپی و میکروسکوپی آسپرژیلوس



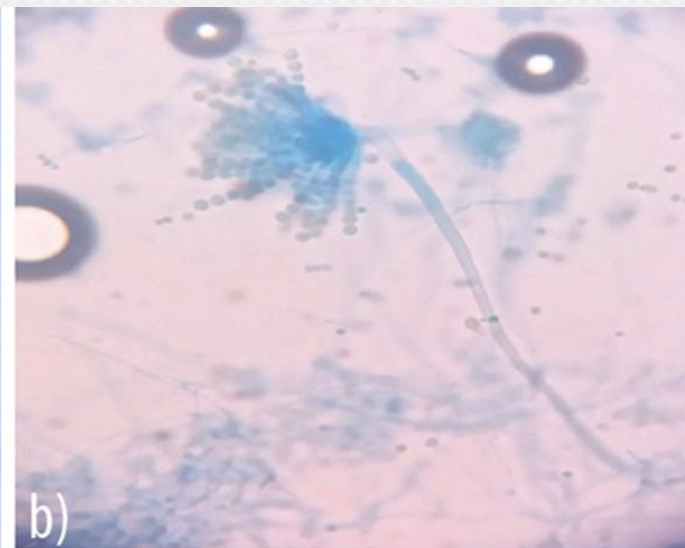
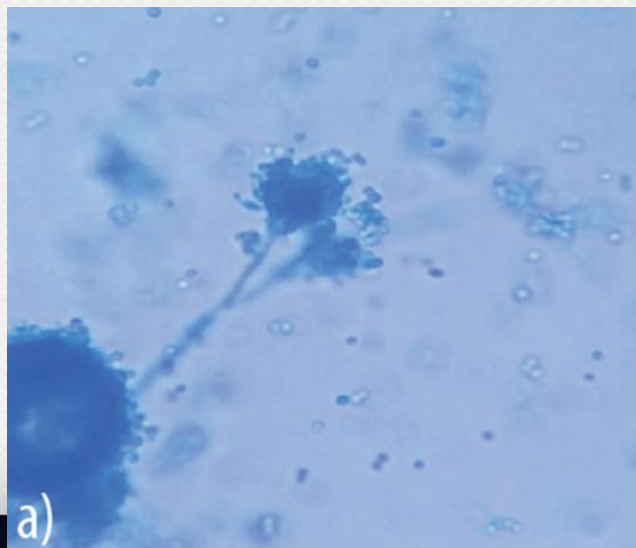
سپتامبر ۲۴، ۱۷



اسمیر مستقیم: میسلوم با تیغه میانی پنی سیلیوم)

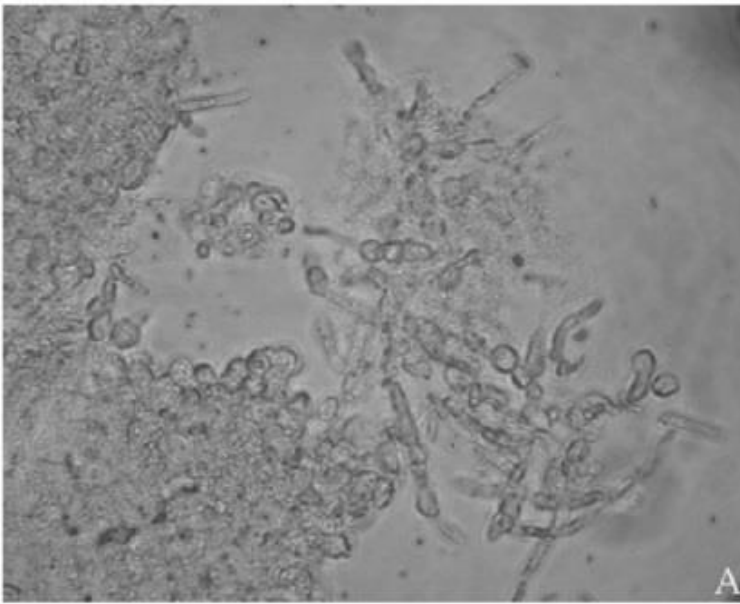


کشت: ظاهر ماکروسکوپی و میکروسکوپی پنی سیلیوم

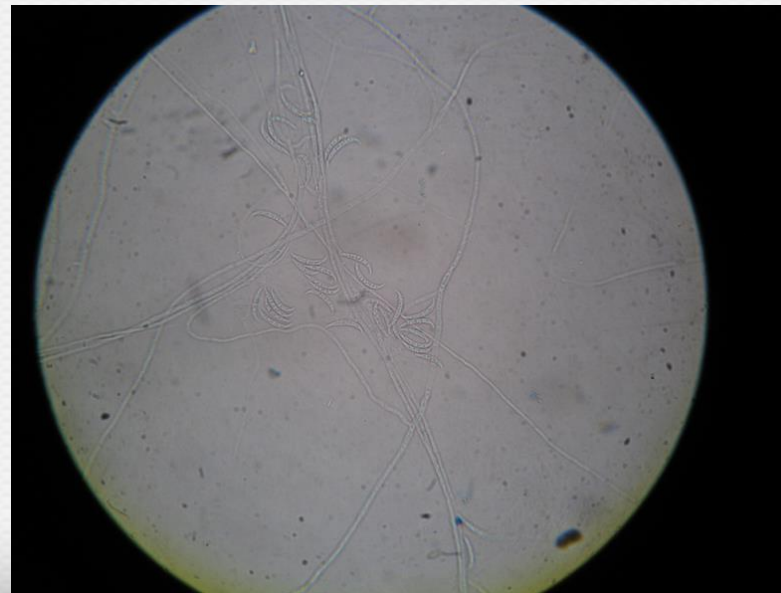
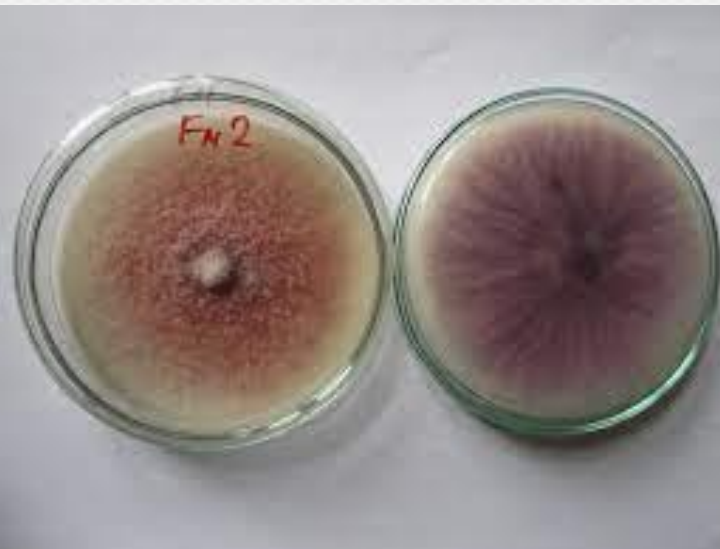


سپتامبر ۱۷، ۲۴

اسمیر مستقیم: میسلیم با تیغه میانی (فوزاریوم)



کشت: ظاهر ماکروسکوپی و میکروسکوپی فوزاریوم



اسمیر مستقیم: میسلیم با تیغه میانی (درماتوفیت)

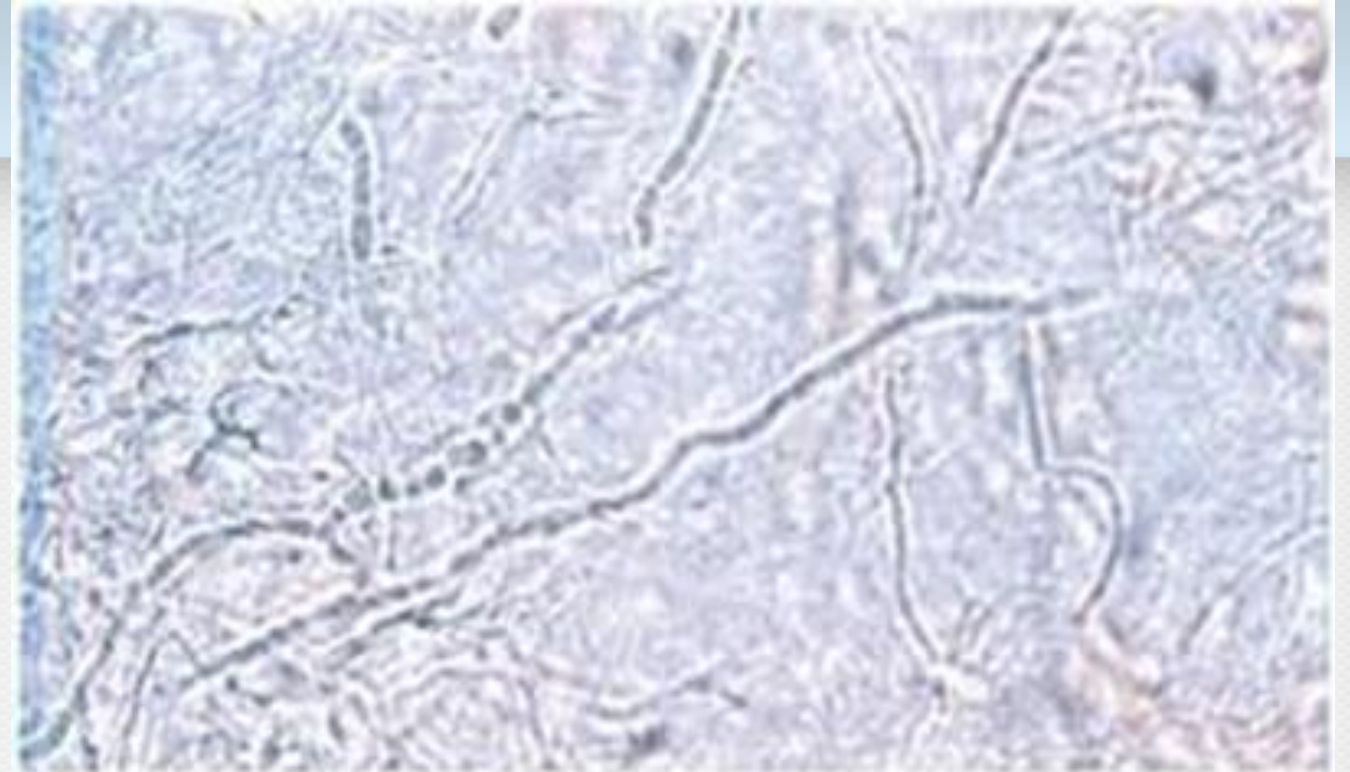
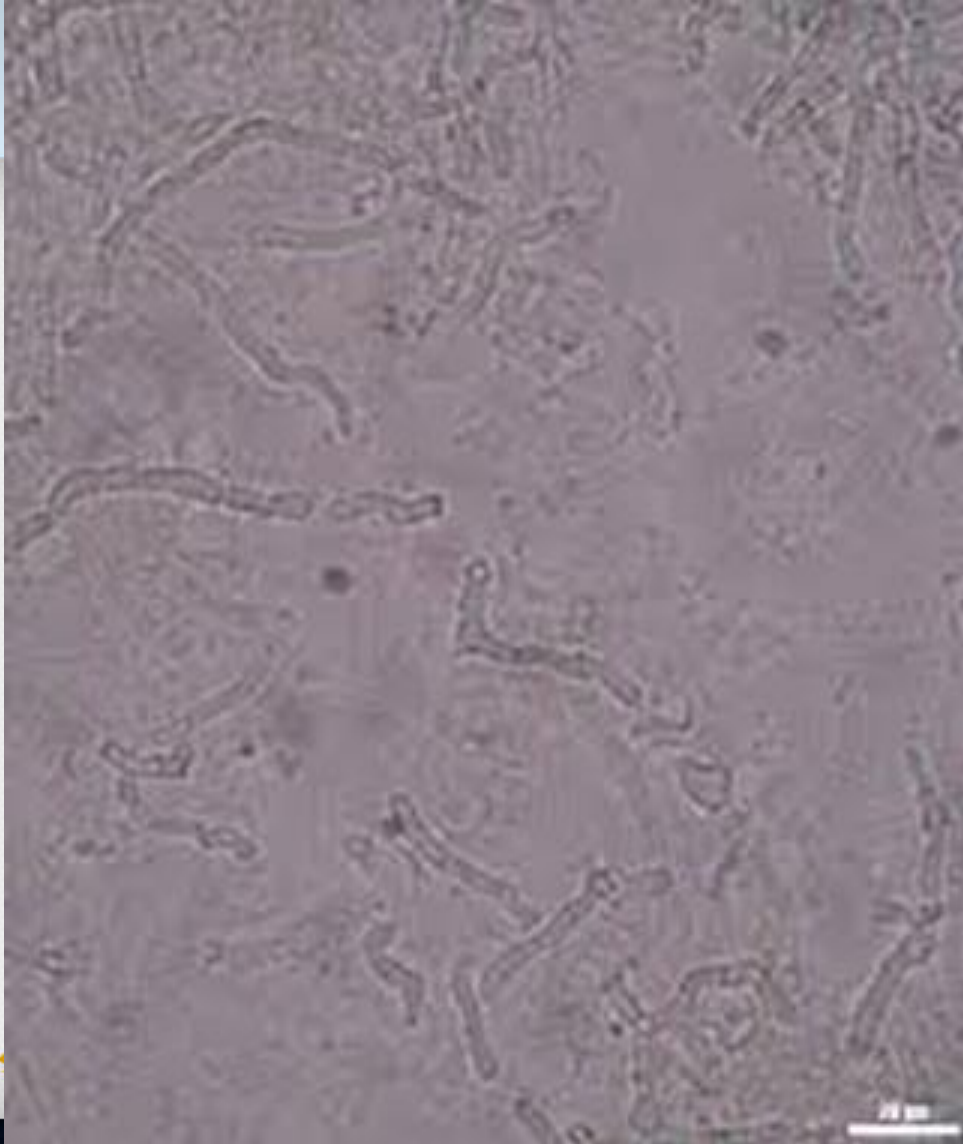
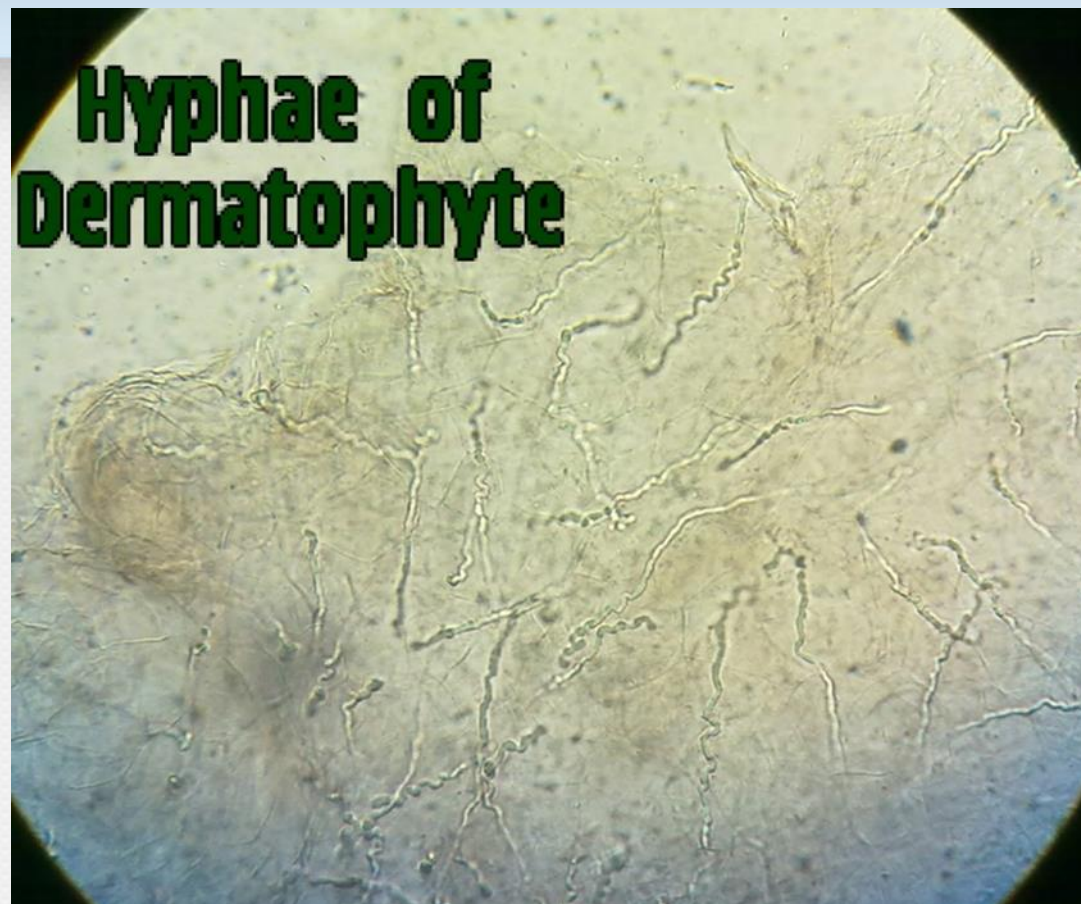
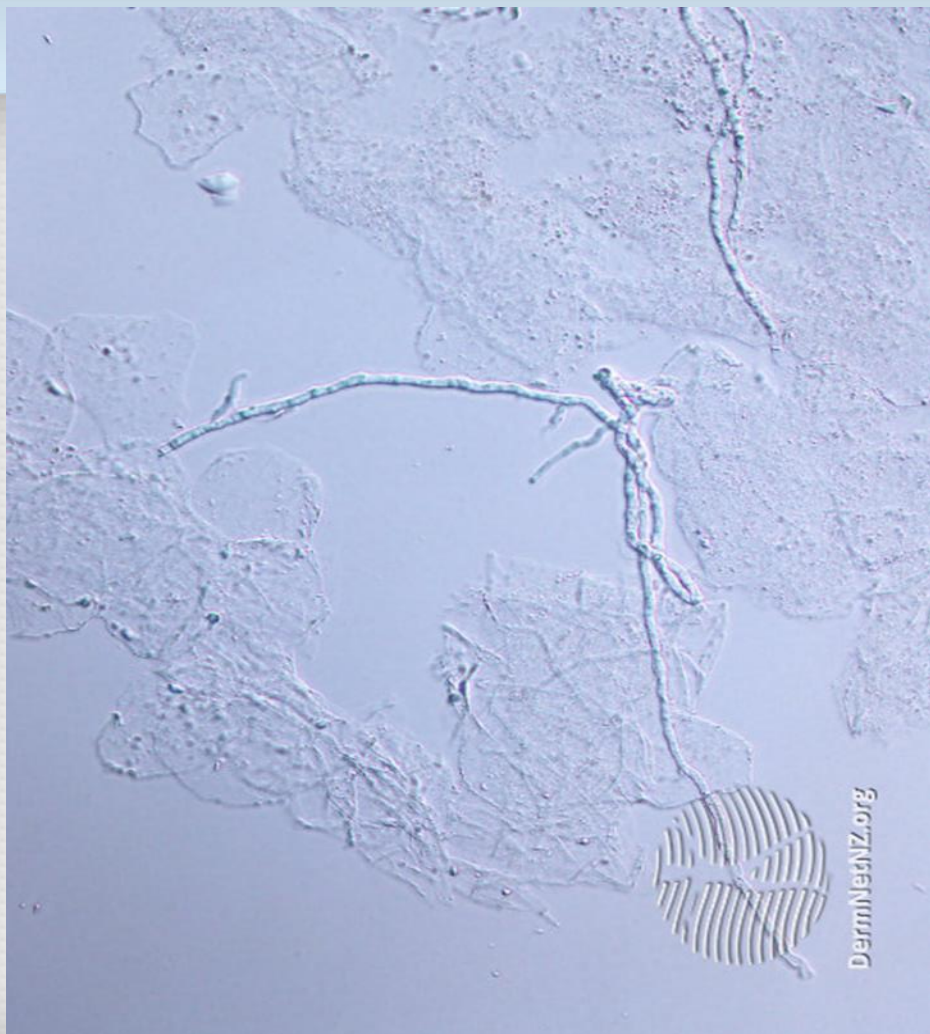
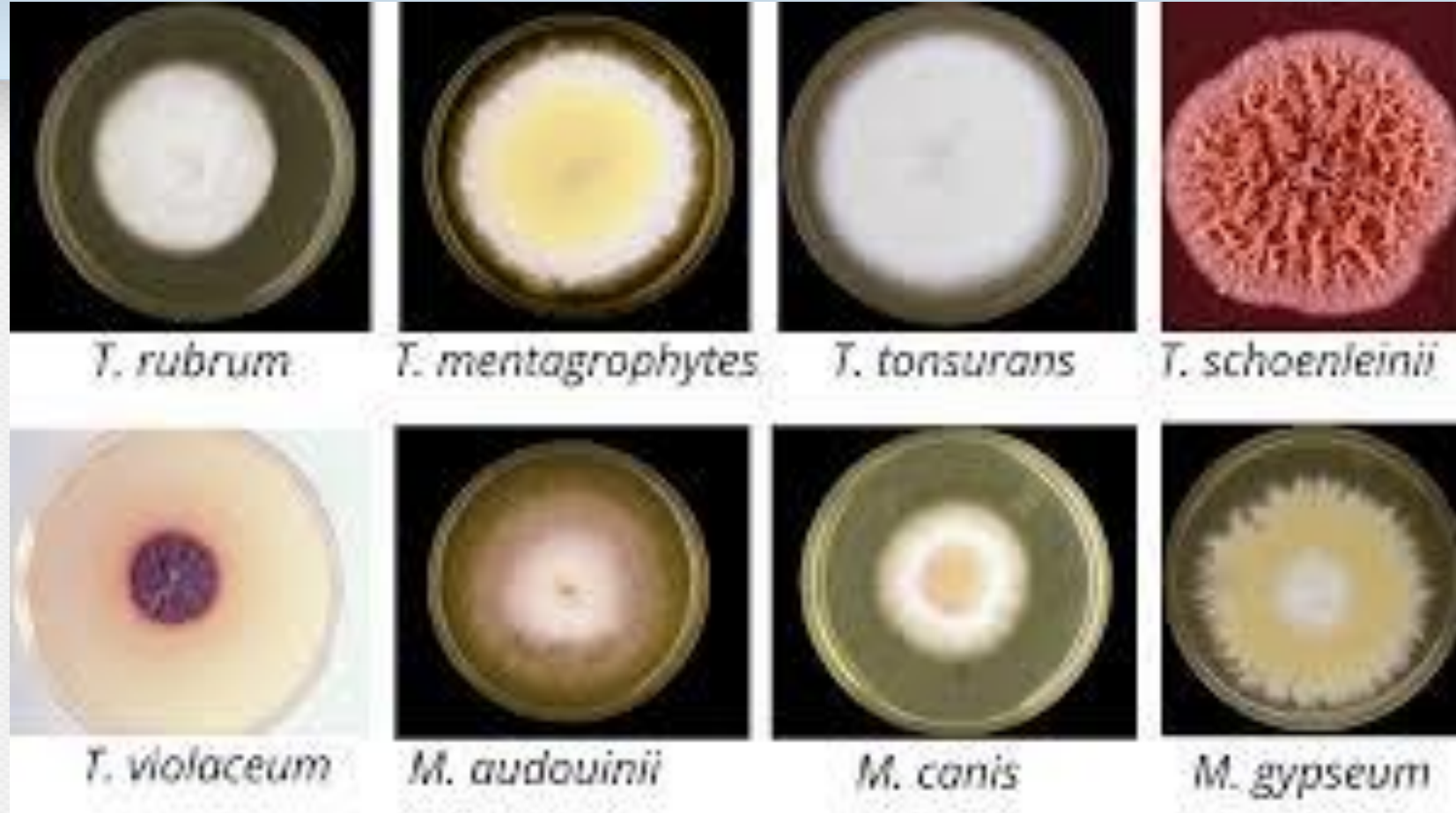


Figure 25-2 Potassium hydroxide (KOH) preparation Multiple, septated, tubelike structures (hyphae or mycelia) and spore formation in scales obtained from an individual with epidermal dermatophytosis. In contrast, KOH preparation in candidiasis shows elongated yeast forms (pseudohyphae) without true septations.

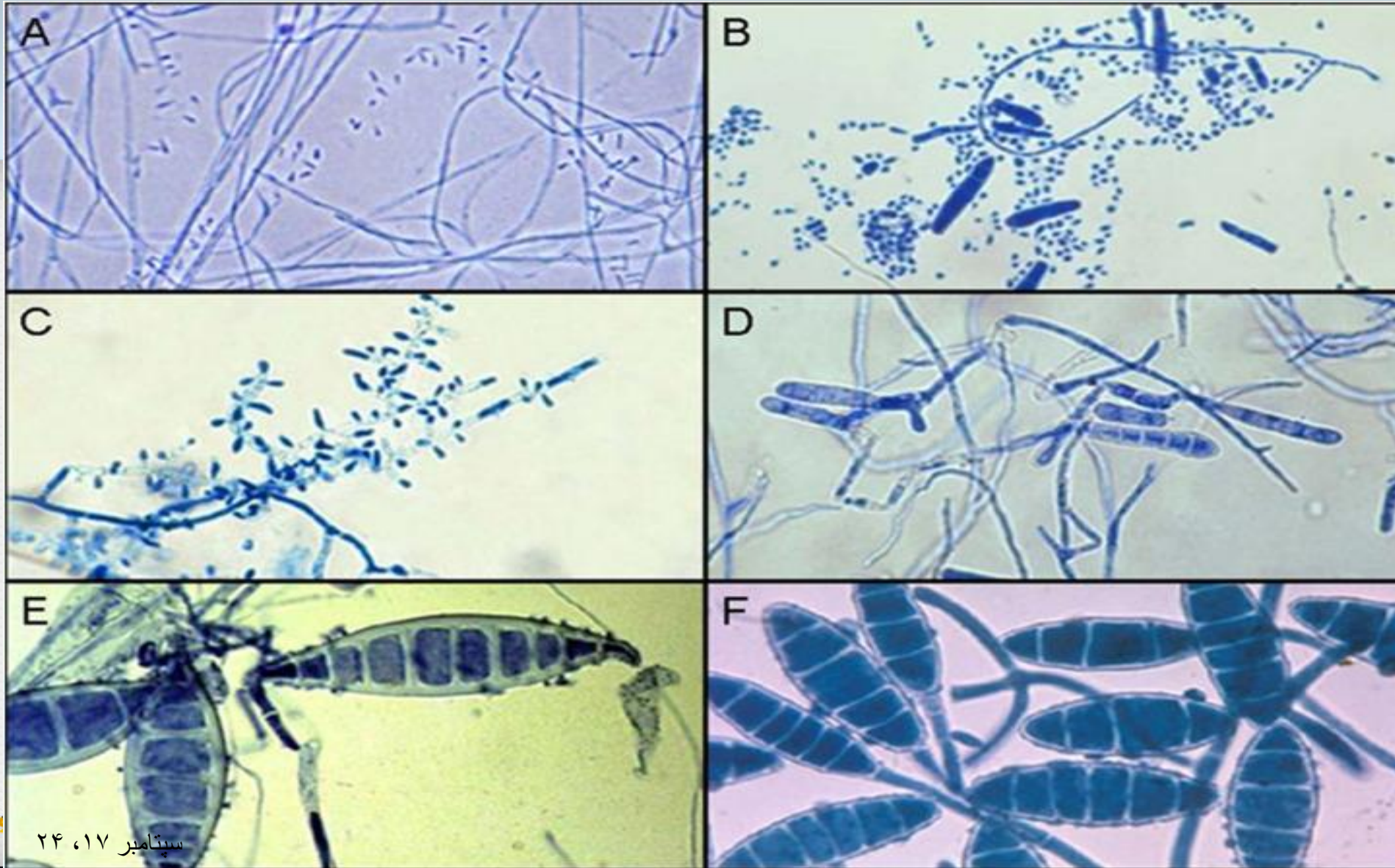
اسمیر مستقیم: میسلیم با تیغه میانی (درماتوفیت)



کشت (محیط SCC): ظاهر ماکروسکوپی درماتوفیت ها



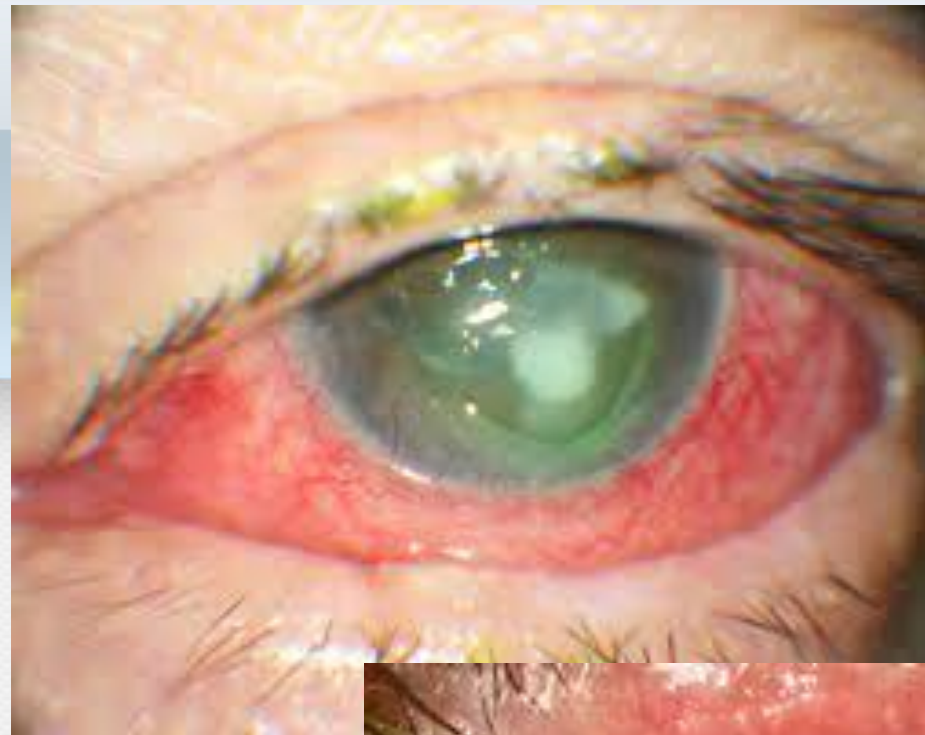
کشت: ظاهر میکروسکوپی درماتوفیت ها



کراتیت قارچی



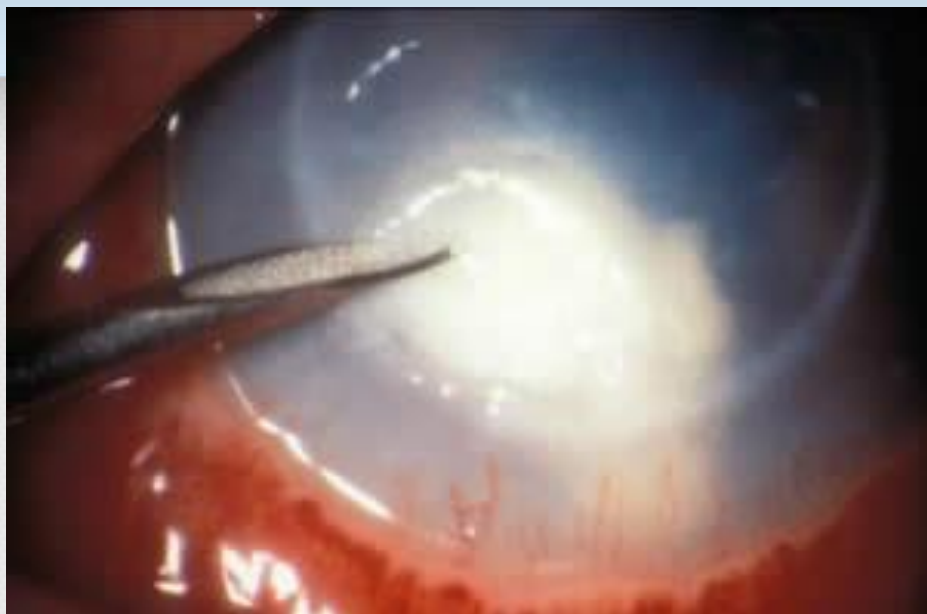
سپتامبر ۲۴، ۱۷



تشخیص آزمایشگاهی کراتیت قارچی

• توجه:

• نمونه گیری توسط چشم پزشک بوسیله اسکالپل کند انجام می شود



• نمونه ها: ضایعات قارچی از عمق قرنیه گرفته می شود

• نمونه گرفته شده سریعاً به آزمایشگاه منتقل شود

• **اسمیر مستقیم:** رنگ آمیزی گرم، بلودومتیلن

• **کشت:** روی محیط SC

• کشت ها در صورت منفی شدن، نگهداری شوند و بعد از چند هفته اتوکلاو و دور ریخته شوند

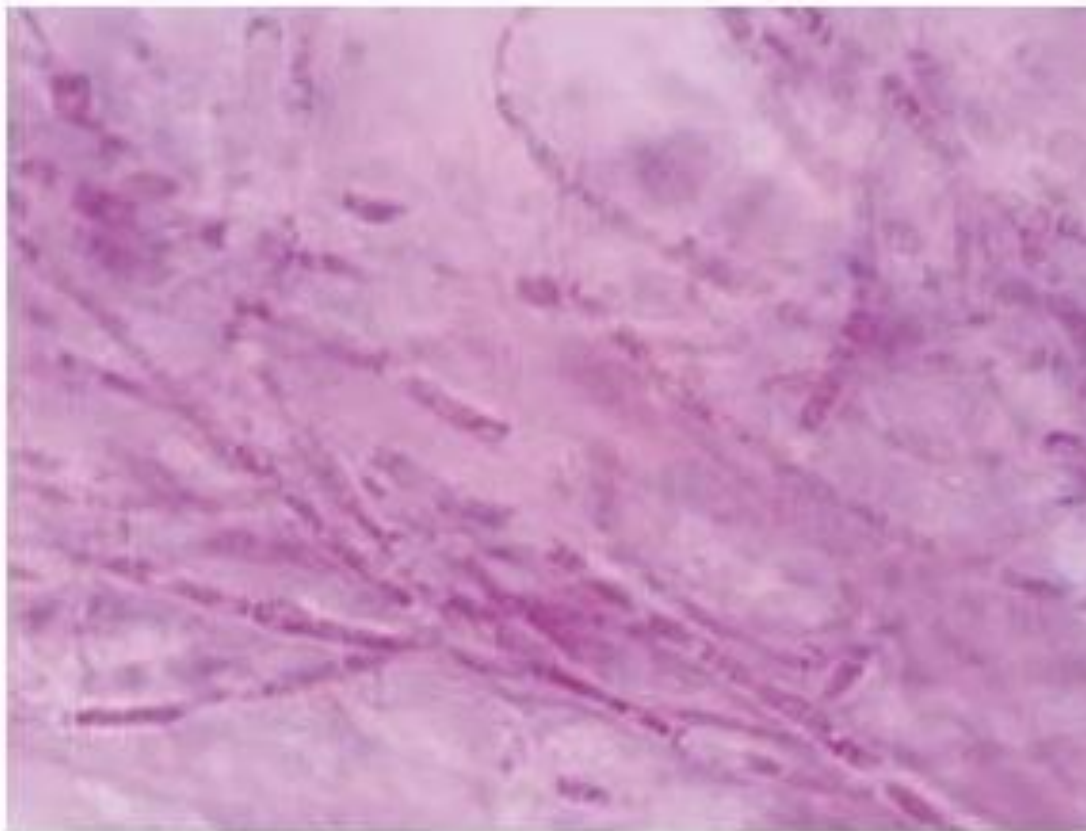


Figure 9. Fungal hyphae visible after Gram stain. Credit: Astrid Leck

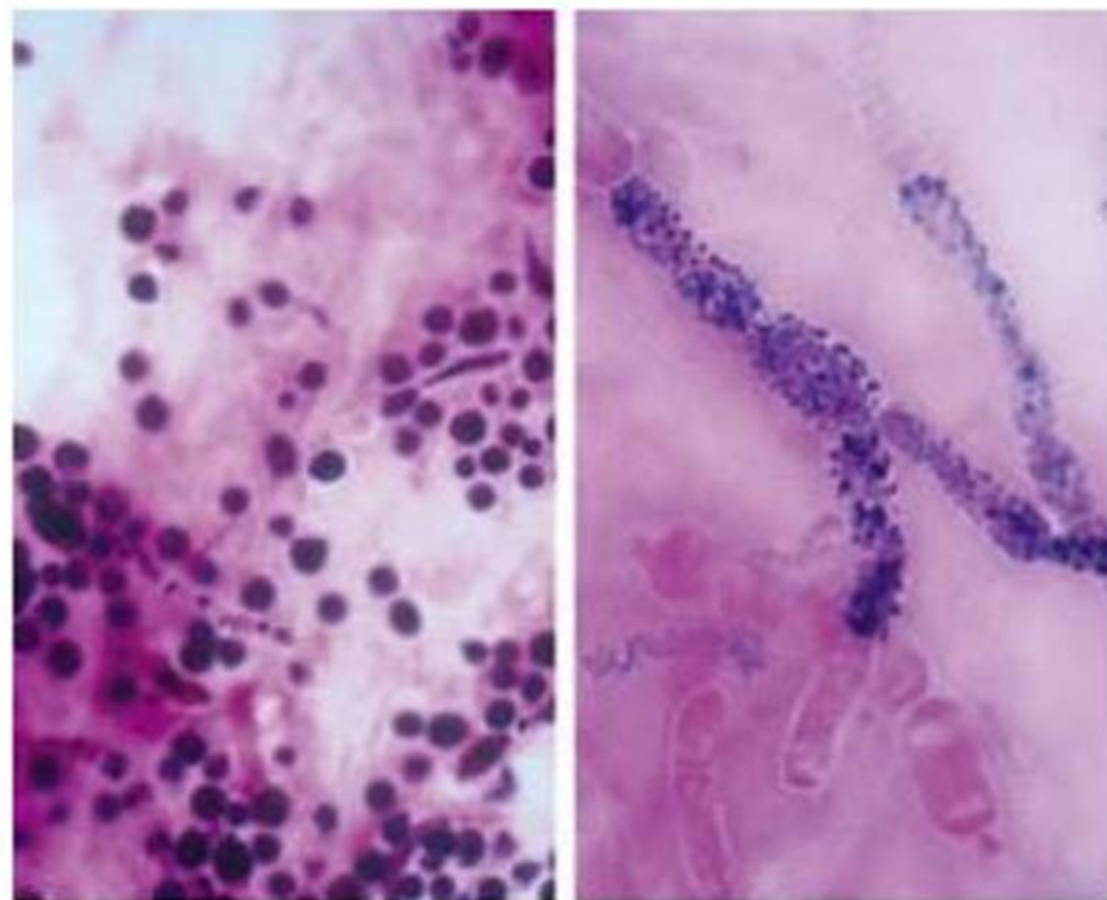


Figure 8. Gram appearance of yeast cells (left) and pseudohyphae (right). Credit: Astrid Leck

عفونت ناخن توسط عوامل ساپرووفیتی (اونیکومایکوزیس ساپرووفیتی)



اونیکومايکوزيس ساپروفیتی





سپتامبر ۲۴، ۱۷

تشخیص آزمایشگاهی اونیکومایکوزیس ساپروفیتی

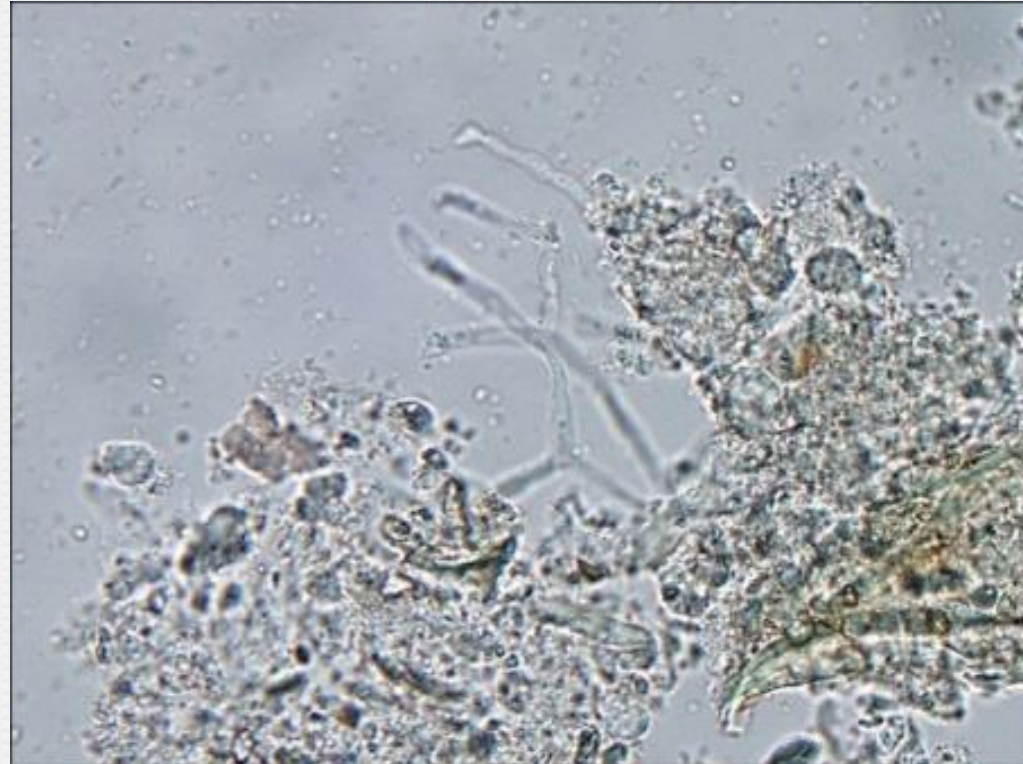
- ۱- نمونه گیری از ناخن مبتلا (تراشیدن ناخن مبتلا، تراشیدن بستر ناخن، چیدن ناخن با کمک ناخن گیر)
- ۲- تهیه اسمیر مستقیم با KOH از نمونه ها
- ۳- کشت نمونه ها روی محیط SC (محیط سابورو حاوی کلرامفنیکل)

اونیکومایکوزیس بعلت آسپرژیلوس نیجر

کشت



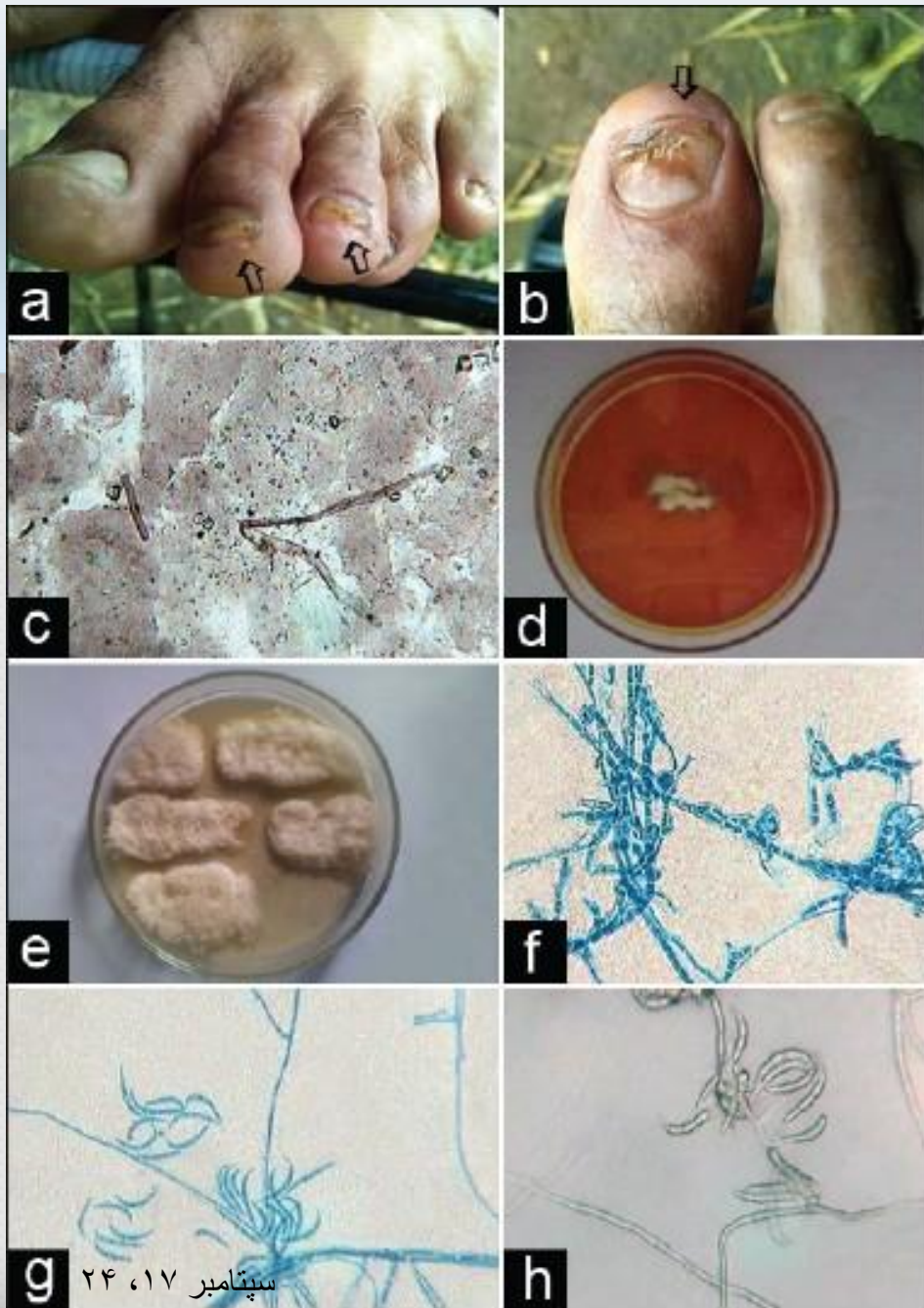
اسمیر مستقیم



اسلاید کالچر



اونیکومایکوزیس بعلت فوزاریوم



(a, b) ناخن های انگشت شست پا و انگشت کوچک پا که علائم اونیکومیکوزیس را نشان می دهد.

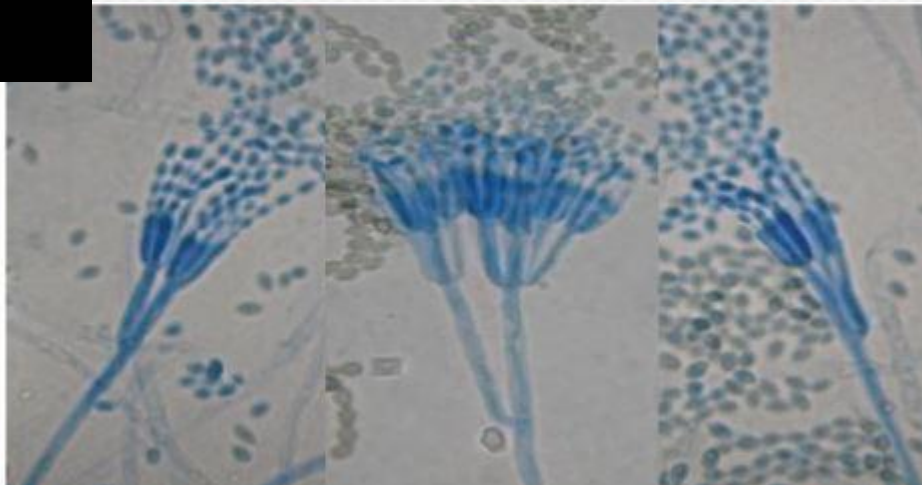
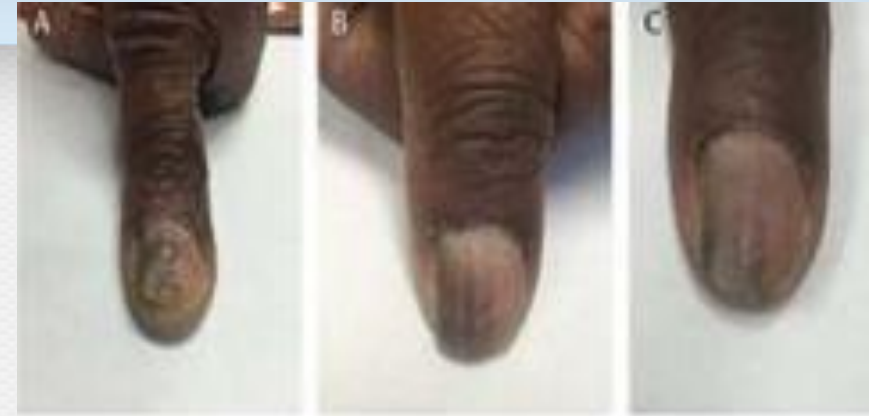
(c) هیف قارچی در اسمیر مستقیم KOH

(d) کلنی های پاتوژن قارچی ناشی از بریده ها و ضایعات ناخن آسیب دیده

(e) خصوصیات کشت *Fusarium heterosporum*

(f-h) جزئیات میکروسکوپی *Fusarium*

اونیکومایکوزیس بعلت پنی سیلیوم



سپتامبر ۲۴، ۱۷

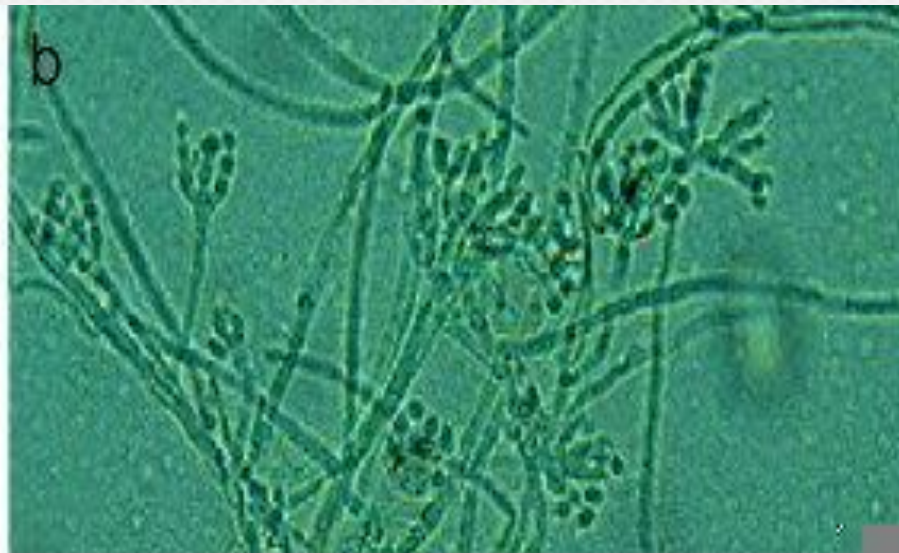
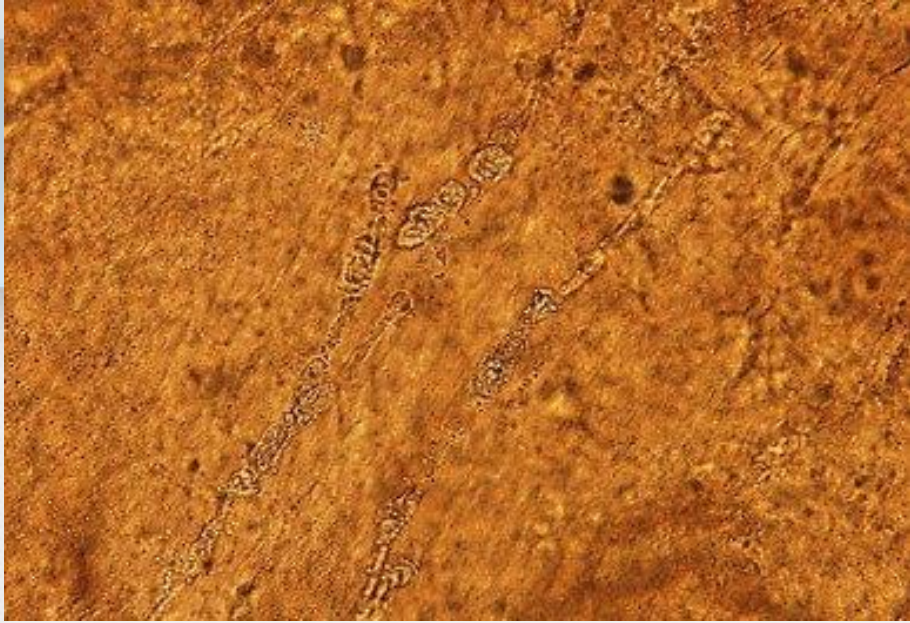
اونیکومایکوزیس بعلت اسکوپولاریوپسیس

کلنی چروکیده **Scopulariopsis** سفید، کرم و خاکستری

مورفولوژی میکروسکوپی رنگ آمیزی شده با لاکتوفنل کاتن بلو. زنجیره‌ای از کنیدی‌های تک سلولی کروی را نشان می‌دهد که از یک سلول کنیدی زا تخصصی به نام آنلید را تشکیل می‌شوند.



اونیکومایکوزیس بعلت آسپرژیلوس کاندیدوس



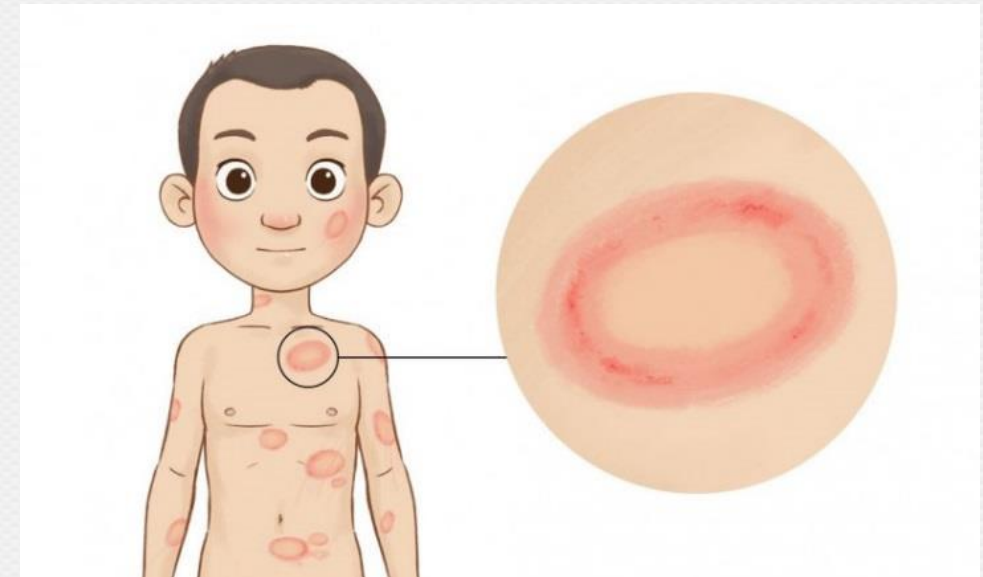
درماتوفیتوزیس، تینه آ، رینگ ورم، کچلی



سپتامبر ۱۷، ۲۴

درماتوفیتوزیس

- ✓ عفونت پوست، مو یا ناخن بعلت گروهی از قارچ‌های کراتینوفیل به نام درماتوفیت
- ✓ تظاهرات عفونت به گونه، سویه قارچ، اندازه تلقیح، محل تشریحی و وضعیت ایمنی میزبان بستگی دارد.



سه جنس مهم:

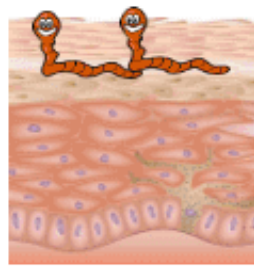
- میکروسپوروم مو، پوست (نه ناخن)
- اپیدرموفیتون پوست، ناخن (نه مو)
- تریکوفیتون مو، پوست، ناخن



عفونت با توجه به محل آناتومیک درگیر نامگذاری می شود:

- | | |
|--|----------------|
| a. <i>Tinea barbae</i> | کچلی ریش |
| b. <i>Tinea pedis (Athlete's foot)</i> | کچلی پا |
| c. <i>Tinea corporis</i> | کچلی بدن |
| d. <i>Tinea manuum</i> | کچلی دست |
| e. <i>Tinea capitis</i> | کچلی سر |
| f. <i>Tinea unguium</i> | کچلی ناخن |
| g. <i>Tinea cruris (Jock itch)</i> | کچلی کشاله ران |



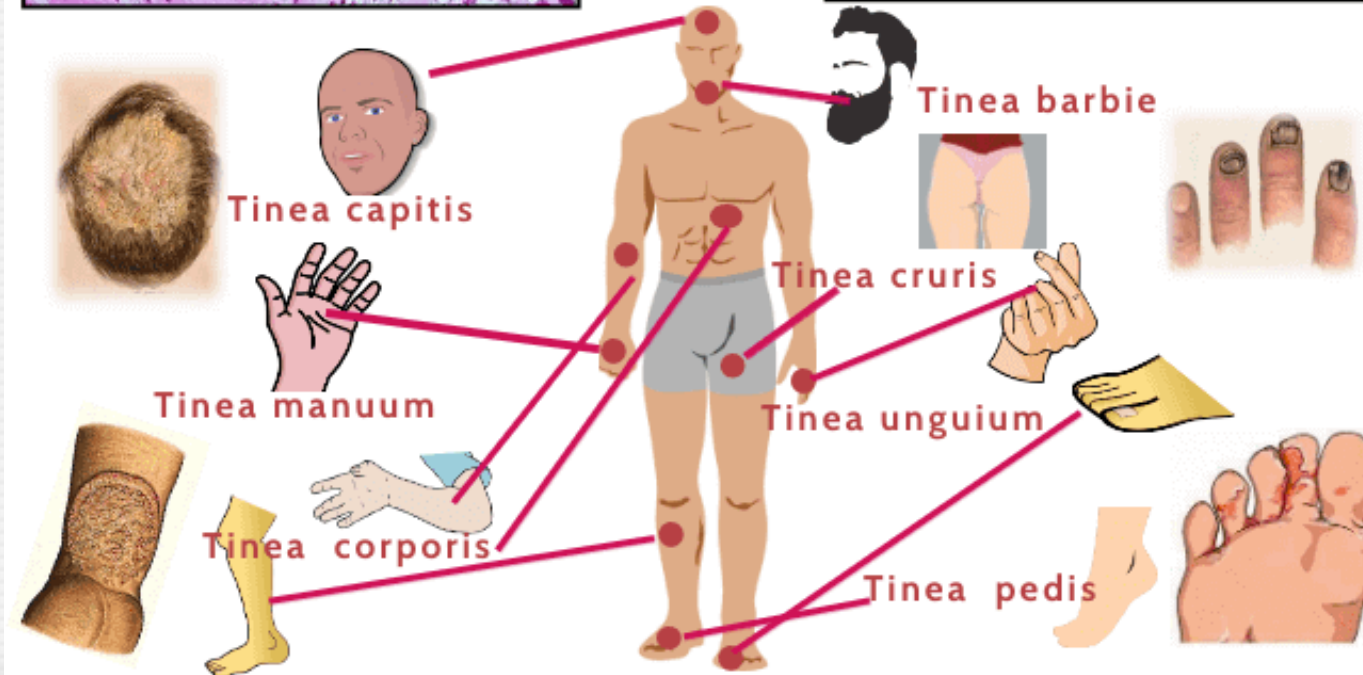
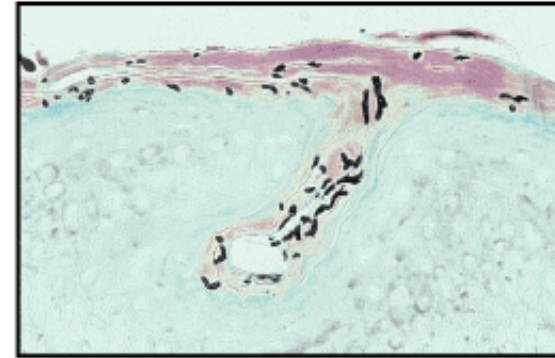
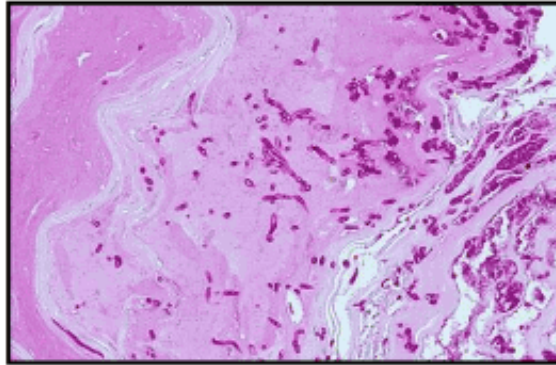


Dermatophytosis

(Ringworm, Tinea)



Fungal infection caused by dermatophytes - a group of fungi that invade and grow in dead keratin



#roypath

histopathology-india.net



سپتامبر ۲۴، ۱۷

پوست: ضایعات دایره ای، خشک، اریتماتوز، پوسته پوسته، خارش دار

مو: ضایعات معمولی، کریون، آلوپسی

ناخن: ناخن های ضخیم، تغییر شکل، شکننده، برجسته، تغییر رنگ، تجمع هایپرکراتوز زیر ناخنی

علائم رایج درماتوفیت ها عبارتند از: تحریک، اریتم (قرمزی پوست)، ادم (تورم) و وزیکولاسیون (تشکیل وزیکول یا کیست)



کچلی بدن



سپتامبر ۲۴، ۱۷

کچلی ریش



Onlymyheal



سپتامبر ۲۴، ۱۷

کچلی دست



سپتامبر ۲۴، ۱۷

کچلی پا



Dr. Dubin's collection



سپتامبر ۲۴، ۱۷

کچلی پا



سپتامبر ۲۴، ۱۷

کچلی کشالہ ران



سپتامبر ۲۴، ۱۷

کچلی سر



- ✓ روی پوست سر، از فولیکول های مو شروع می شود
- ✓ کچلی سر دو شکل بالینی دارد: التهابی و غیر التهابی
- التهابی: کریون، فاووس
- غیر التهابی: نقطه سیاه (اندوتریکس)، درماتیت سبورئیک مانند، و لکه خاکستری (اکتوتریکس)



کچلی ناخن



Figure 4. Athlete's foot (tinea pedis) with tinea unguium (onychomycosis).



© 2019 VisualDx

سپتامبر ۲۴، ۱۷

تشخیص آزمایشگاهی کچلی:

۱- نمونه گیری

پوست:

پوست محل ضایعه توسط اسکالپل تراشیده شود

مو:

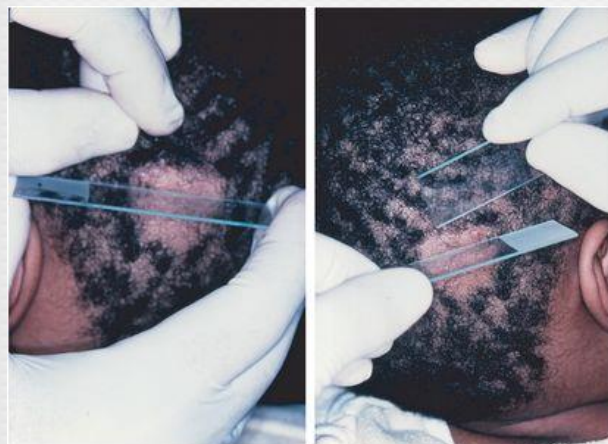
۱- موهای آلوده توسط موچین از پوست سر برداشته شود

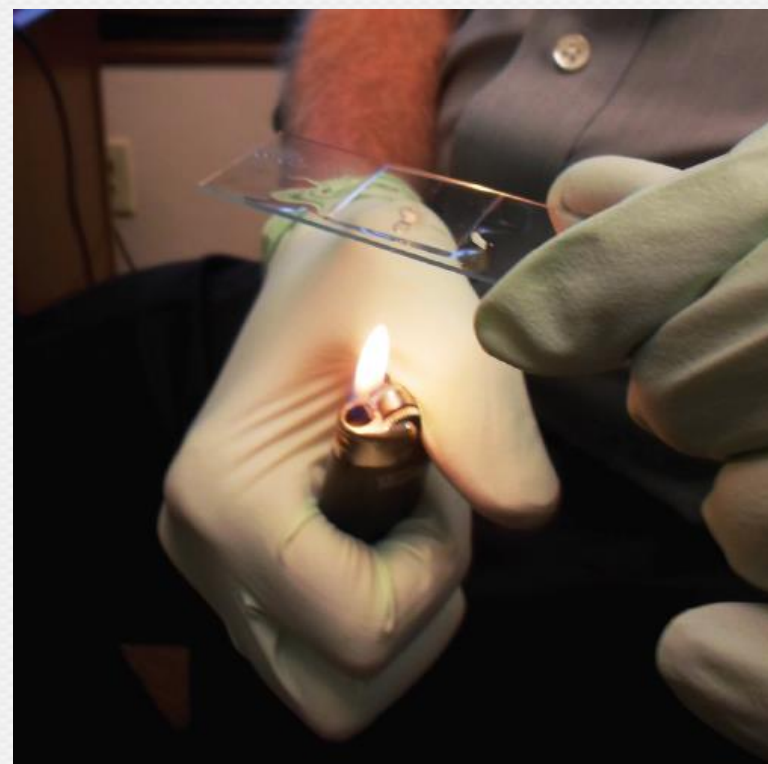
۲- پوست محل ضایعه توسط اسکالپل تراشیده شود

ناخن:

۱- ناخن آلوده توسط ناخن گیر چیده شود

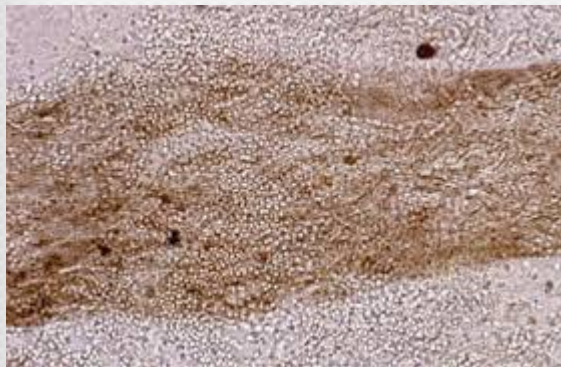
۲- هیپرکراتوز زیر ناخنی برداشته شود



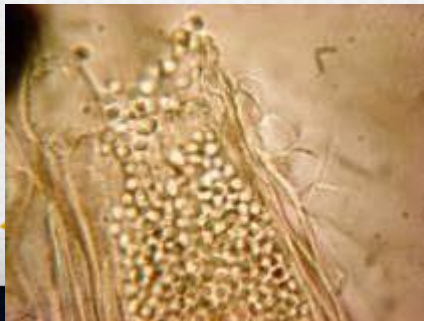
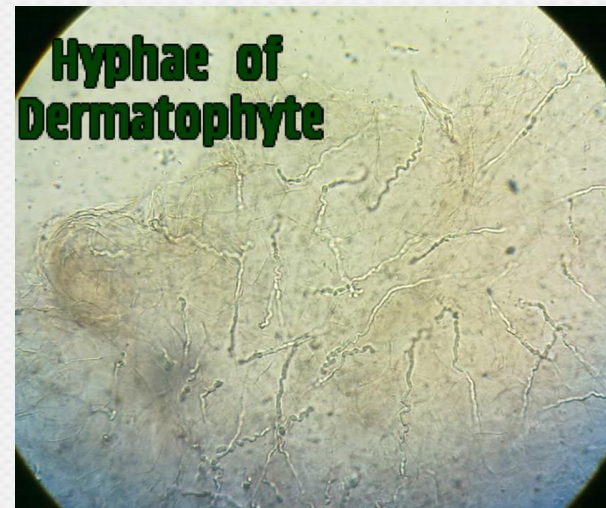


تشخیص آزمایشگاهی کچلی:

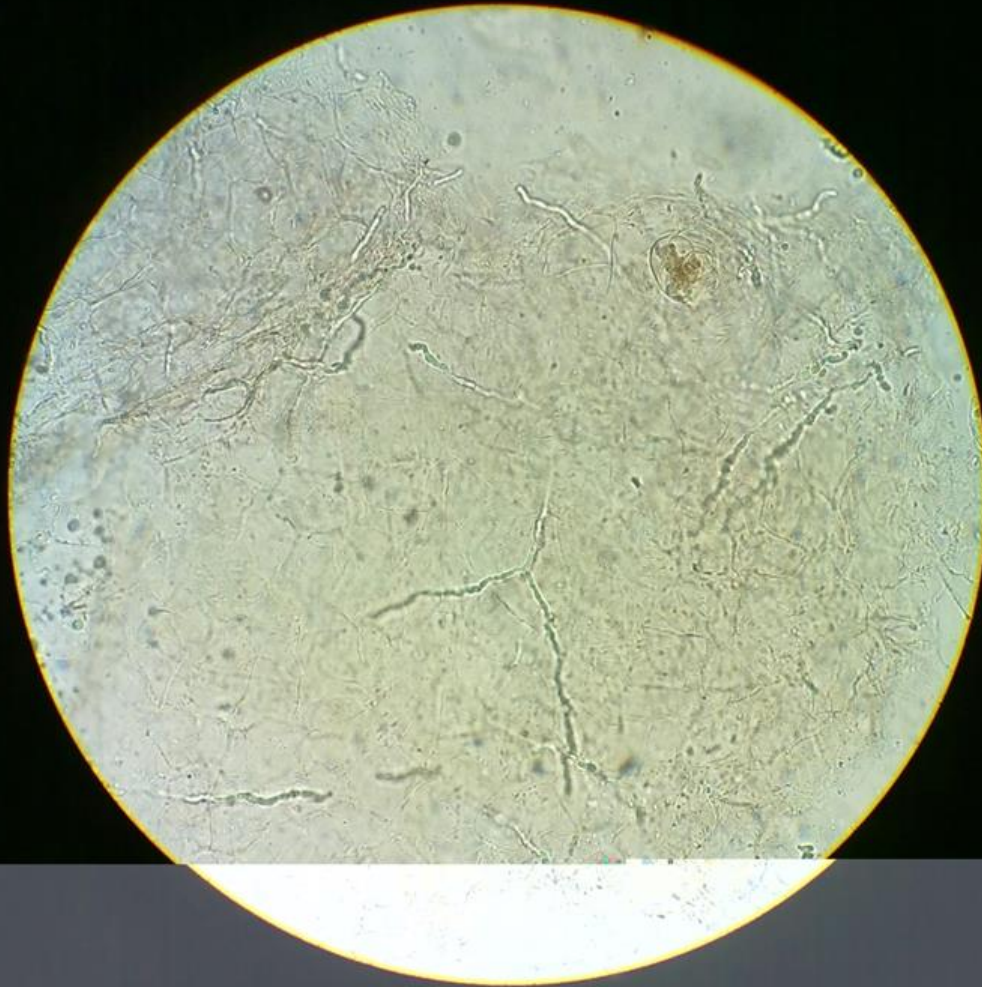
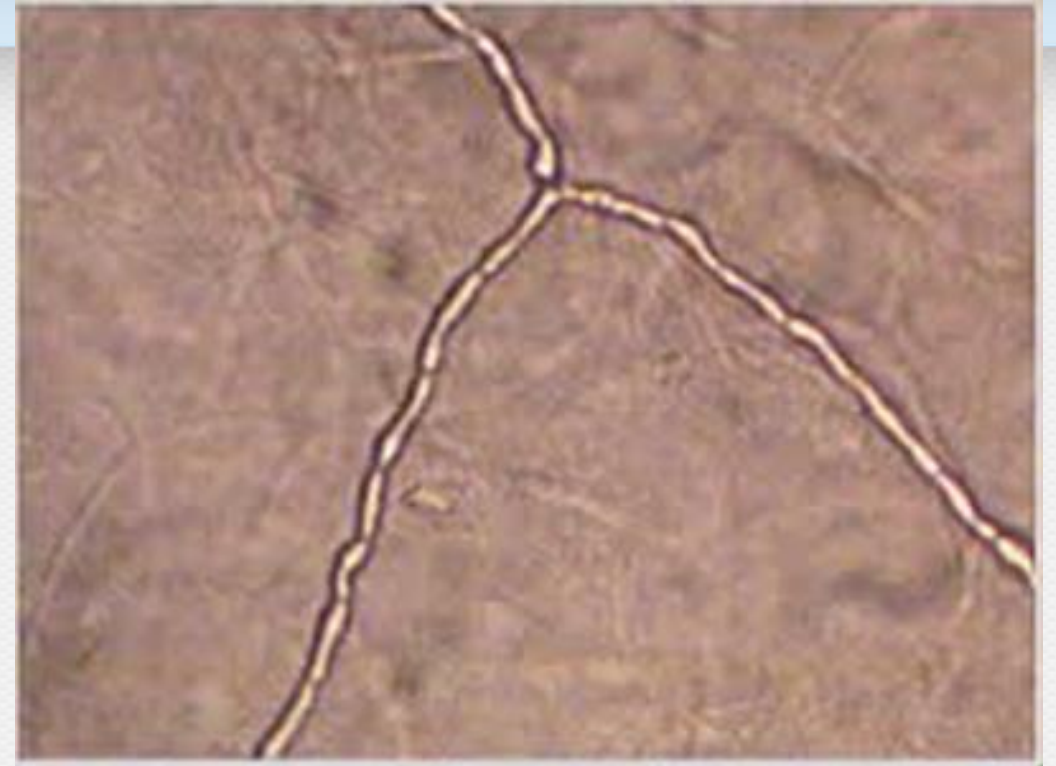
- ۲- تهیه اسمیر مستقیم از مواد بدست آمده از ضایعه (تراشه های پوستی، ناخن های چیده شده یا موها) با KOH
- هیف قارچ های درماتوفیت با استفاده از عدسی شیئی ۱۰ و ۴۰ مشاهده می شوند.
- پهنای منظم داشته، دیواره عرضی دارند، منشعب می باشند و تولید اسپور می کنند با نام آرتروکونیدی



Source: Carol Sauter, Maria K. Hordinsky;
Clinical Dermatology
Copyright © McGraw-Hill Education. All rights reserved.



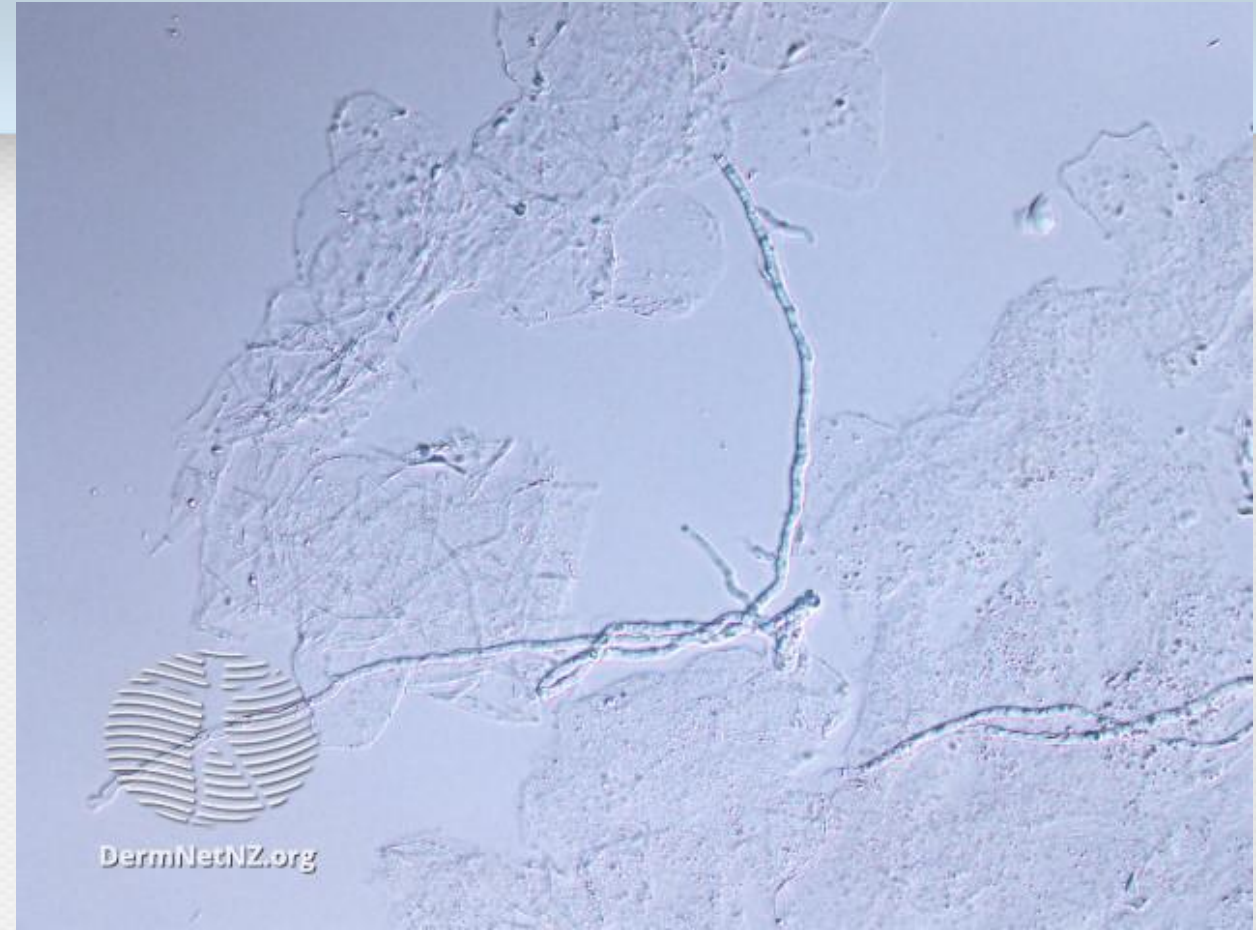
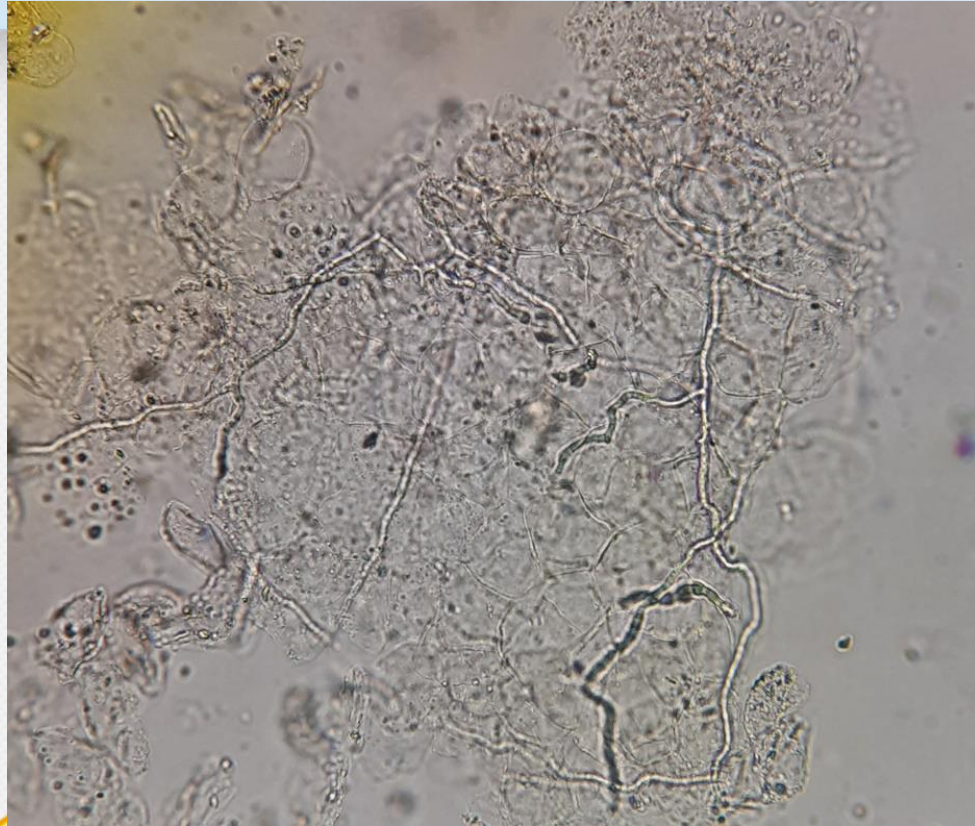
هيف درماتوفيت



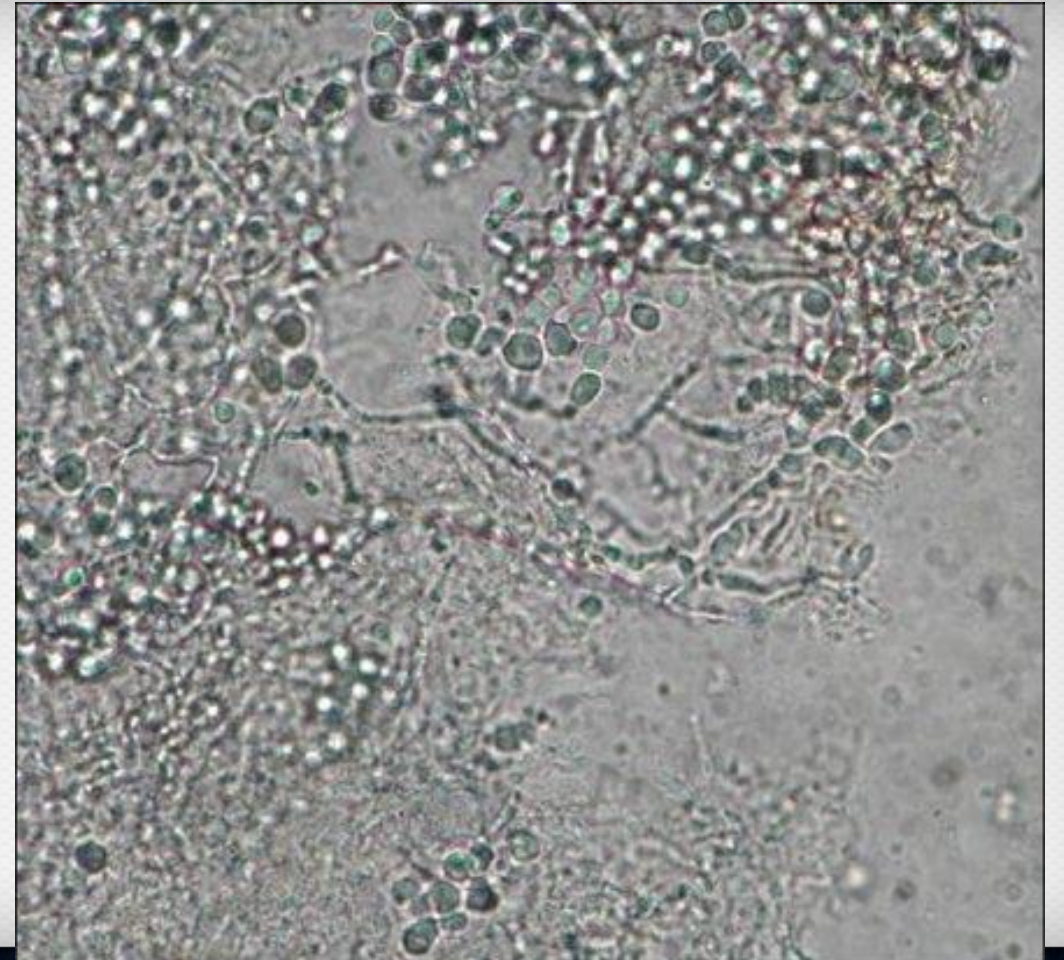
**Hyphae of
Dermatophyte**

سپتامبر ۲۴، ۱۷

هيف درماتوفيت



کچلی ناخن



سپتامبر ۲۴، ۱۷

تشخیص آزمایشگاهی کچلی:

۳- کشت

- کشت روی محیط سابورو حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید (SCC) نکته:

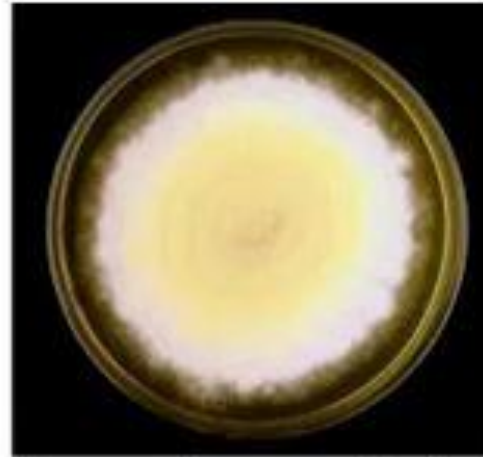
۱- در صورت وجود ضایعه در ناخن برای افتراق کچلی ناخن از عفونت قارچی ناخن توسط ساپروفیت ها از کشت استفاده می شود

۲- انجام تست حساسیت دارویی





T. rubrum



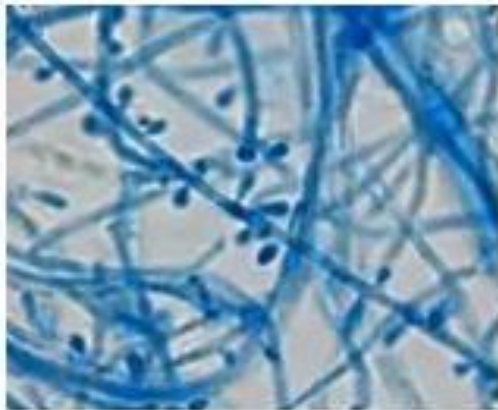
T. mentagrophytes



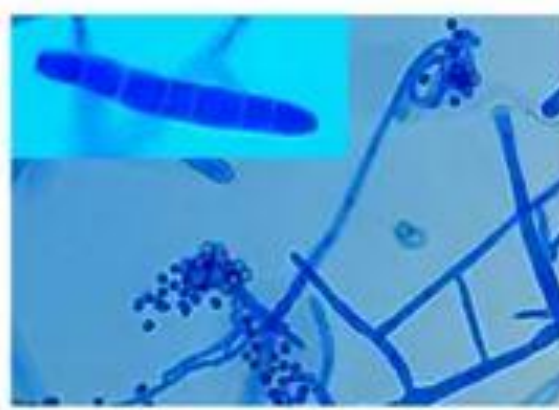
T. tonsurans



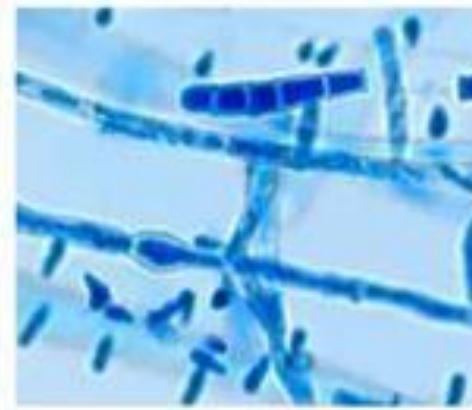
T. schoenleinii



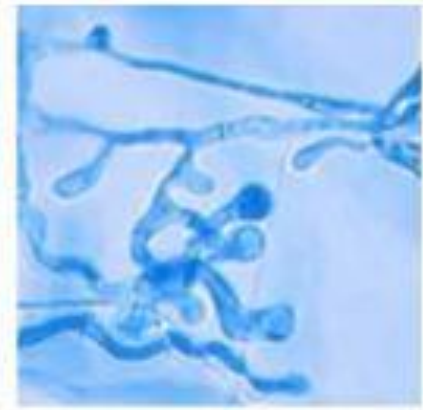
T. rubrum



T. mentagrophytes



T. tonsurans



T. schoenleinii

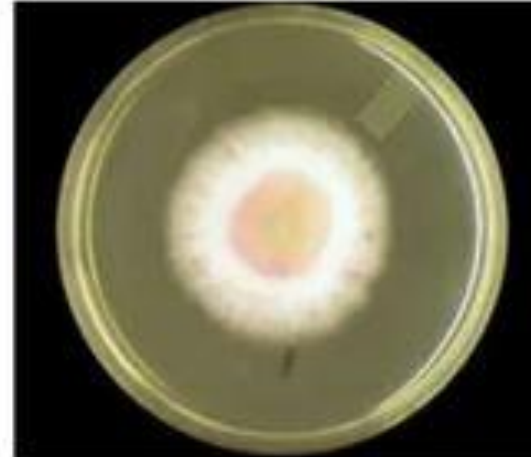




T. violaceum



M. audouinii



M. canis



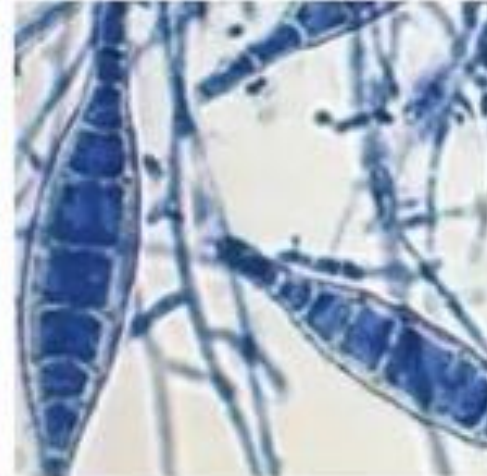
M. gypseum



T. violaceum



M. audouinii



M. canis



M. gypseum



نحوه گزارش دادن جواب آزمایش

Direct smear: Yeast & hyphae of Malassezia sp. were seen.

پیتریازیس ورسی کالر

Direct smear: Mycelium of fungal were seen

اتومایکوزیس (سaprofیت های رشته ای)

Direct smear: Yeast & pseudohyphae of Candida sp. were seen.

اتومایکوزیس (مخمر کاندیدا)

Direct smear: Mycelium & arthrospore of Dermatophyte were seen.

انواع کچلی ها

Direct smear: Tinea capitis (Endothrix): positive

کچلی سر از نوع اندوتریکس

Direct smear: Tinea capitis (Ectothrix): positive

کچلی سر از نوع اکتوتریکس

Culture: positive

کشت درماتوفیت ها

Culture: Negative

کشت درماتوفیت ها

Direct smear: : Mycelium of fungal were seen.

ناخن





از توجه شما سپاسگزارم