



روش های نمونه برداری و تشخیص آزمایشگاهی بیماری های قارچی

دکتر مریم آذیش – دکتری تخصصی قارچ شناسی پزشکی

کلیات

✓ قارچ ها یکی از پنج دودمان موجودات زنده هستند

✓ تنها 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

انواع نمونه ها

عفونت های قارچی سطح / جلدی:

☐ پوست

☐ مو

☐ ناخن

☐ غشاهای مخاطی

☐ چشم

☐ گوش

عفونت های قارچی زیر جلدی:

☐ چرک و ترشحات

☐ بیوپسی

عفونت های قارچی احشایی:

☐ آبسه و زخم

☐ خون

☐ مایع مغزی نخاعی

☐ مایعات بدن

☐ ادرار

☐ خلط و ترشحات برونشیا

☐ بیوپسی

☐ ...

عفونت های قارچی سطحی:

(۱) پیتریازیس ورسی کالر (Pityriasis versicolor)

(۲) عفونت های قارچی گوش (Otomycosis)

(۳) کراتیت قارچی (Fungal keratitis)

(۴) عفونت های قارچی ناخن (Onychomycosis)

(۵) تینه آنیگرا (Tinea nigra)

(۶) پیدرا سیاه و سفید (Wight & Black piedra)

بیماری پیتریازیس ورسی کالر







تشخیص آزمایشگاهی پتريازيس ورسى كالر

نمونه گيرى:





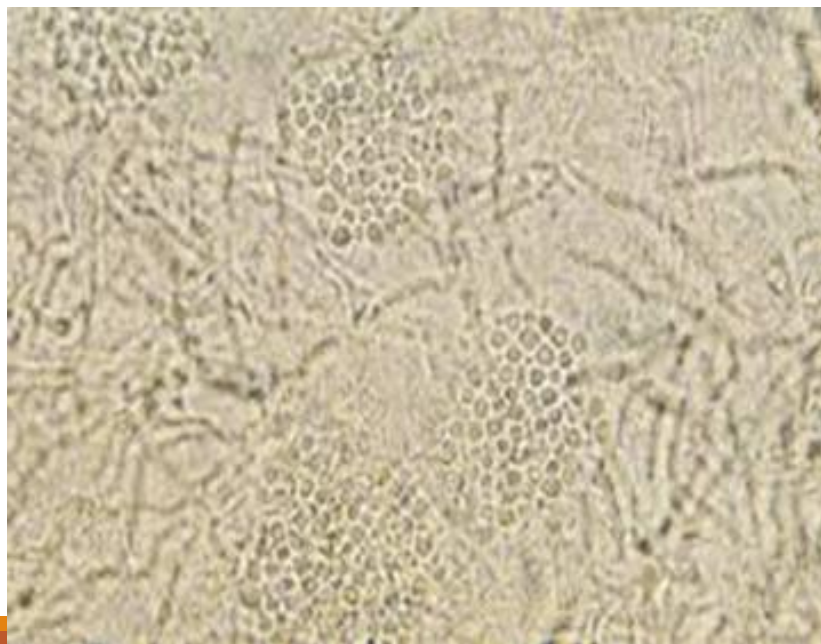
تشخیص آزمایشگاهی پیتریازیس ورسی کالر

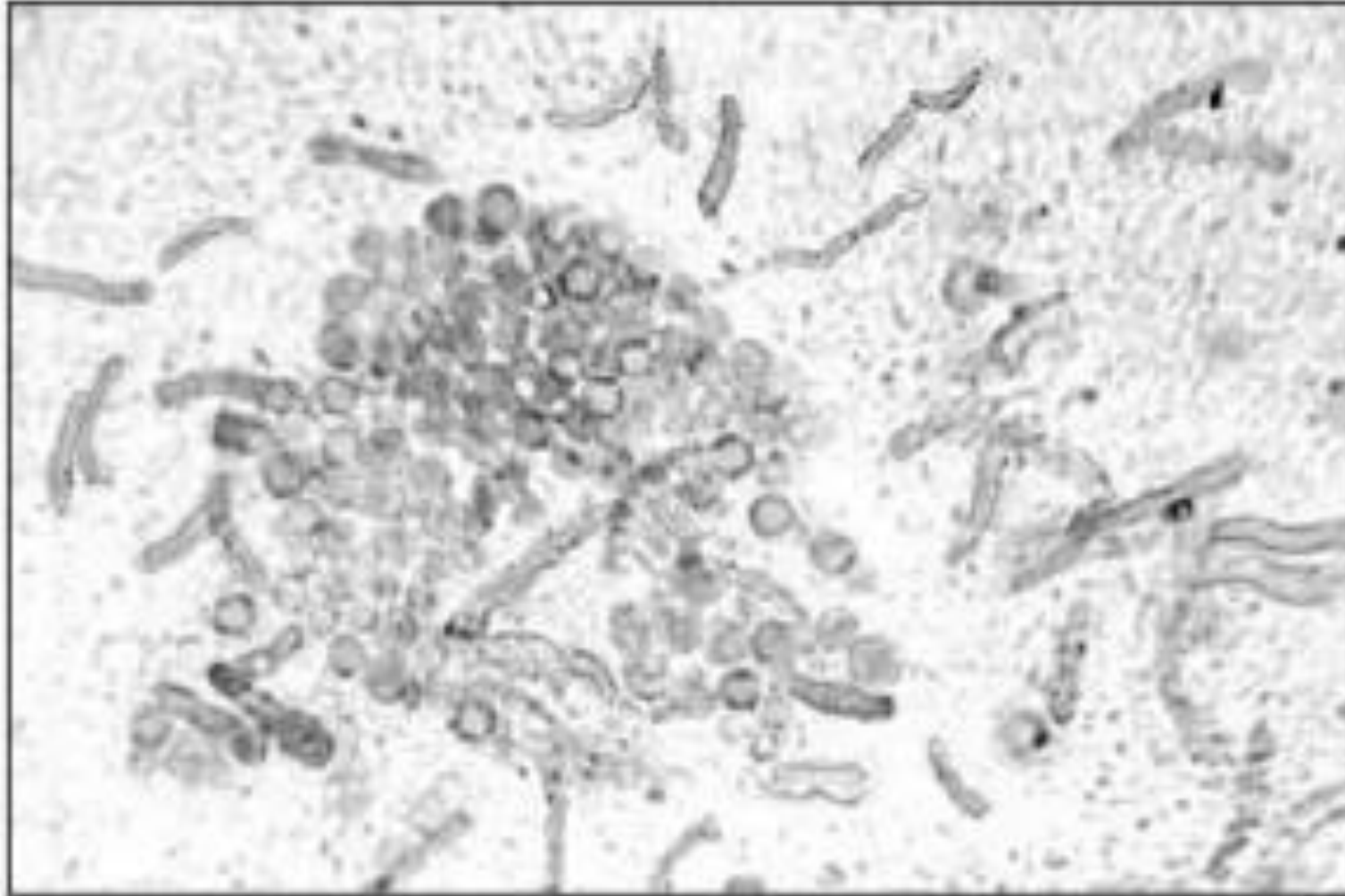
۱- تهیه لام مستقیم با 10% KOH از پوسته های اسکراپ شده

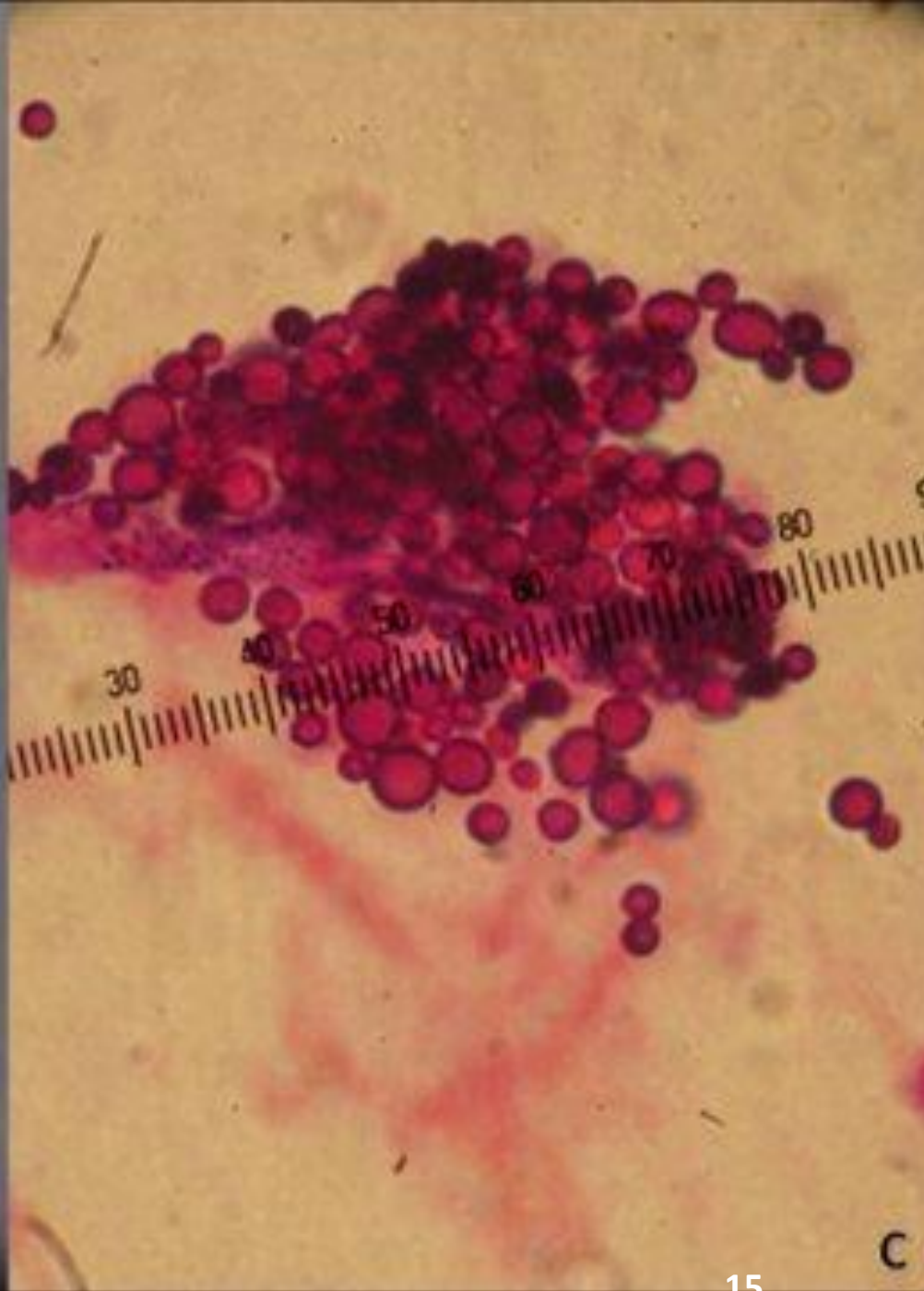
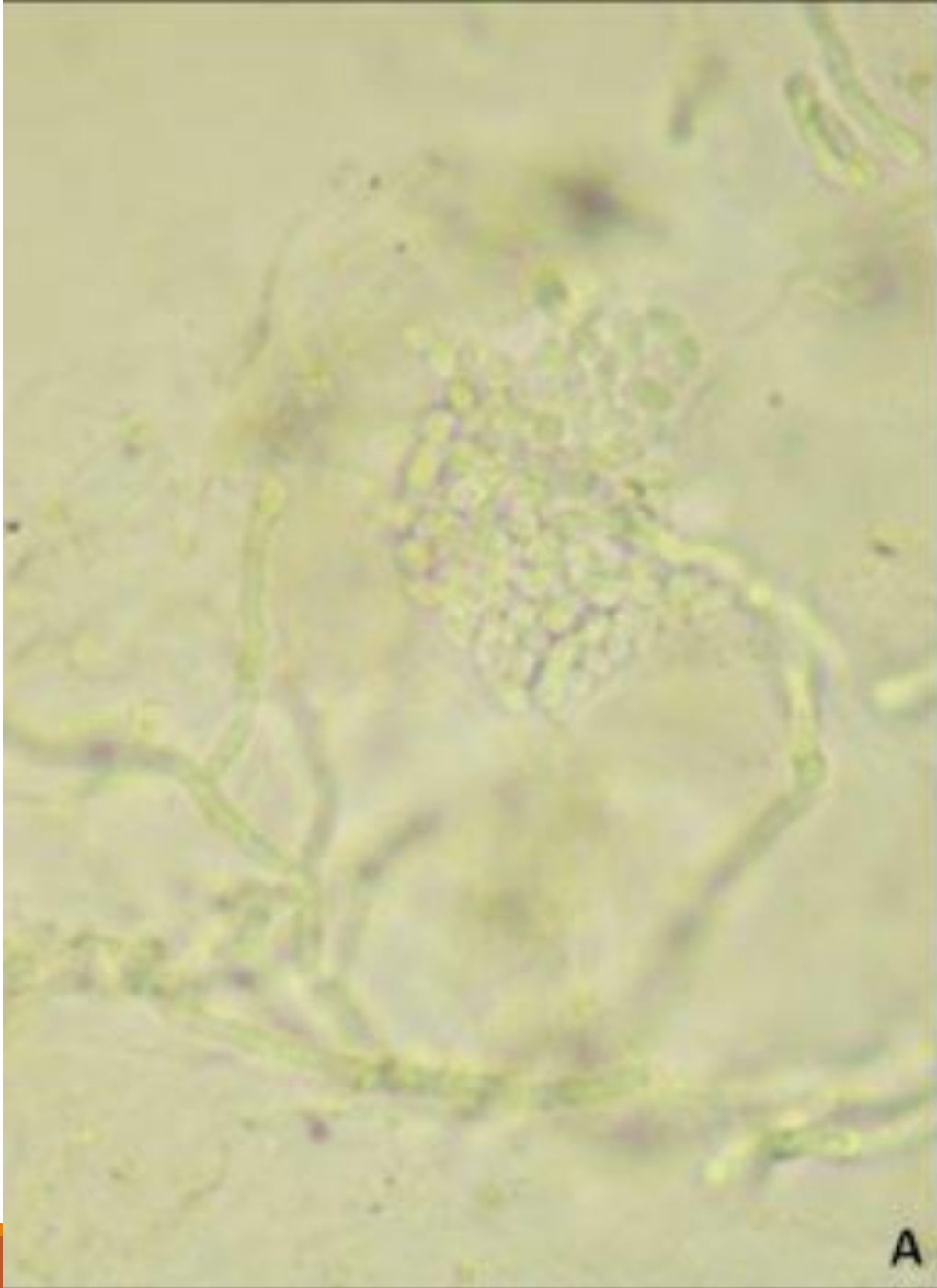


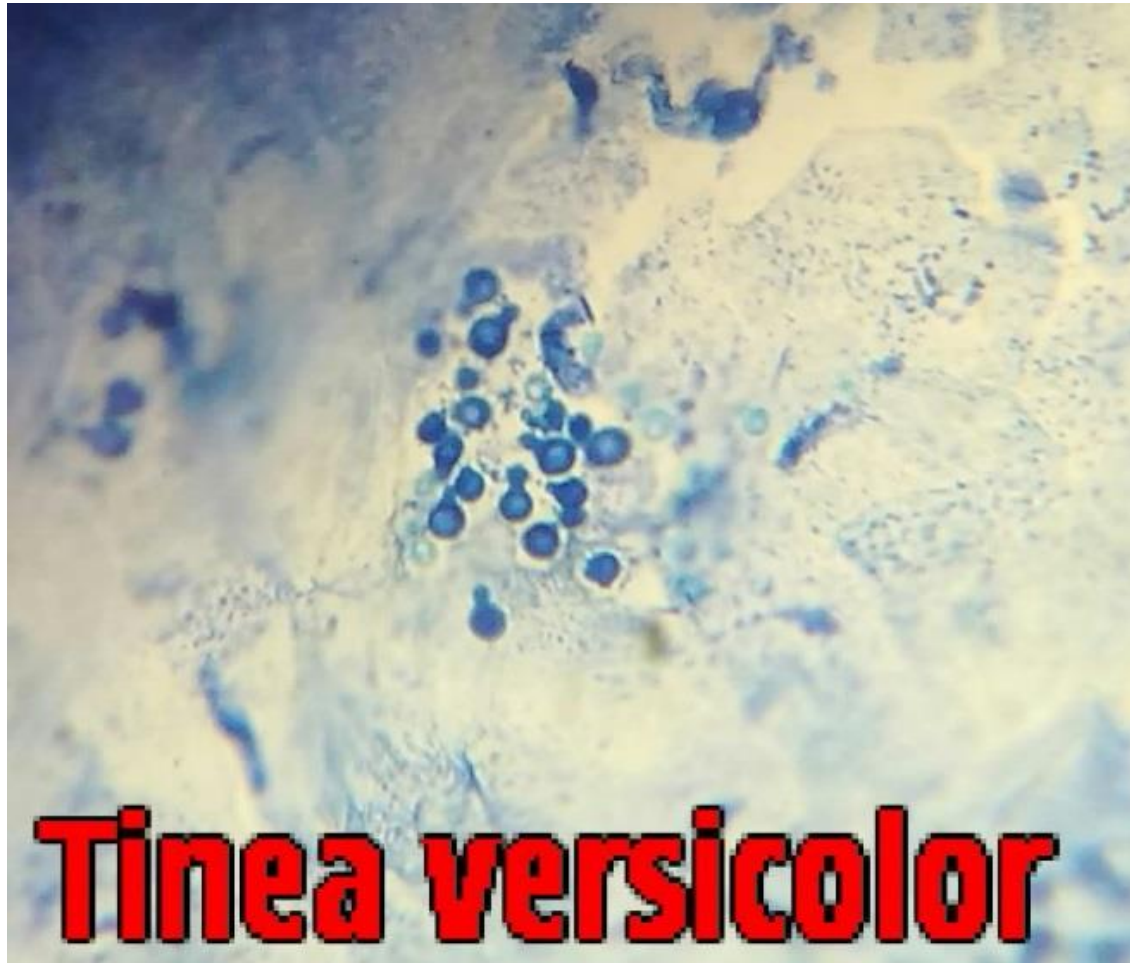
۲- کشت روی محیط دیکسون آگار

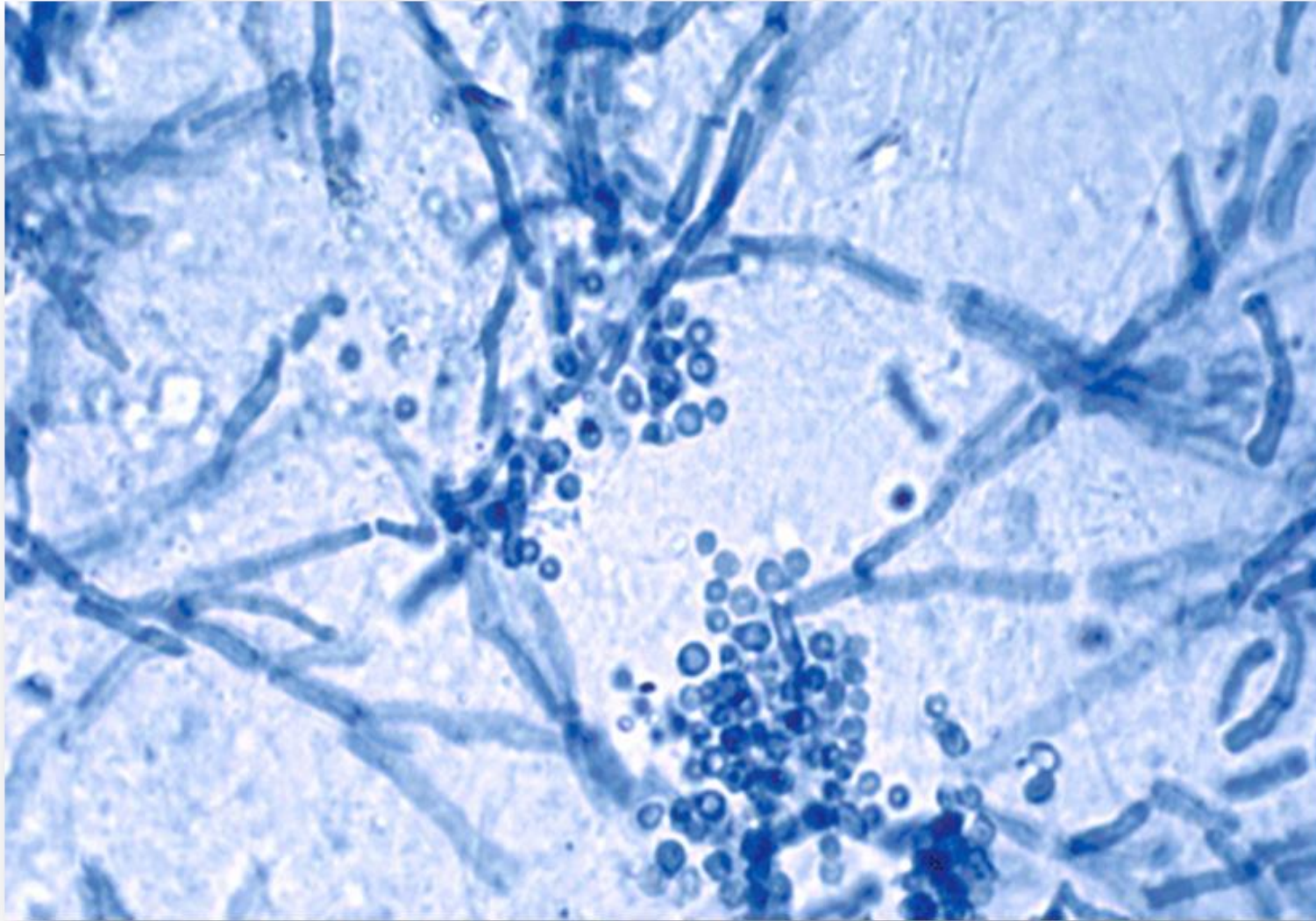
نمای Spaghetti & meatballs

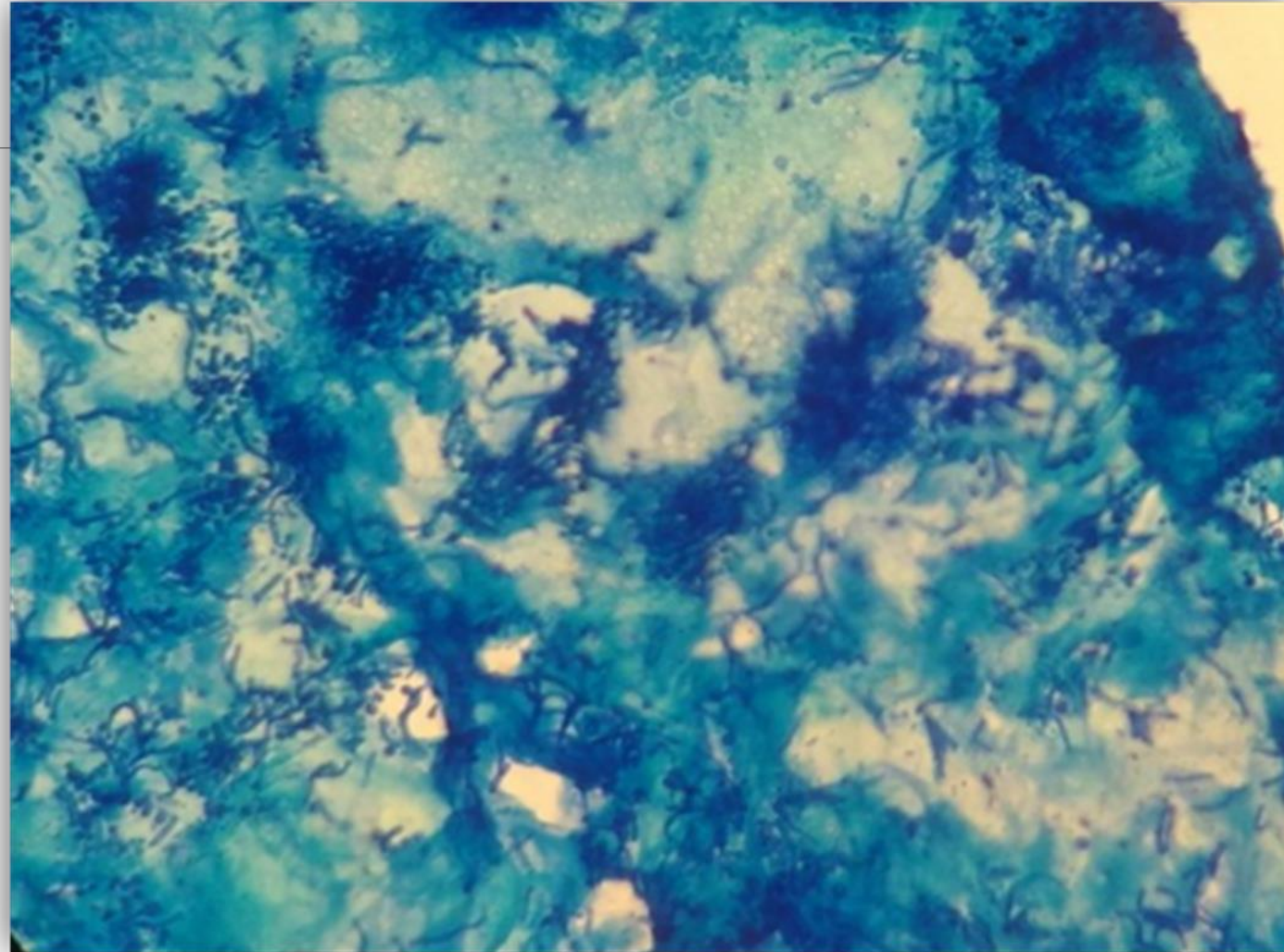








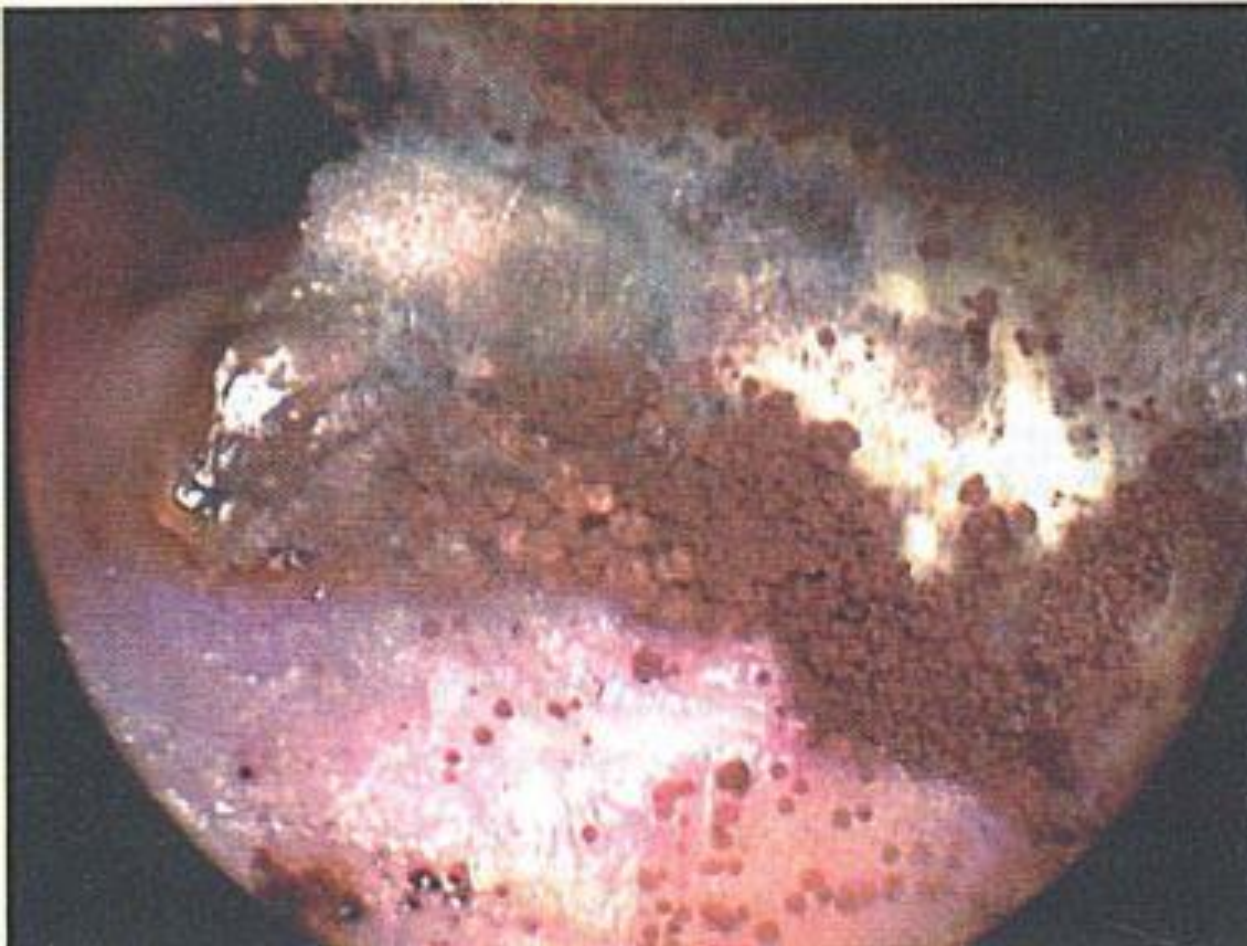




اتومایکوزیس



نمای داخلی گوش خارجی مبتلا به عفونت با آسپرژیلوس نیجر





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

رشته ای با تیغه میانی: گونه های مختلف آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، فوزاریوم، درماتوفیت ها و ...

رشته ای بدون تیغه میانی: موکور، رایزوپوس و ...

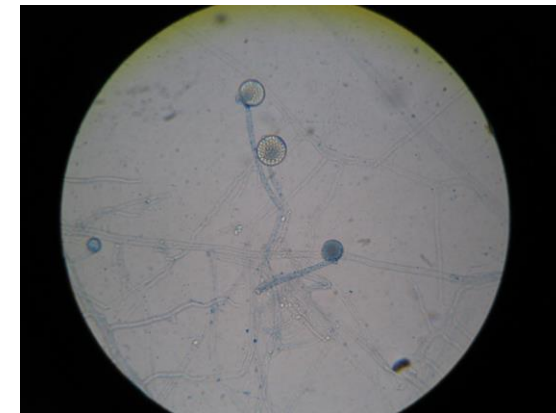
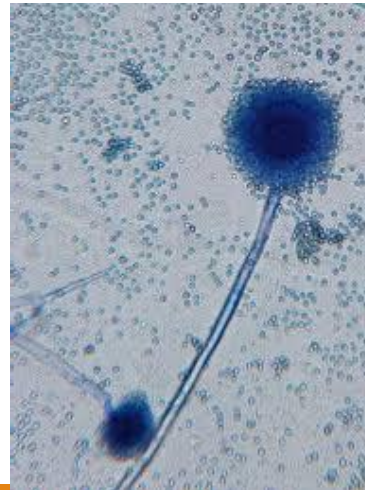
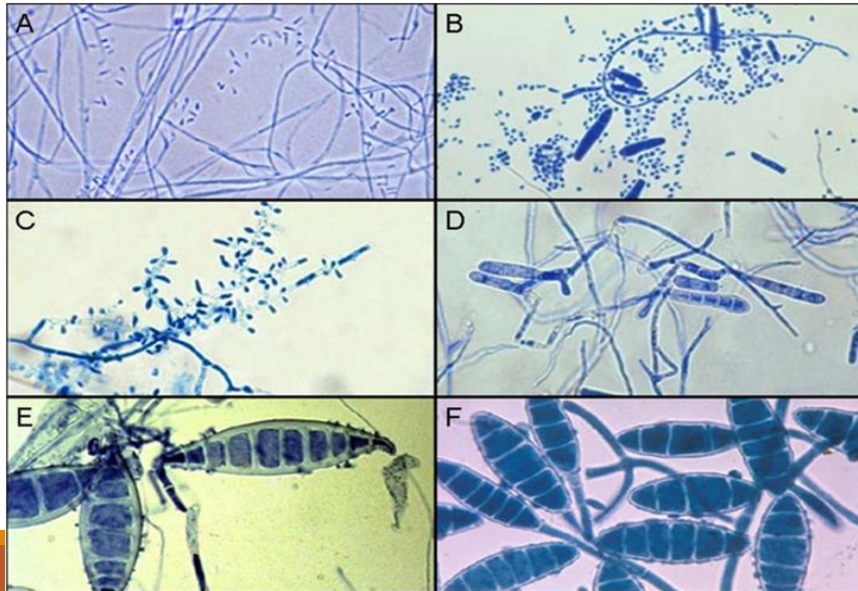
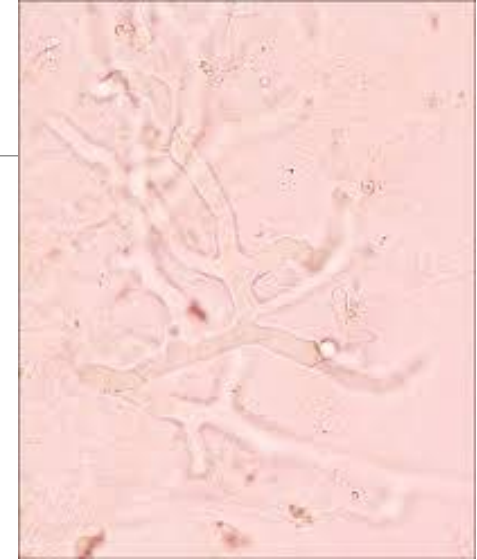
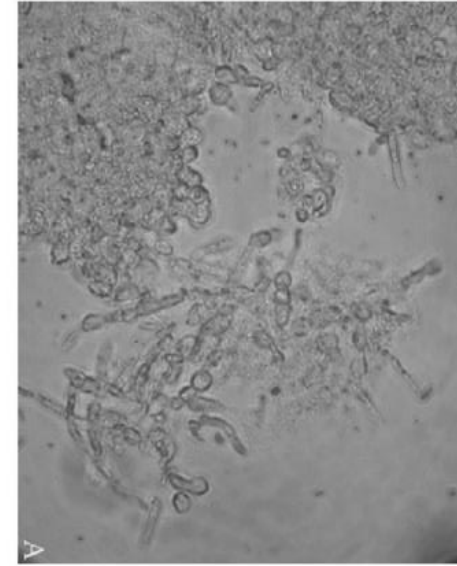
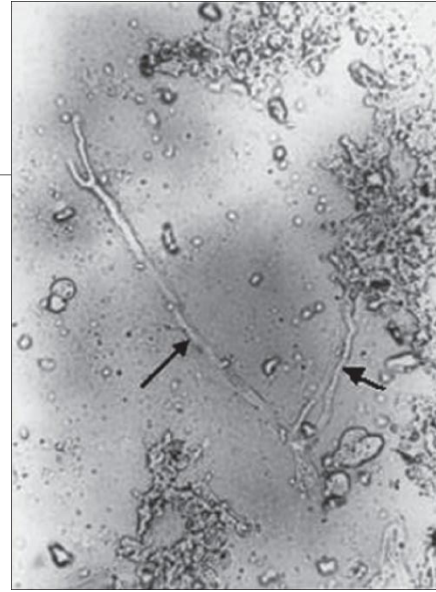
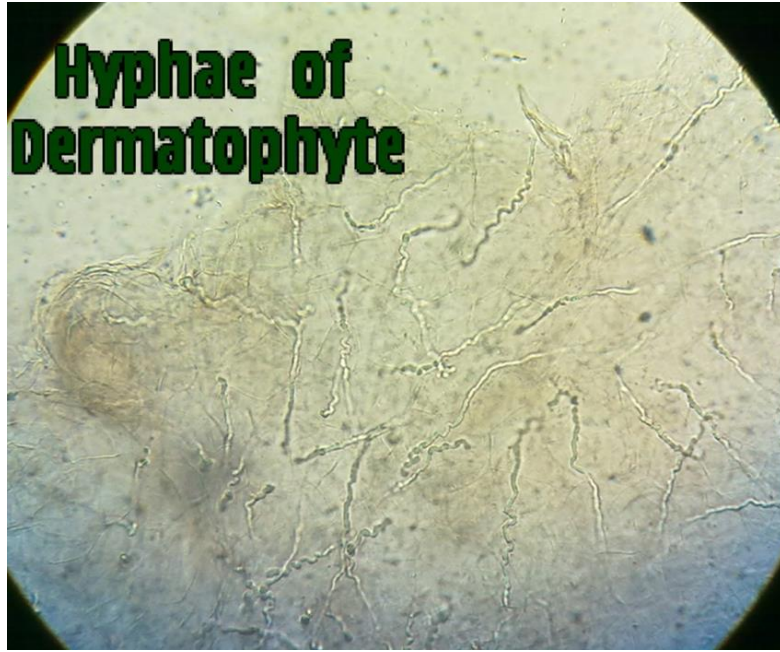
مخمري: گونه های مختلف کاندیدا و ...

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

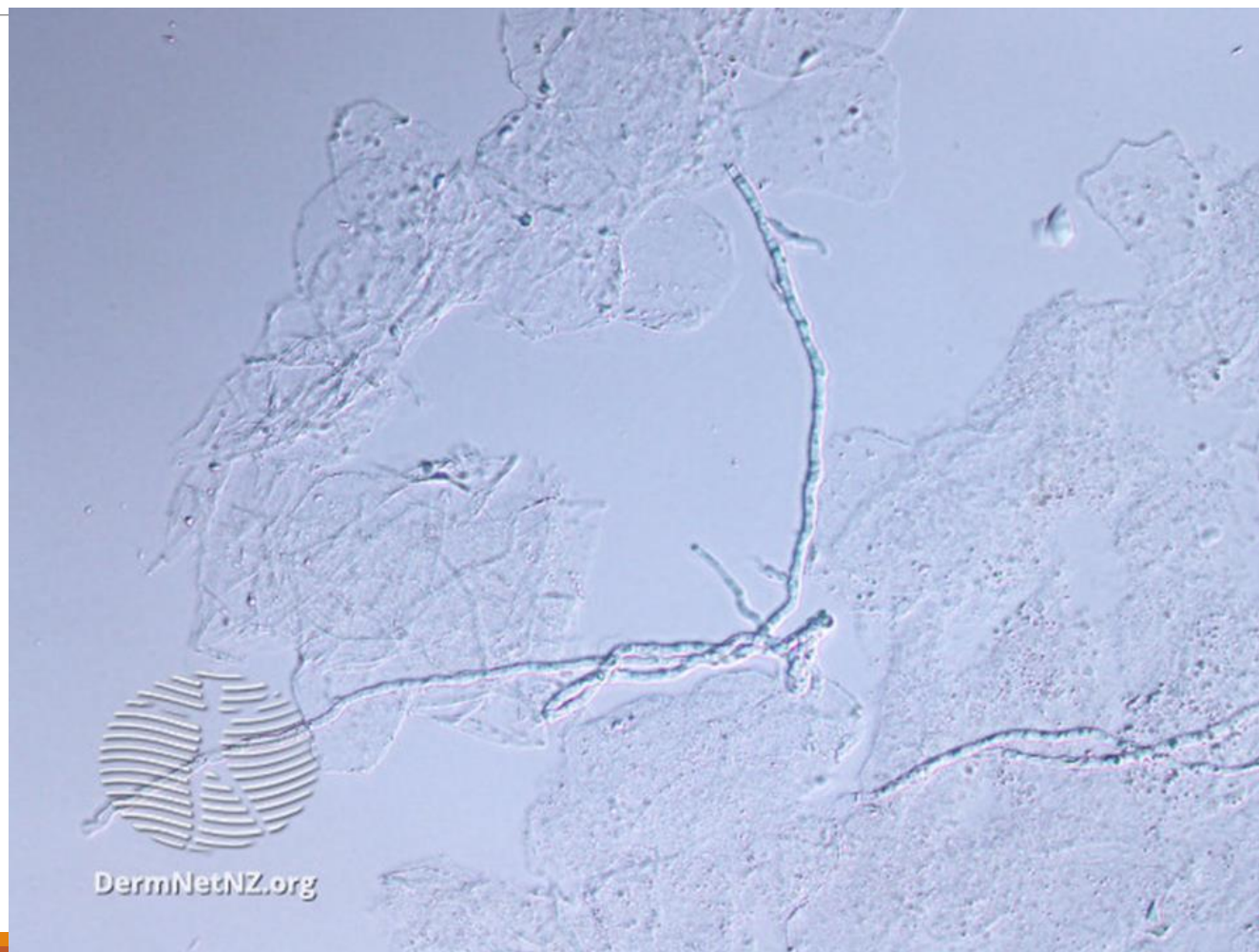
➤ کشت نمونه ها در محیط SC

نکته: در اتومایکوزیس ارزش اسمیر مستقیم بیشتر از کشت است

اسمیر مستقیم: میسلیم با تیغه میانی
ظاهر میکروسکوپی قارچ ها در محیط کشت



اسمیر مستقیم: میسلوم با تیغه میانی (درماتوفیت)



بیماری کچلی سیاه



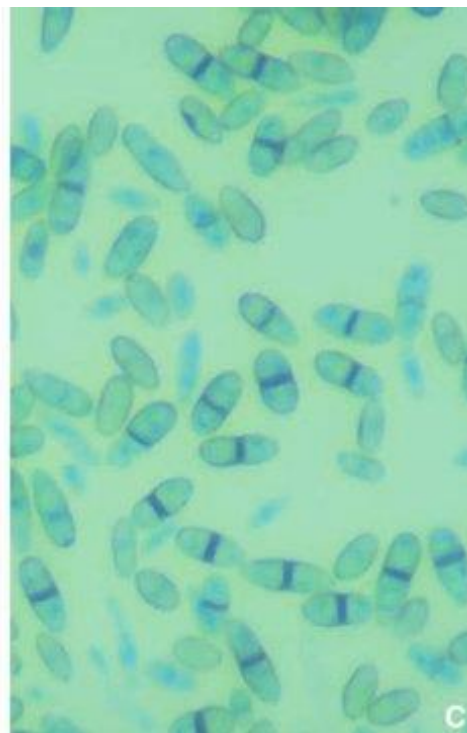
تشخیص آزمایشگاهی کچلی سیاه

نمونه گیری: تراشیدن سطح ضایعه

اسمیر مستقیم با KOH: هایف های منشعب قهوه ای، دارای تیغه میانی قارچ

سیاه /گزوفیالا ورنکئی

کشت: هیف همراه با مخمرهای دوتایی، گزوفیالا ورنکئی



عفونت های قارچی جلدی

(پوست، مو و ناخن)

○ کچلی بدن

○ کچلی دست

○ کچلی پا

○ کچلی کشاله ران

○ کچلی ریش

○ کچلی سر

○ کچلی ناخن

کچلی بدن



کچلی ریش



کچلی دست



کچلی پا



Dr. Dubin's collection

کچلی پا



کچلی کشاله ران



تشخیص آزمایشگاهی کچلی ها

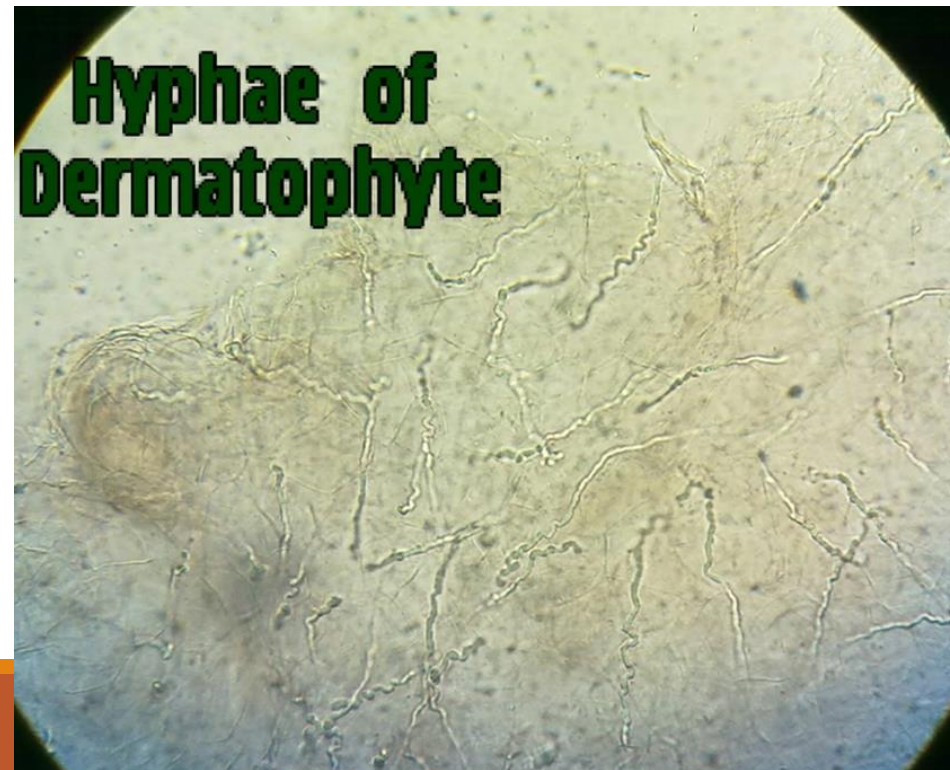
نمونه گیری:

پوست محل ضایعه توسط اسکالپل تراشیده شود

۱- تهیه اسمیر مستقیم از مواد بدست آمده از ضایعه (تراشه های پوستی) با KOH

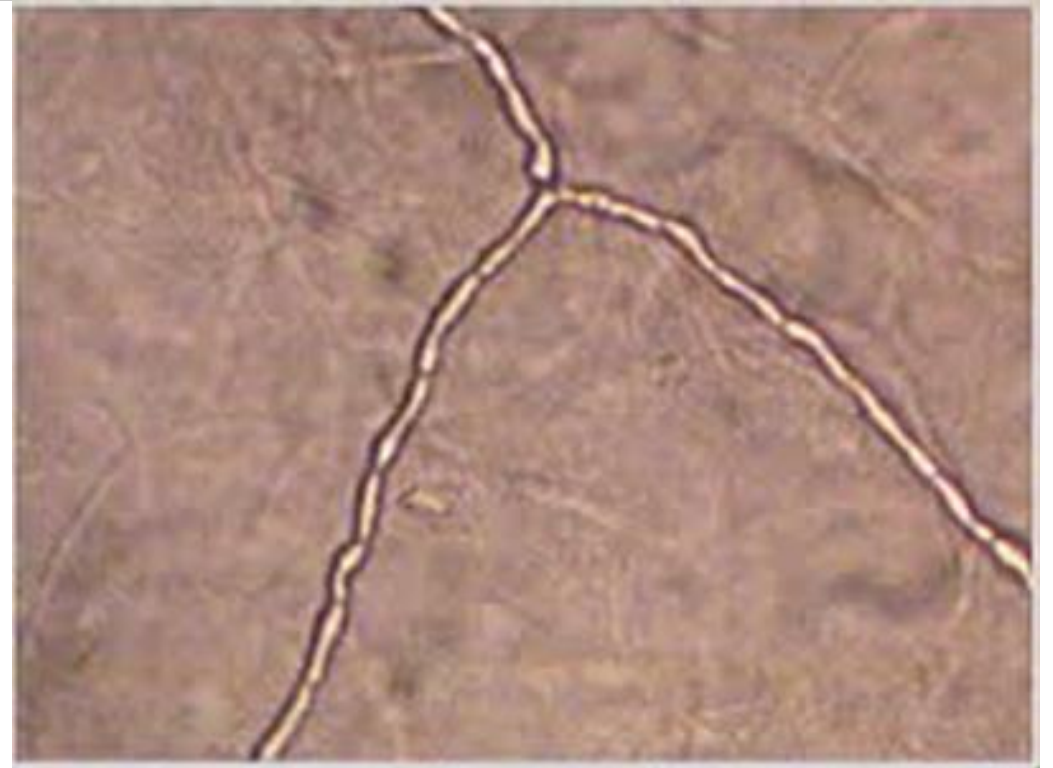
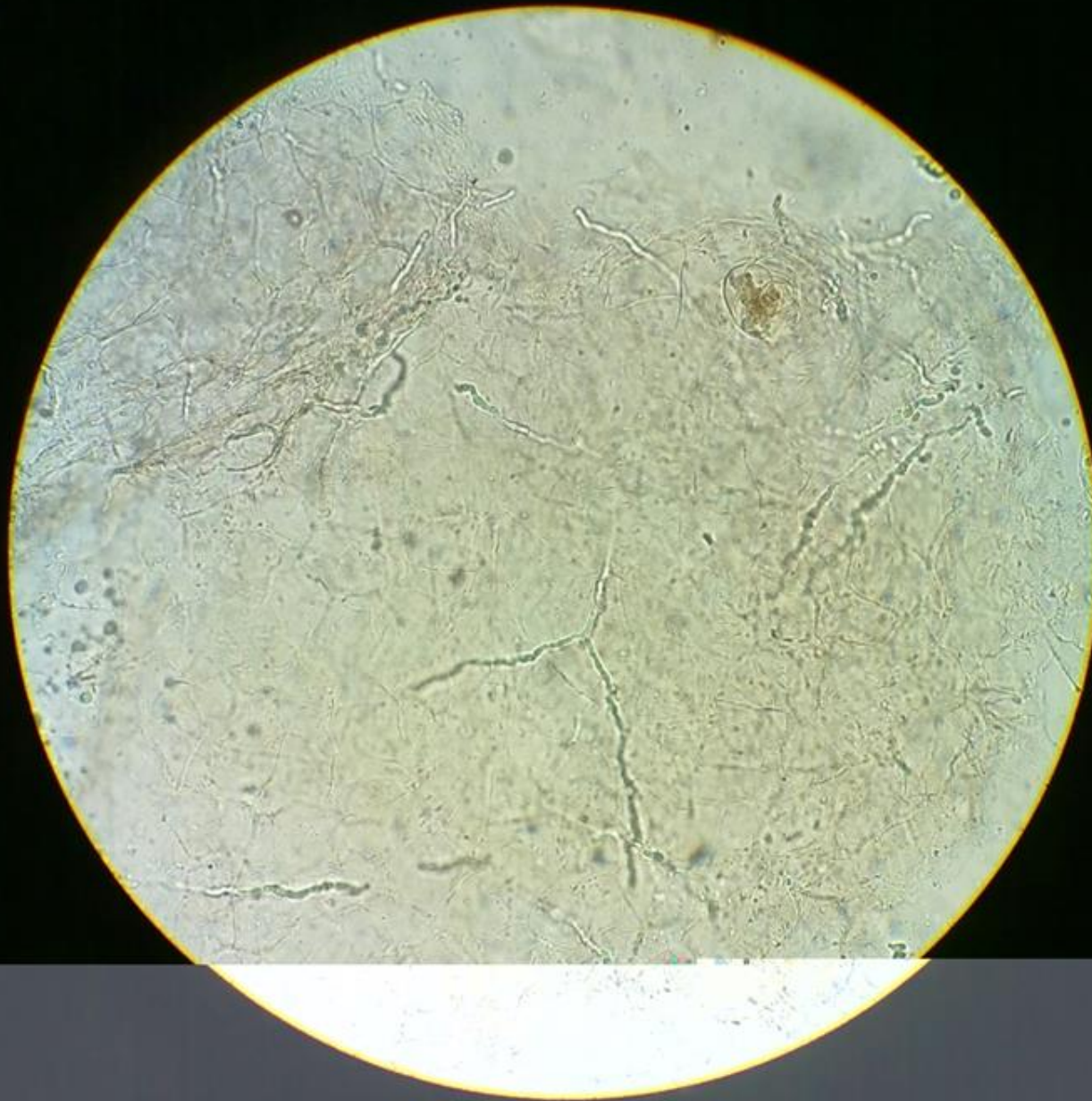
- هیف قارچ های درماتوفیت با استفاده از عدسی شیئی ۱۰ و ۴۰ مشاهده می شوند.

- پهنای منظم داشته، دیواره عرضی دارند، منشعب می باشند و تولید اسپور می کنند با نام آرتروکونیدی

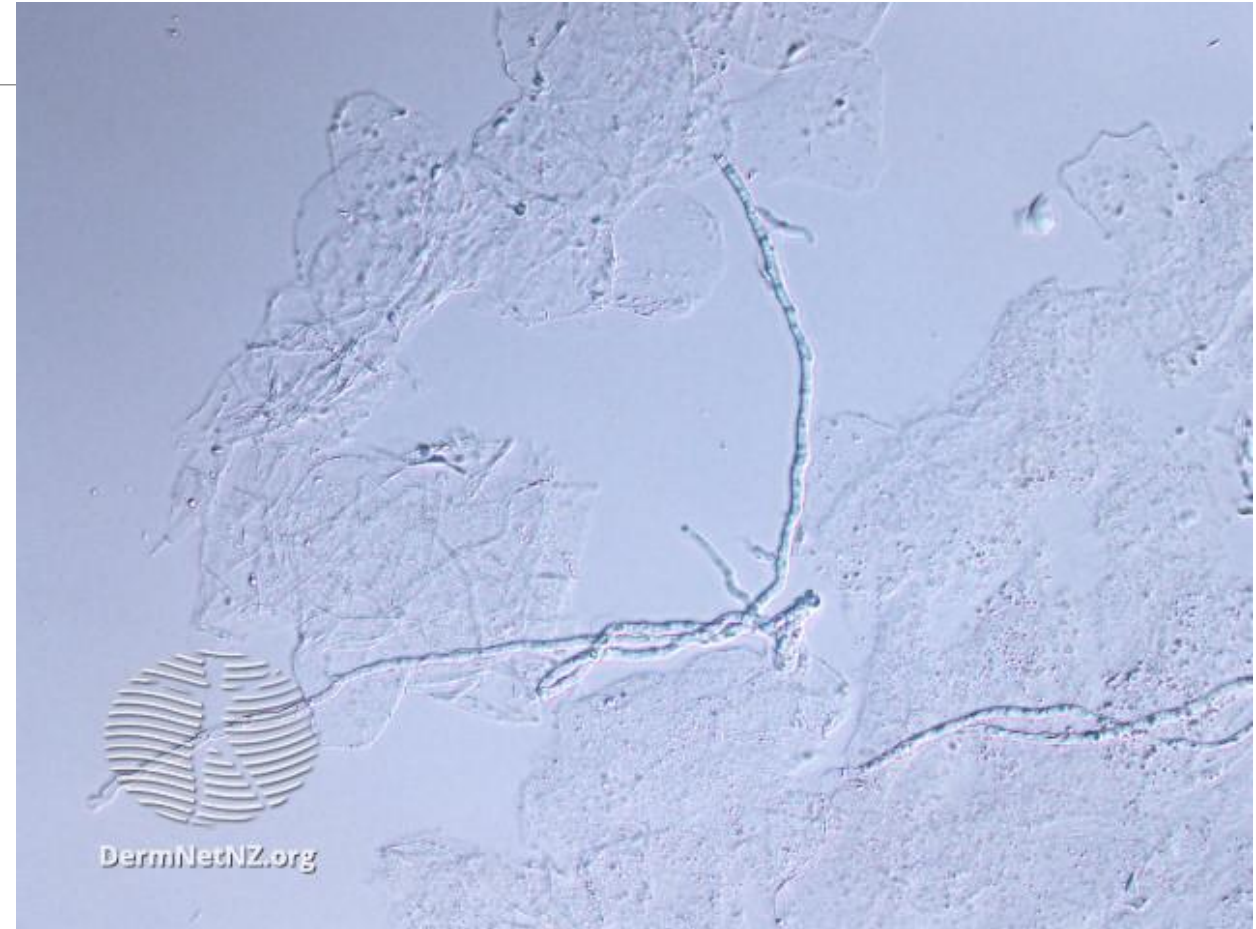
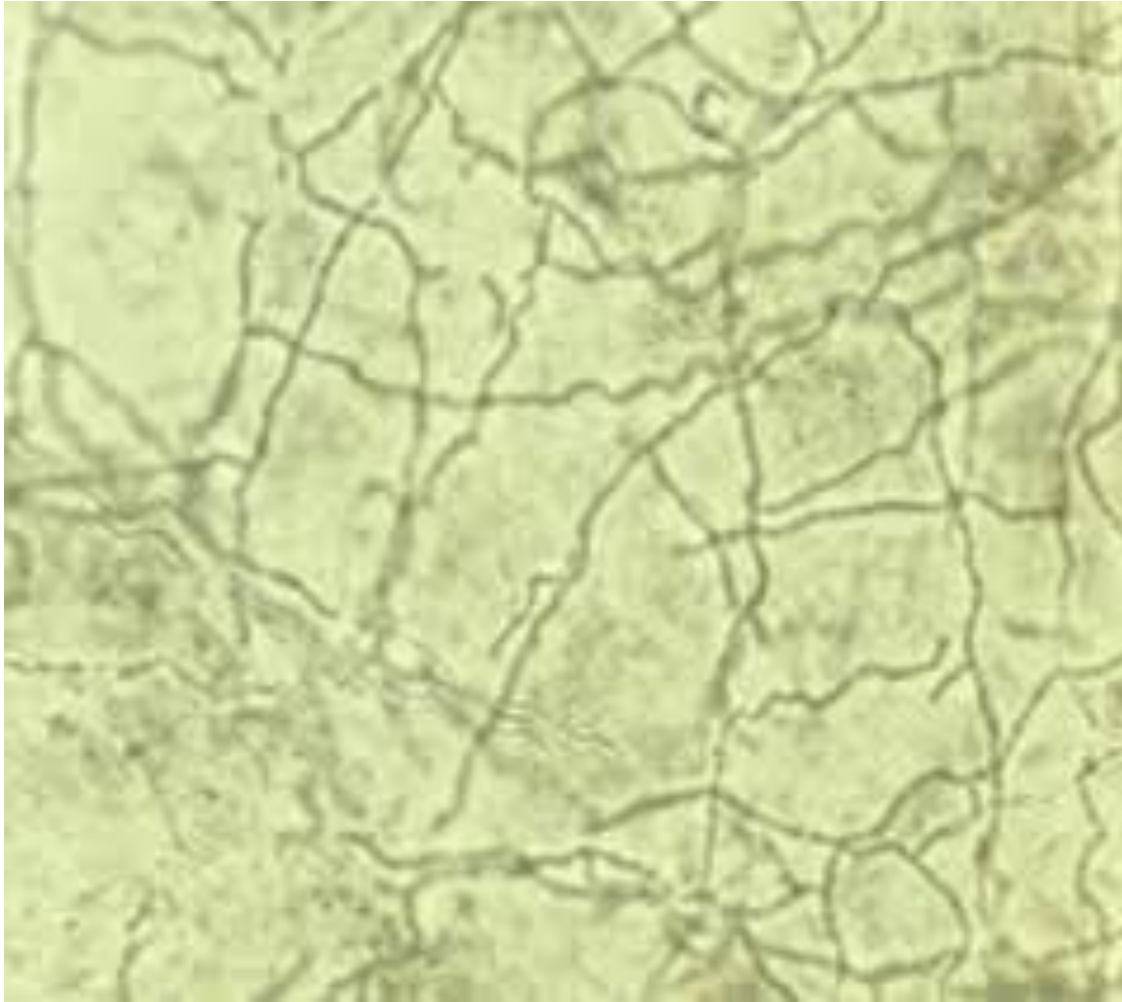




هیف درماتوفیت



هيف درماتوفيت

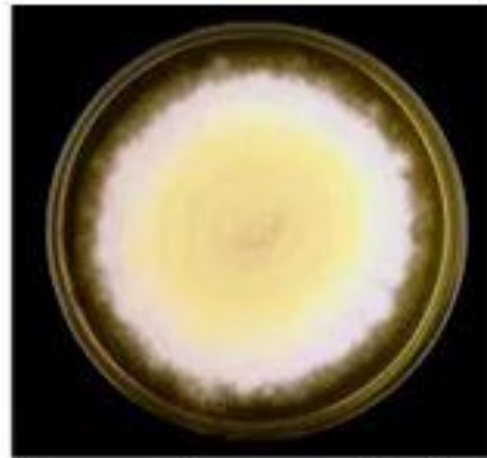


۲- کشت:

روی محیط سابورو حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید (SCC)



T. rubrum



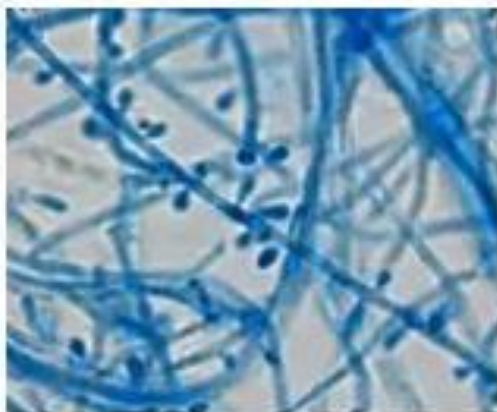
T. mentagrophytes



T. tonsurans



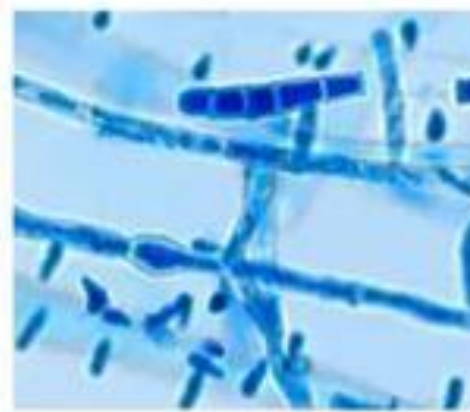
T. schoenleinii



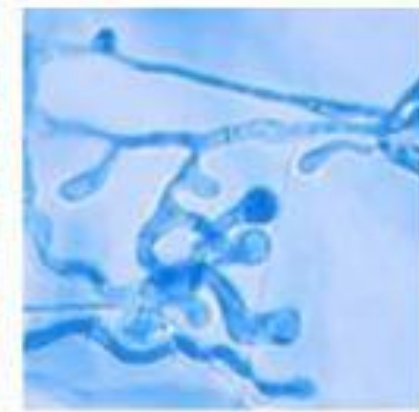
T. rubrum



T. mentagrophytes



T. tonsurans



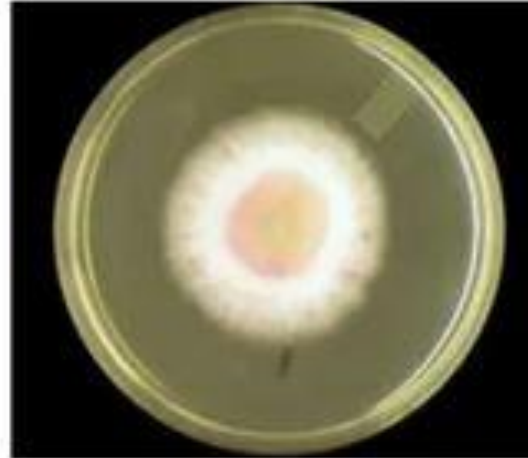
T. schoenleinii



T. violaceum



M. audouinii



M. canis



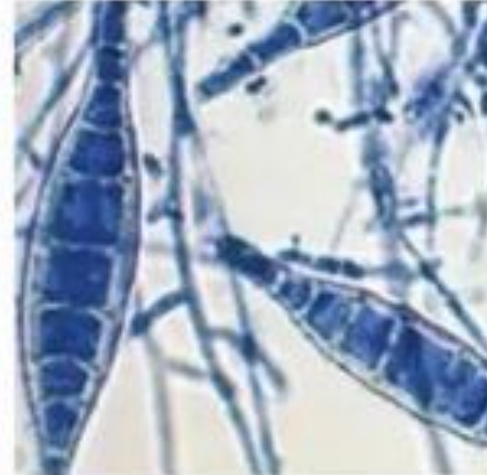
M. gypseum



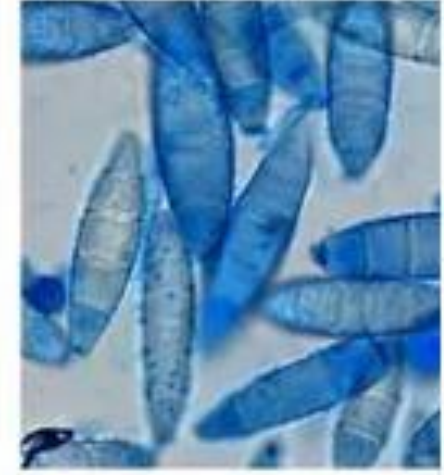
T. violaceum



M. audouinii



M. canis



M. gypseum

کاندید یازیس جلدی





Recurrent candidal intertrigo ...

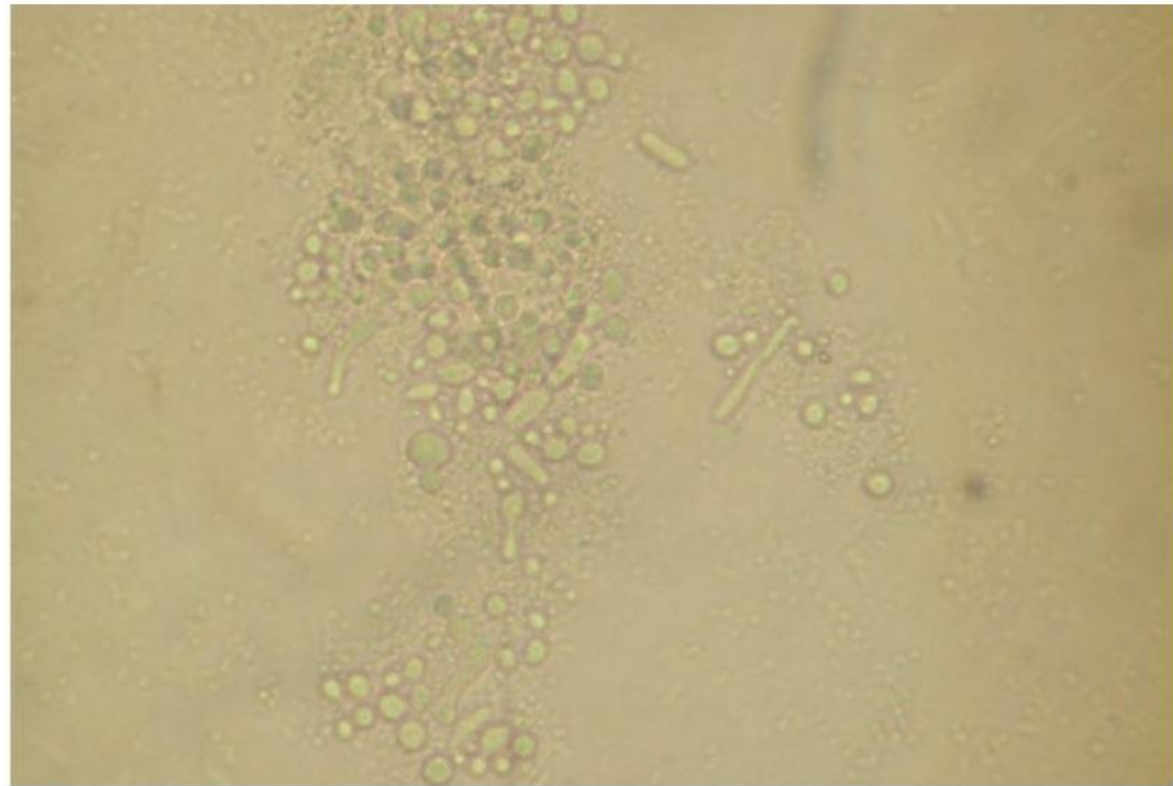
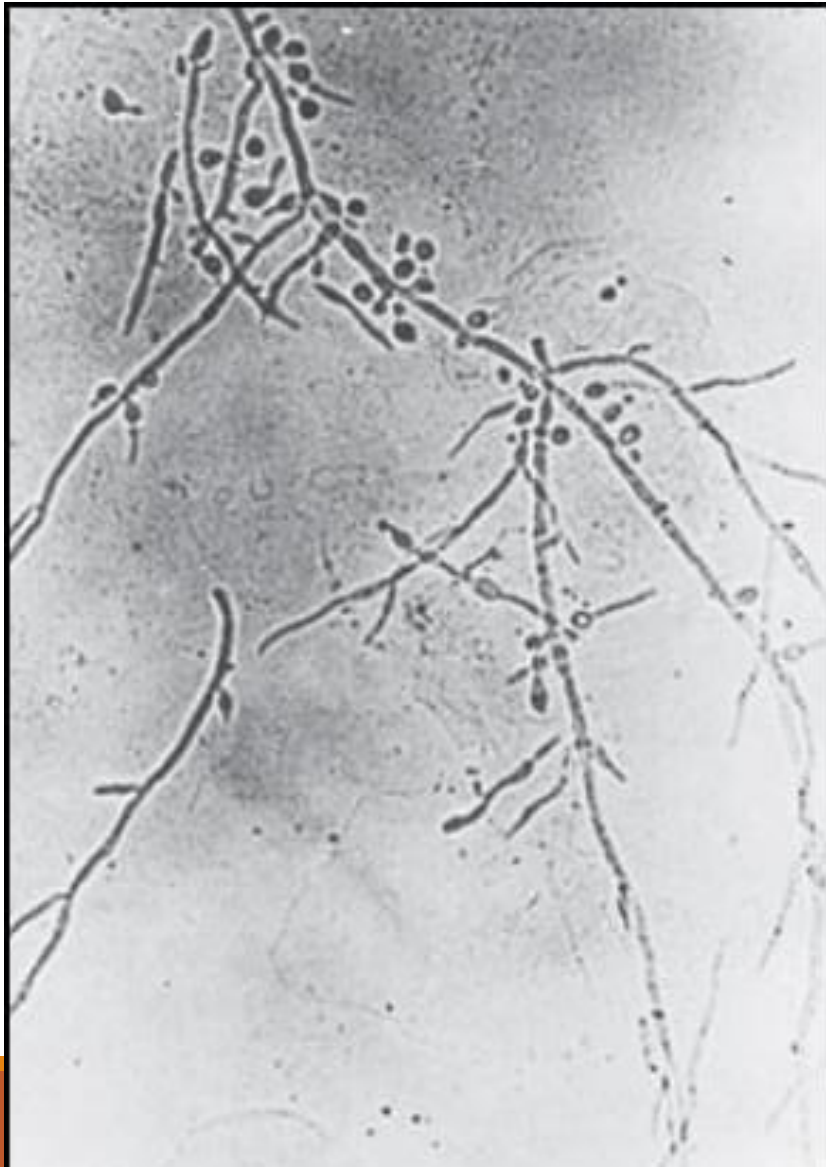


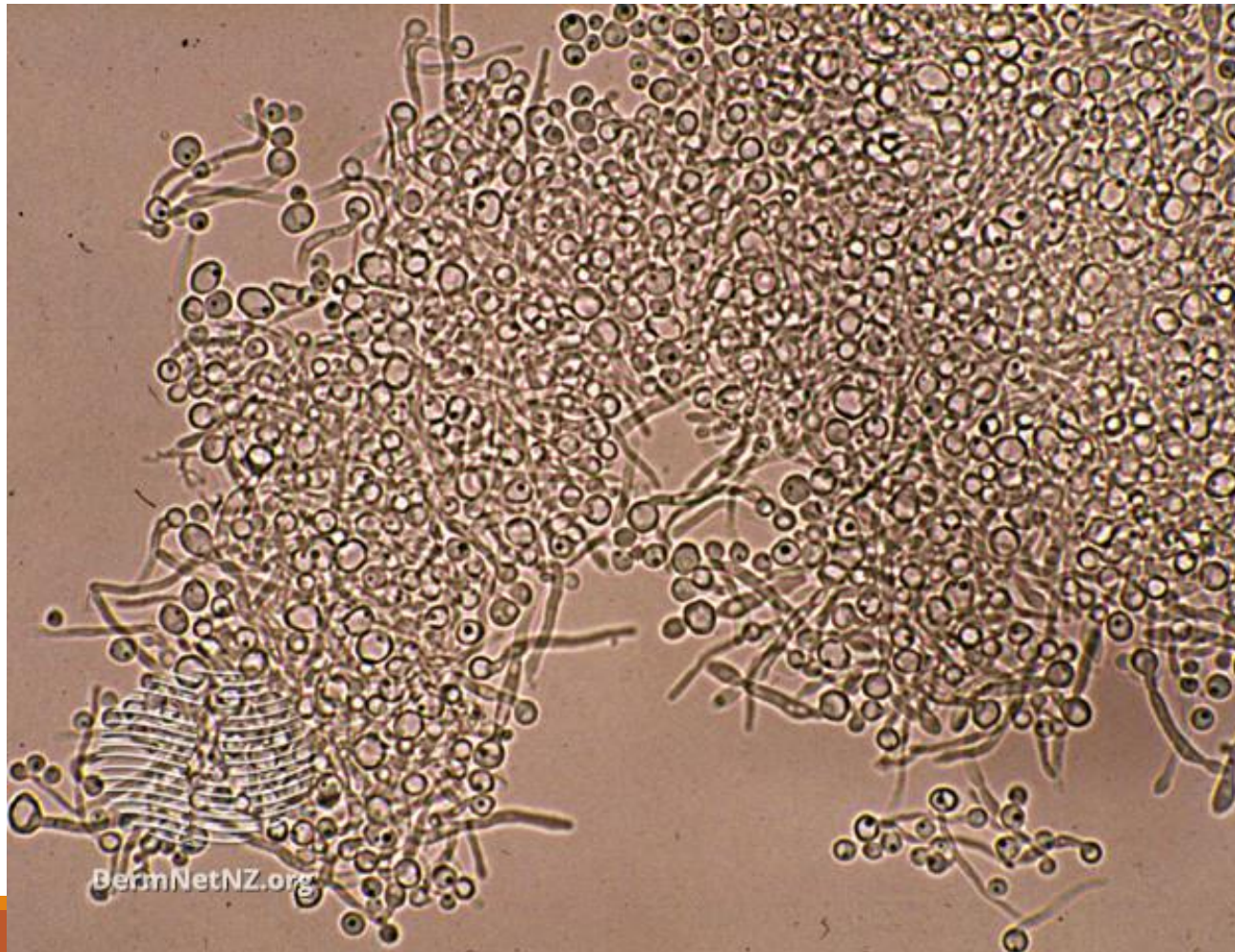


تشخیص آزمایشگاهی کاندیدایزیس جلدی

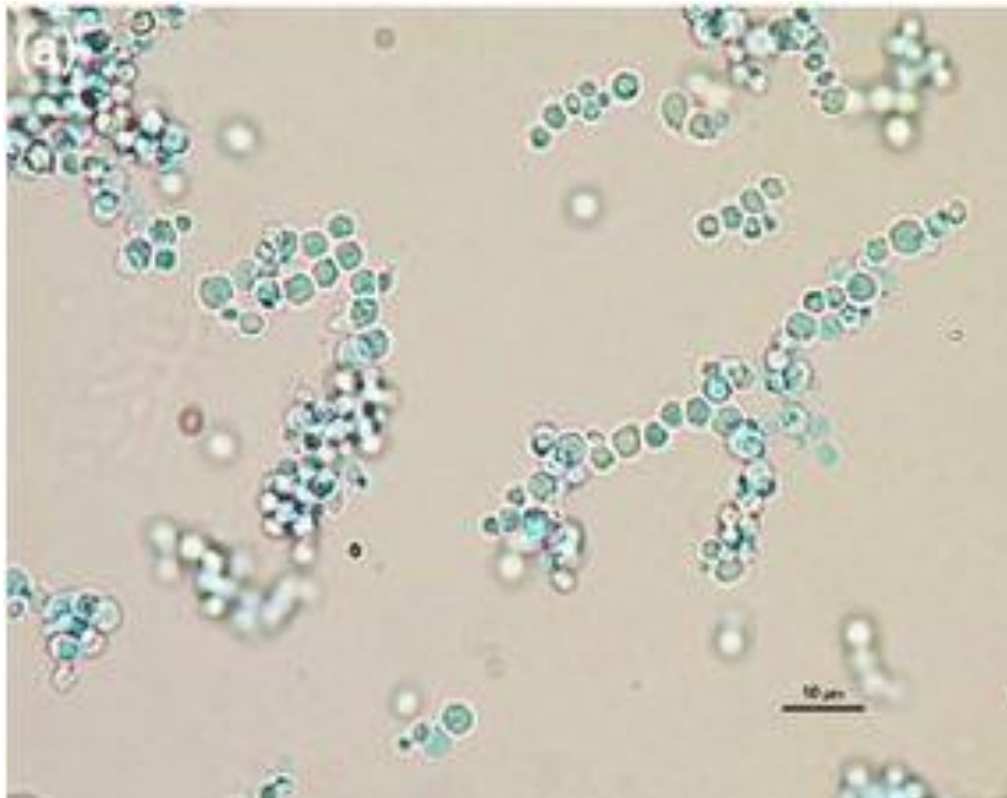
نمونه گیری

۱- تهیه اسمیر مستقیم با KOH





۲- کشت



آسپرژیلوزیس جلدی



تشخیص آزمایشگاهی آسپرژیلوزیس جلدی



نمونه گیری

۱- تهیه اسمیر مستقیم با KOH

۲- کشت

موکورمایکوزیس جلدی





Figure 1. Skin lesion on the lower left quadrant of

تشخیص آزمایشگاهی موکورمایکوزیس جلدی

نمونه گیری:

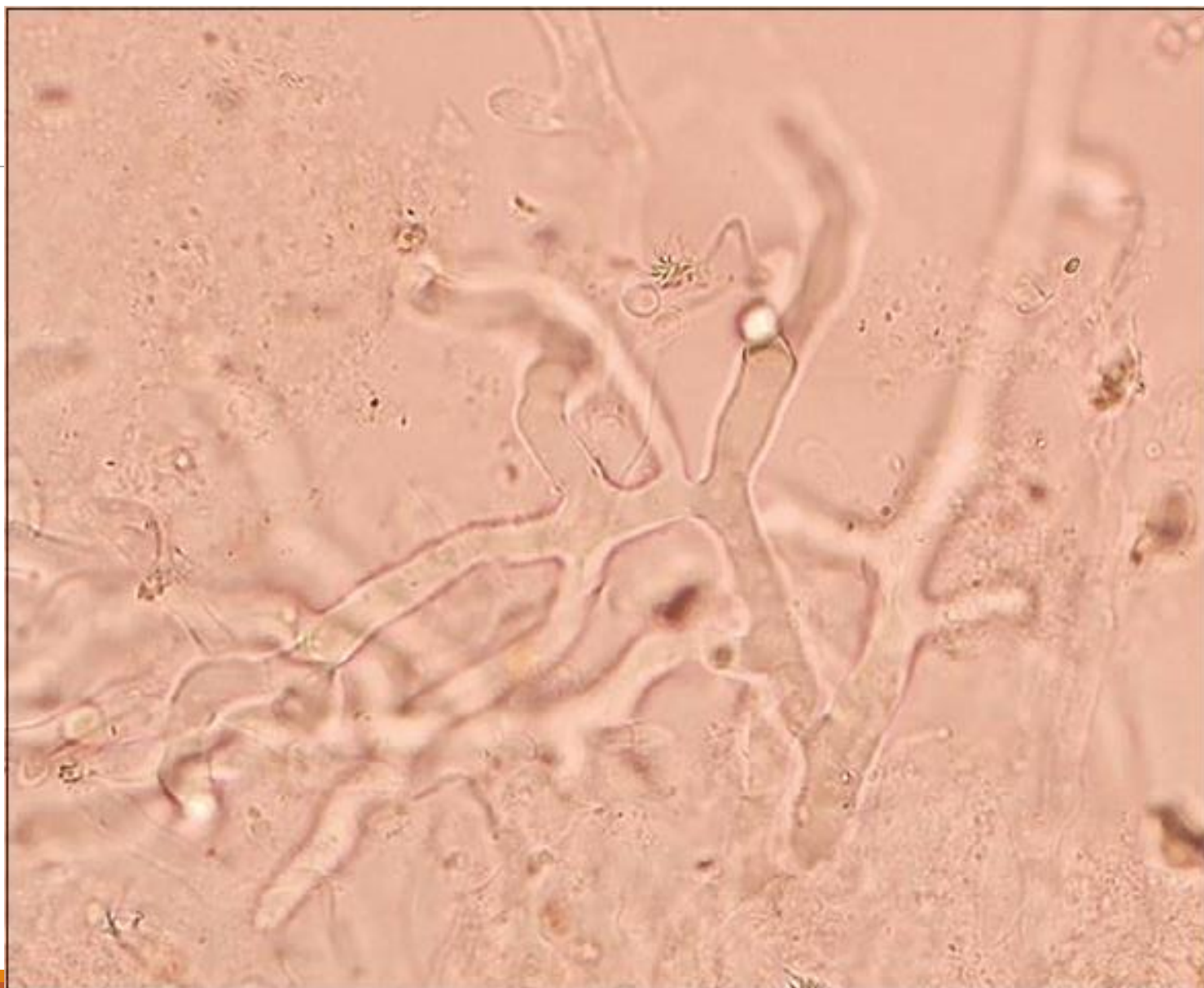
تراشیدن کناره ها و سطح ضایعه

اسمیر مستقیم با KOH:

هیف های بدون تیغه میانی، شفاف، به عرض ۵ میکرومتر و طول ۲۰ تا ۵۰ میکرومتر و

با انشعاب نامنظم

□ تهیه بیوپسی، انتقال به ظرف محتوی فرمالین، رنگ آمیزی H&E و PAS

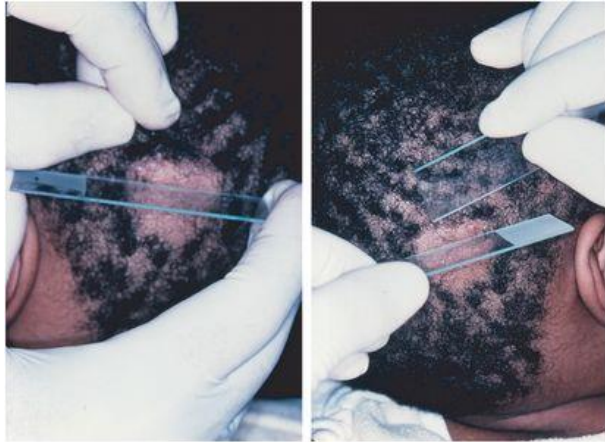


عفونت های قارچی مو

کچلی سر



تشخیص آزمایشگاهی کچلی سر:



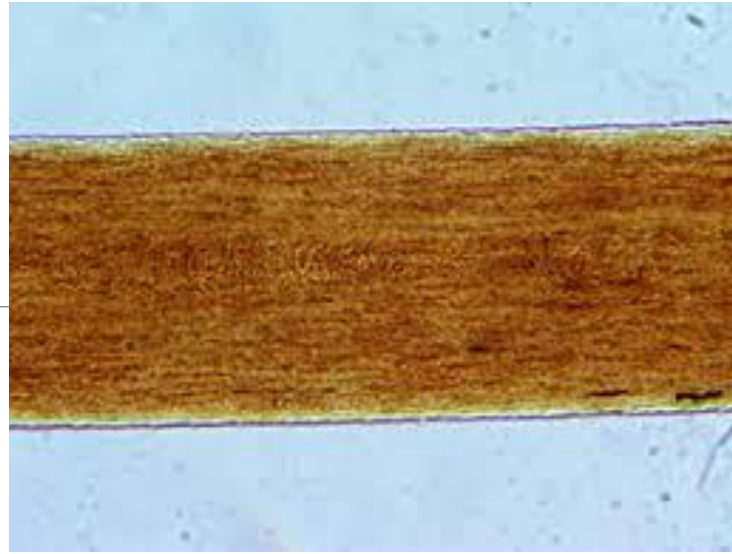
نمونه گیری

۱- موهای آلوده توسط موچین از پوست سر کنده شود

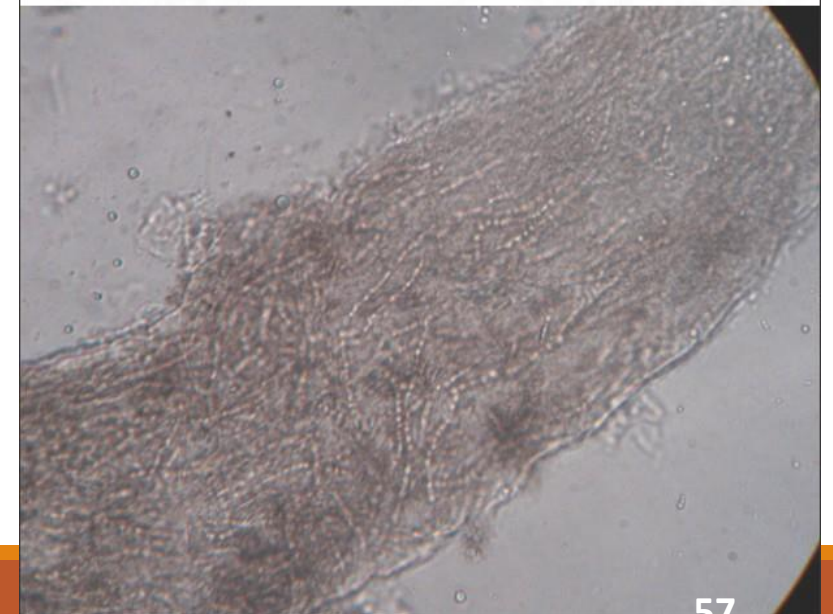
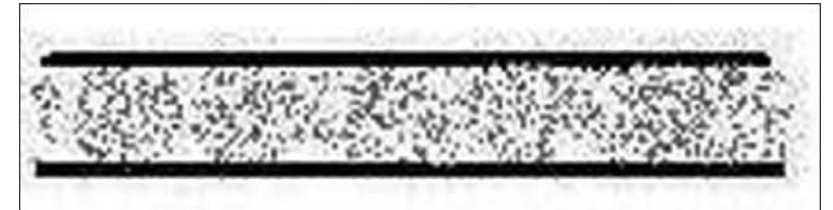
۲- پوست محل ضایعه توسط اسکالپل تراشیده شود

۳- تهیه اسمیر مستقیم با KOH از مو و پوست سر

۴- کشت مو و پوست سر روی محیط SCC



موی نرمال ←



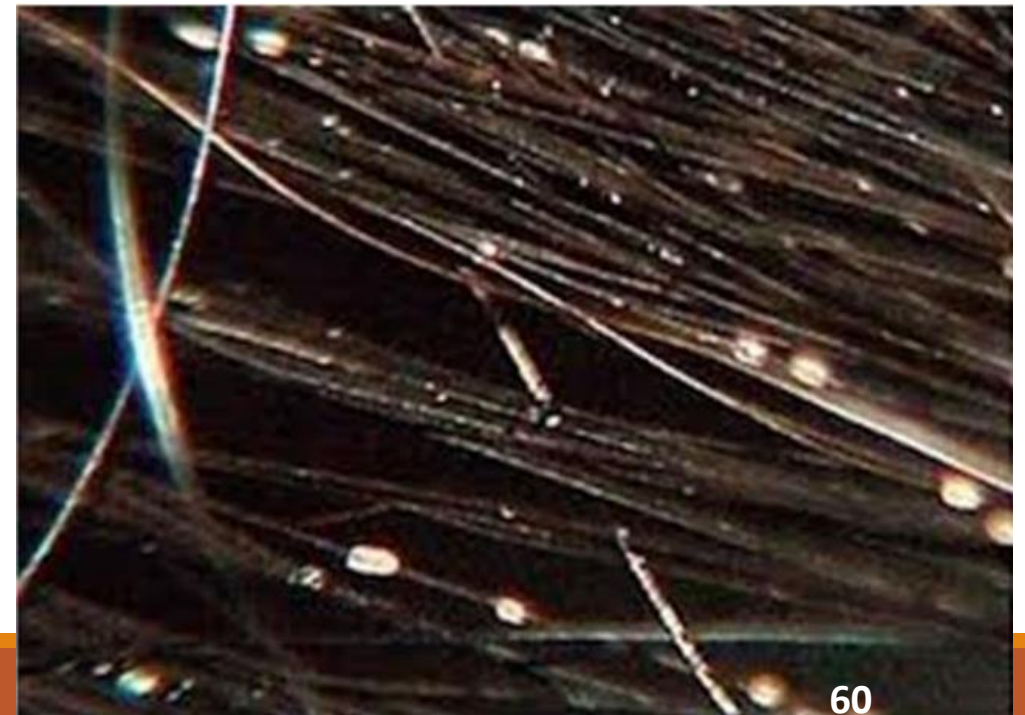
پیدرای سفید



تشخیص آزمایشگاهی پیدرا سفید

نمونه گیری:

چیدن مو با گره سفید اطراف مو ، گره یا ندول های نامنظم، نرم و سفید رنگ اطراف موها

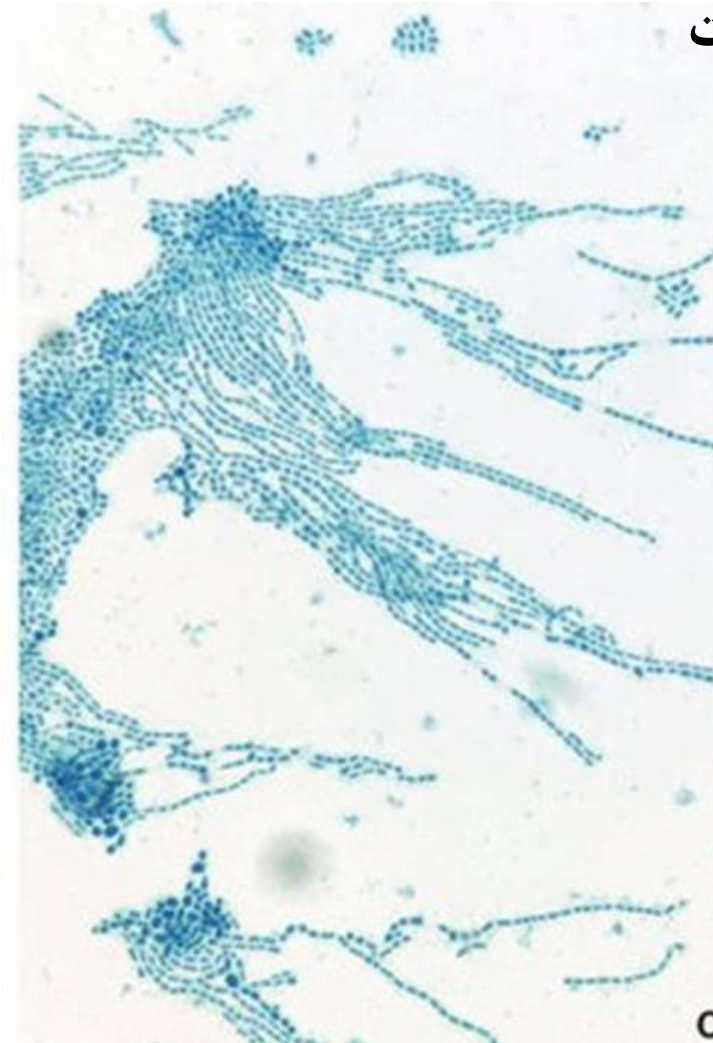
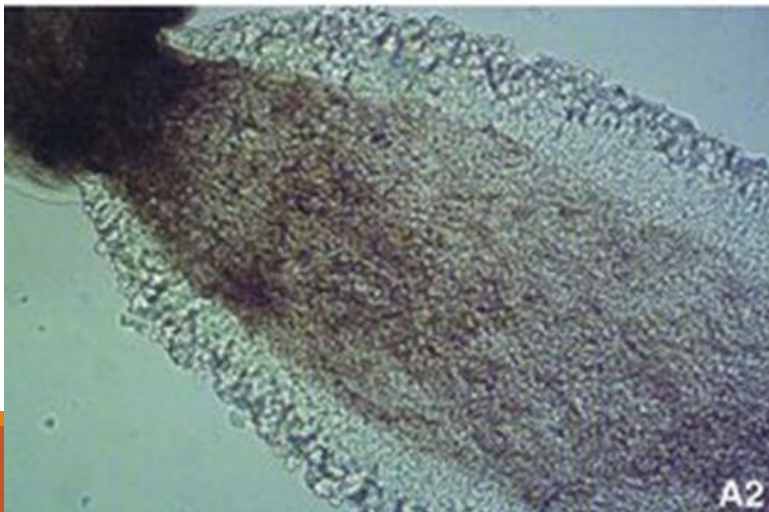
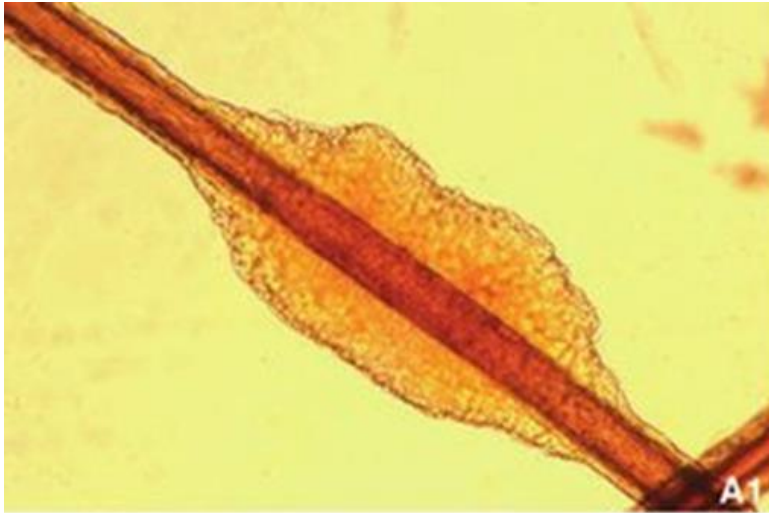


(A1) اسمیر مستقیم: (۴۰X) گره رنگ روشن متصل به شفت مو. (A2) (۱۰۰X) مخمرها را نشان می دهد که ساختار لبه

گره را تشکیل می دهند. (B) محیط کشت: کلنی مخمر مانند، با ظاهر رشته ای مغزی.

(C) شکل میکروسکوپی کشت: سلول های مخمر، هیف هایی با آرتروکونیدی های بیضی یا مستطیلی شکل که نمونه ای

از ترایکوسپورون است

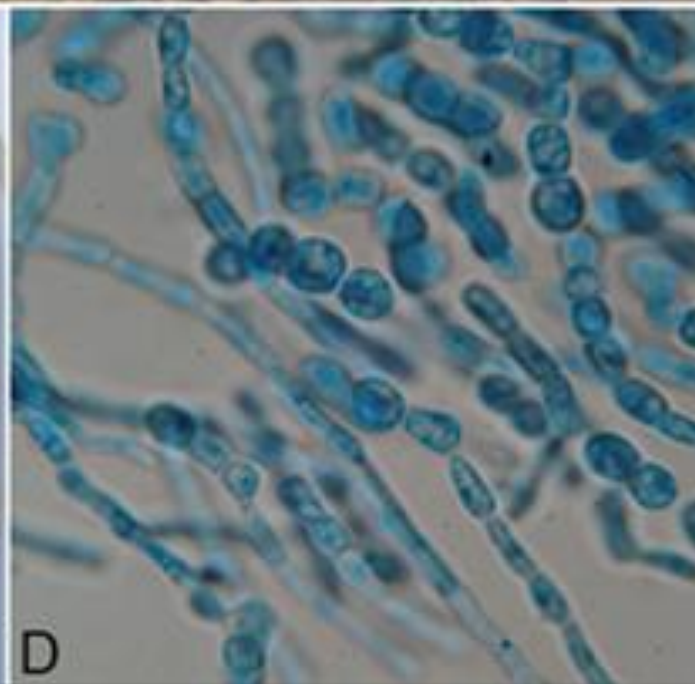
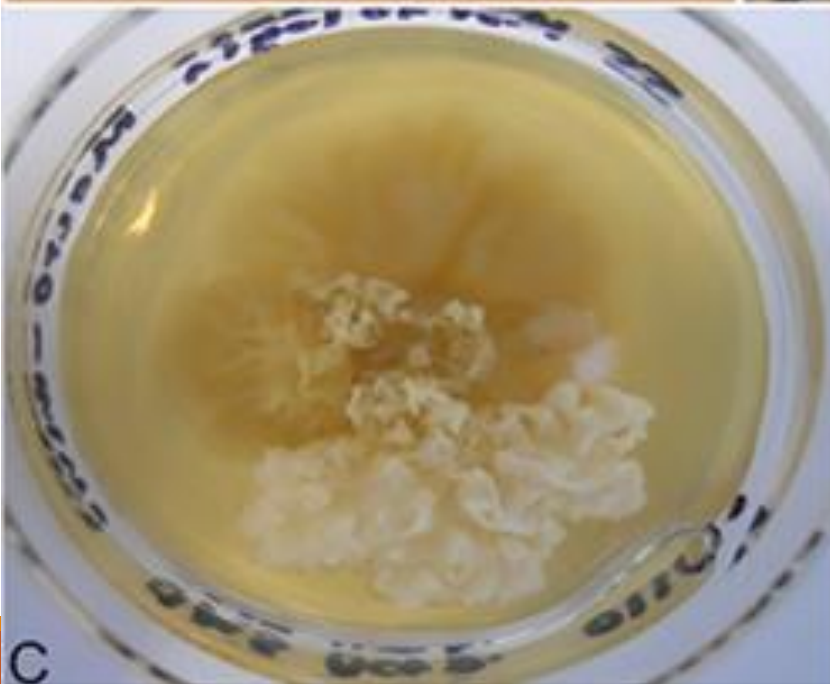
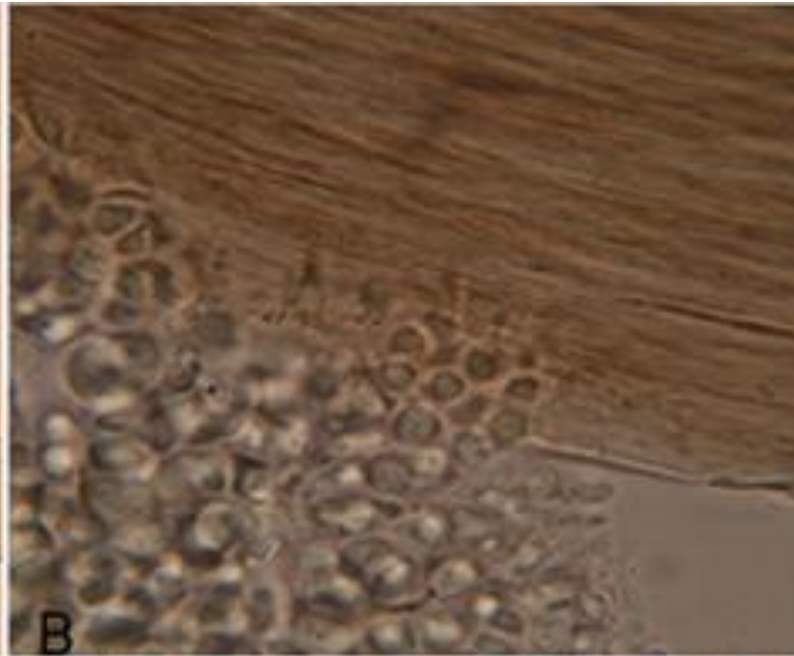
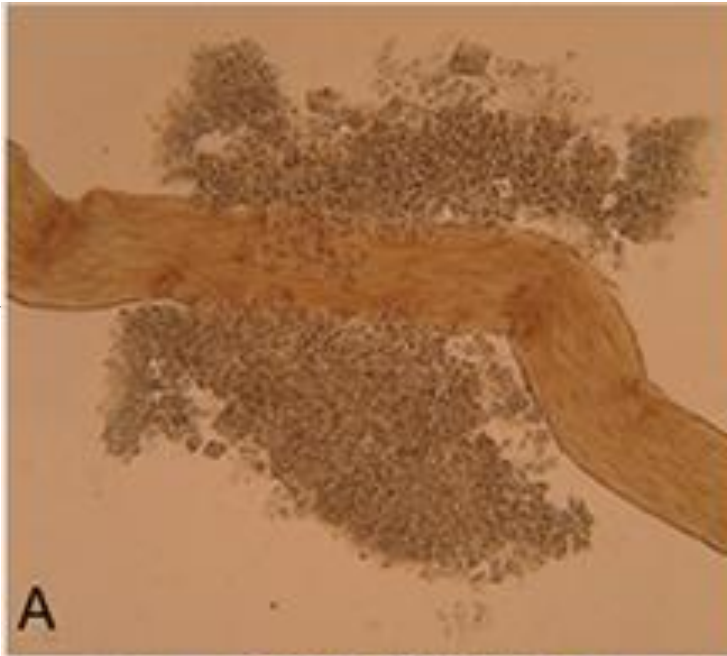


کشت:

میکروسکوپی کشت:

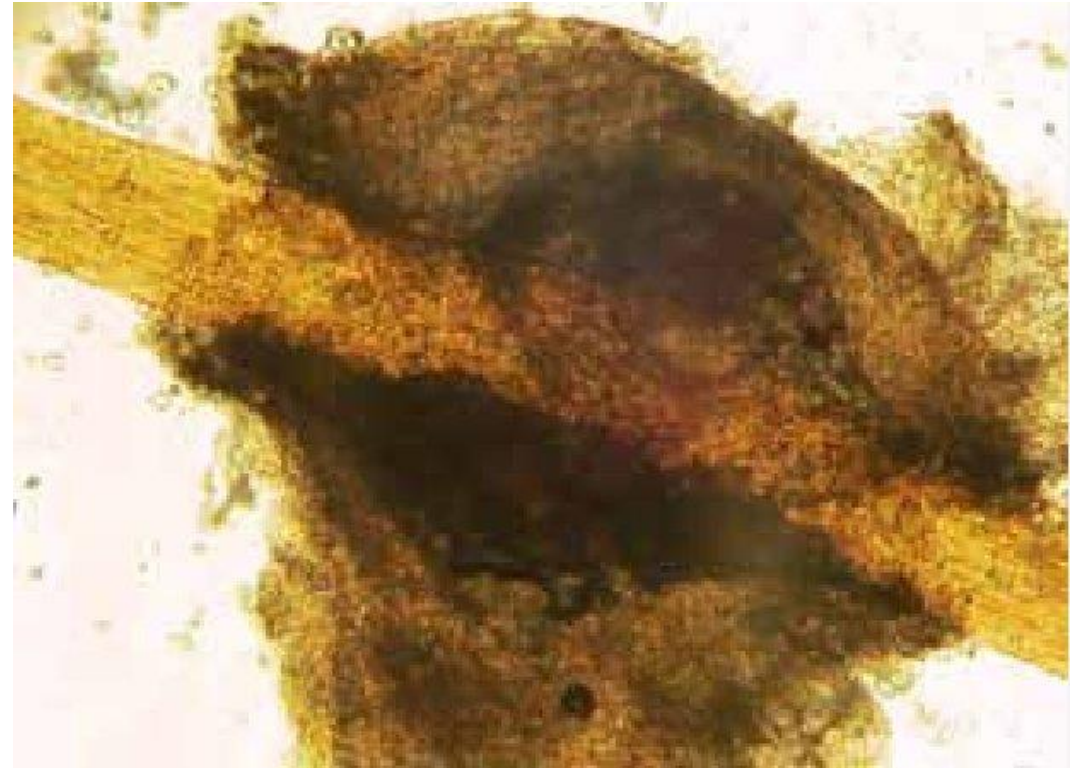
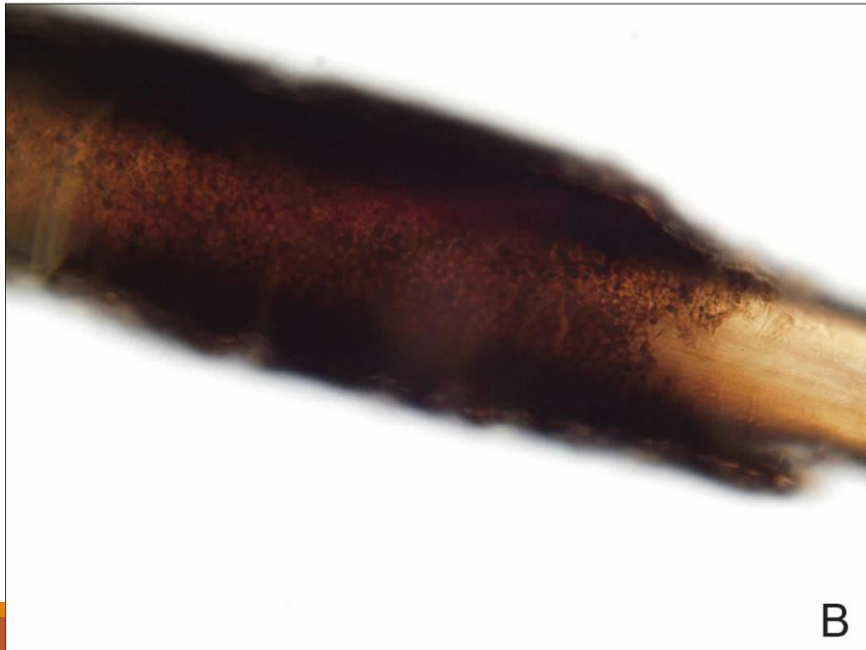
رنگ آمیزی با LPCB: سلول های مخمر، هیف هایی با آرتروکونیدی های بیضی یا مستطیلی شکل
(ترایکوسپورون بژلی)





پیدرای سیاه





تشخیص آزمایشگاهی پیدرای سیاه

نمونه گیری

❖ چیدن موهای آلوده با ندول های تیره رنگ که ممکن است به طور جزئی یا کامل ساقه مو را احاطه کنند

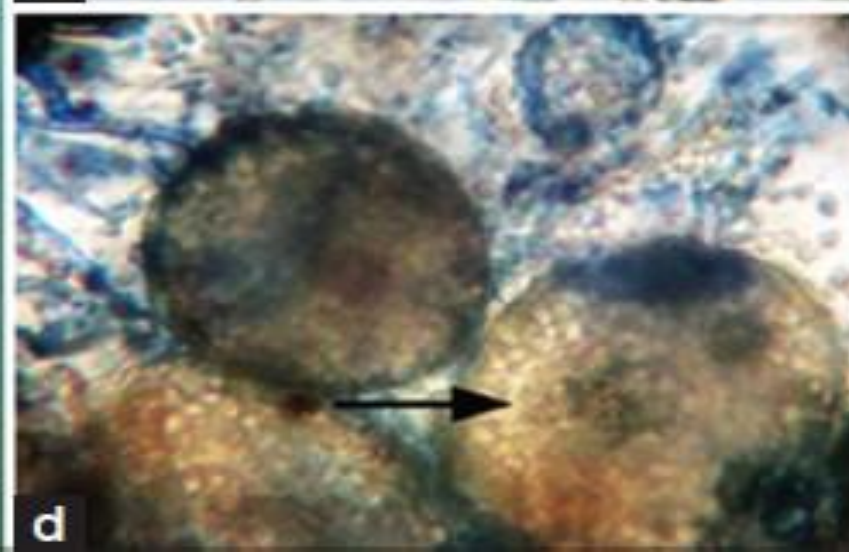
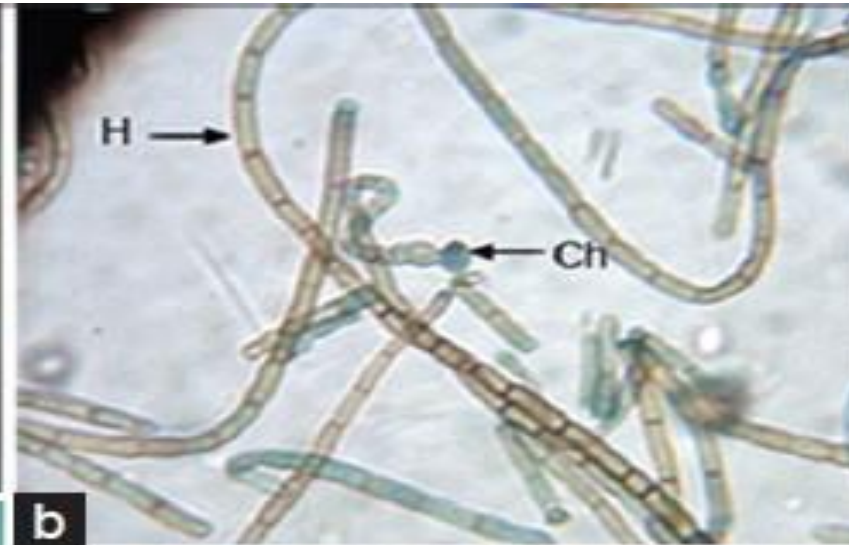
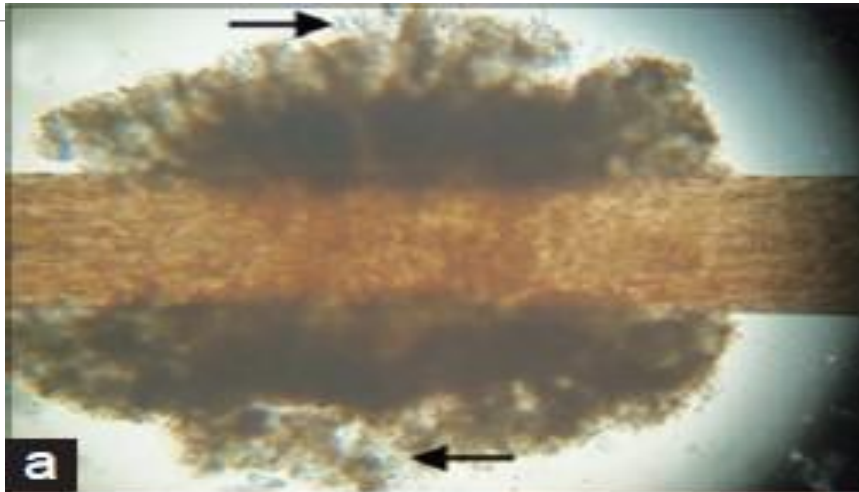
۱- تهیه اسمیر مستقیم با $KOH10\%$

(لام مستقیم، گره ها از توده رنگدانه با مرکز استروما مانند و هایف های تیره تشکیل شده اند)

۲- کشت

(موهای آلوده در محیط SC کشت شوند به مدت ۲ هفته)

- a. اسمیر مستقیم: گره تیره و سفت که توسط ماده سیمانی محکم اطراف ساقه مو قرار دارد.
- b. گره له شده: هیف های تیره با تیغه میانی. c. محیط کشت: کلنی فشرده و سیاه رنگ با سطح مخملی.
- d. شکل میکروسکوپی کشت: آسک های گرد، قهوه ای و همراه با آسکوسپور (پیدرا هورته ای)



عفونت های قارچی ناخن = اونیکوماایکوزیس

کچلی ناخن



تشخیص آزمایشگاهی کچلی ناخن

۱- ناخن آلوده توسط ناخن گیر چیده شود. بمدت ۱-۲ ساعت بستگی به ضخامت ناخن در محلول 20% KOH

۲- هیپرکراتوز زیرناخنی برداشته شود با کمک اسپاتول

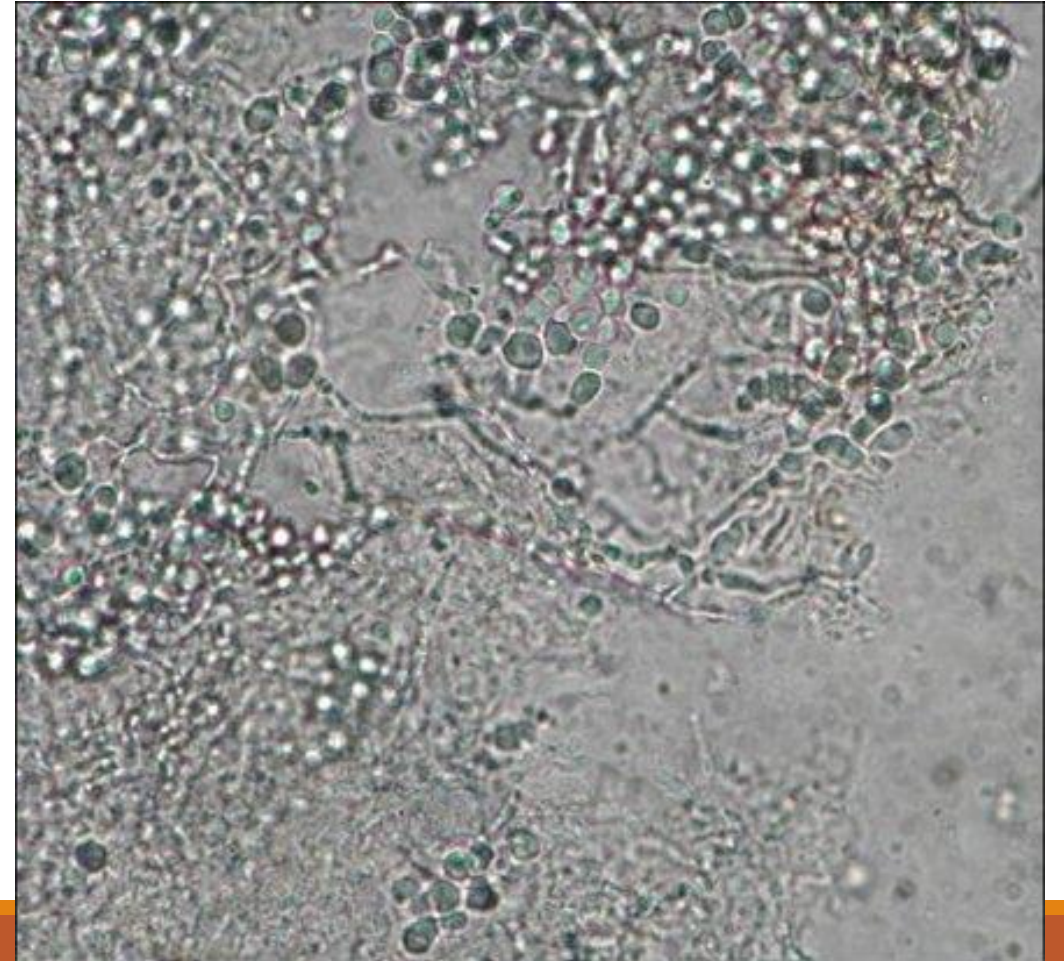
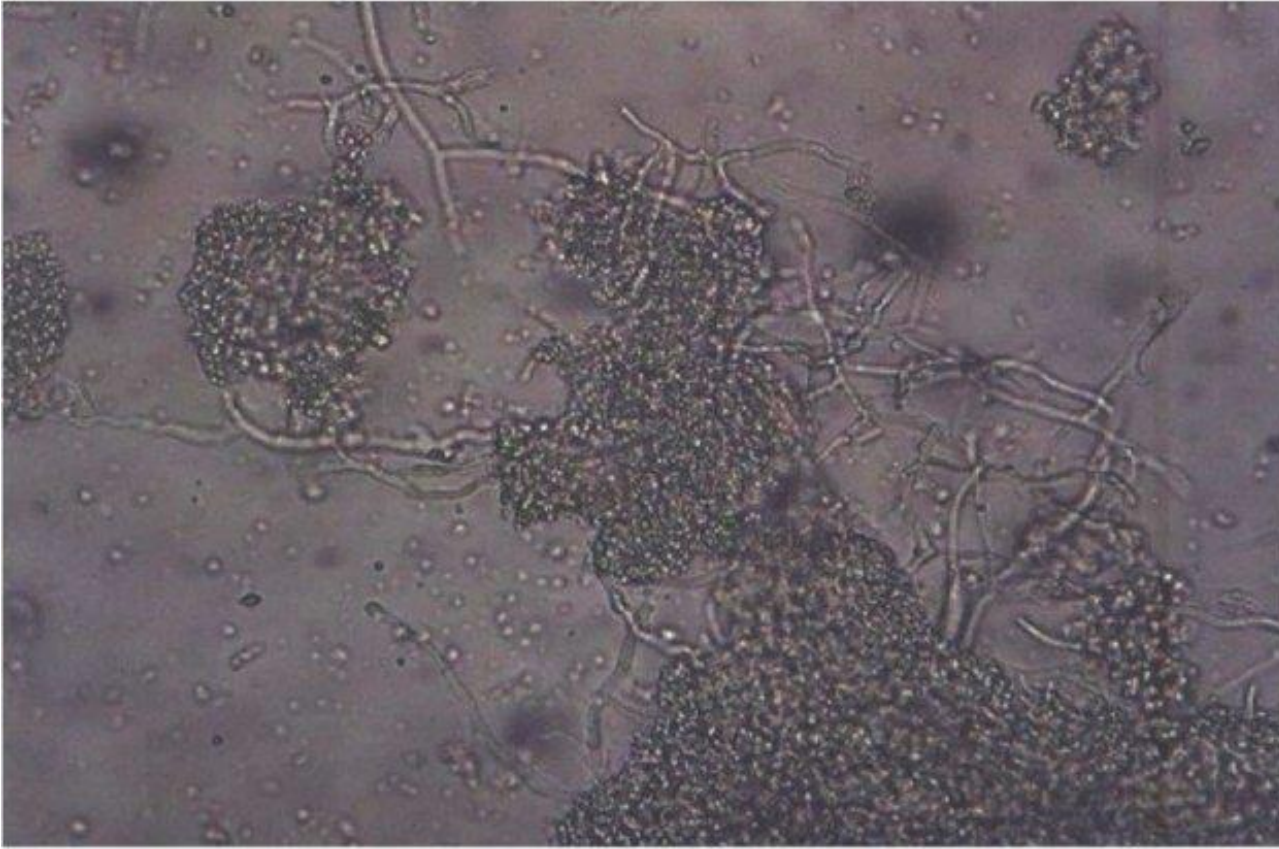
۳- تهیه اسمیر مستقیم با KOH از ناخن و هیپرکراتوز



اسپاتول



کچلی ناخن



۴- کشت ناخن روی محیط SCC

- 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



اونیکومايکوزیس ساپروفیتی





تشخیص آزمایشگاهی اونیکومایکوزیس ساپروفیتی

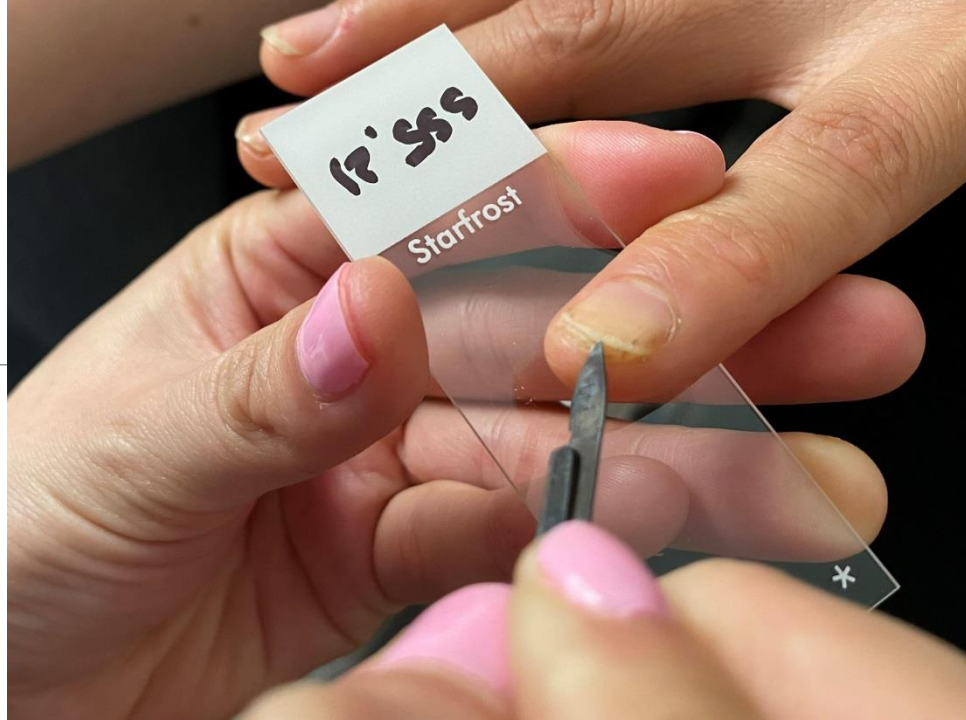
۱- نمونه گیری از ناخن مبتلا (چیدن ناخن با کمک ناخن گیر یا قیچی و تراشیدن بستر ناخن با کمک اسپاتول)

۲- تهیه اسمیر مستقیم با KOH از نمونه ها

۳- کشت نمونه ها روی **محیط SC** (محیط سابورو حاوی کلرامفنیکل)

بصورت نشاکاری به شکل حروف Z یا C یا X



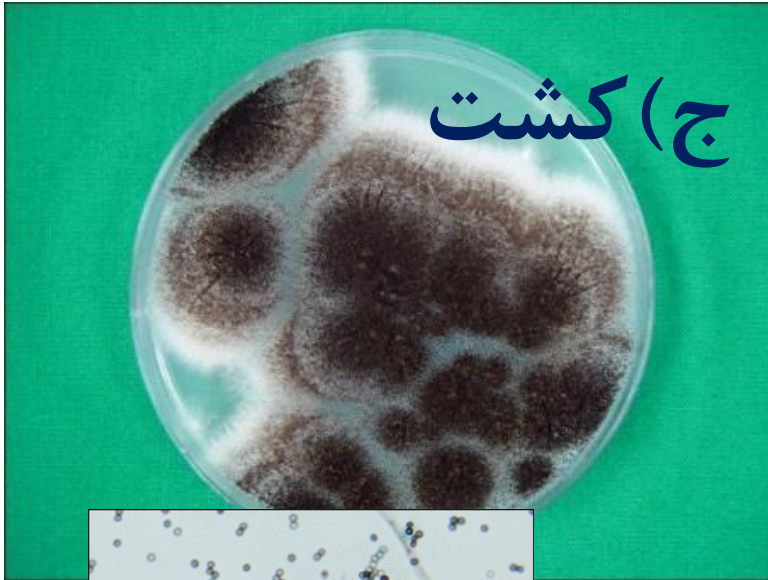


اونیکومایکوزیس بعلت آسپرژیلوس نیجر

الف

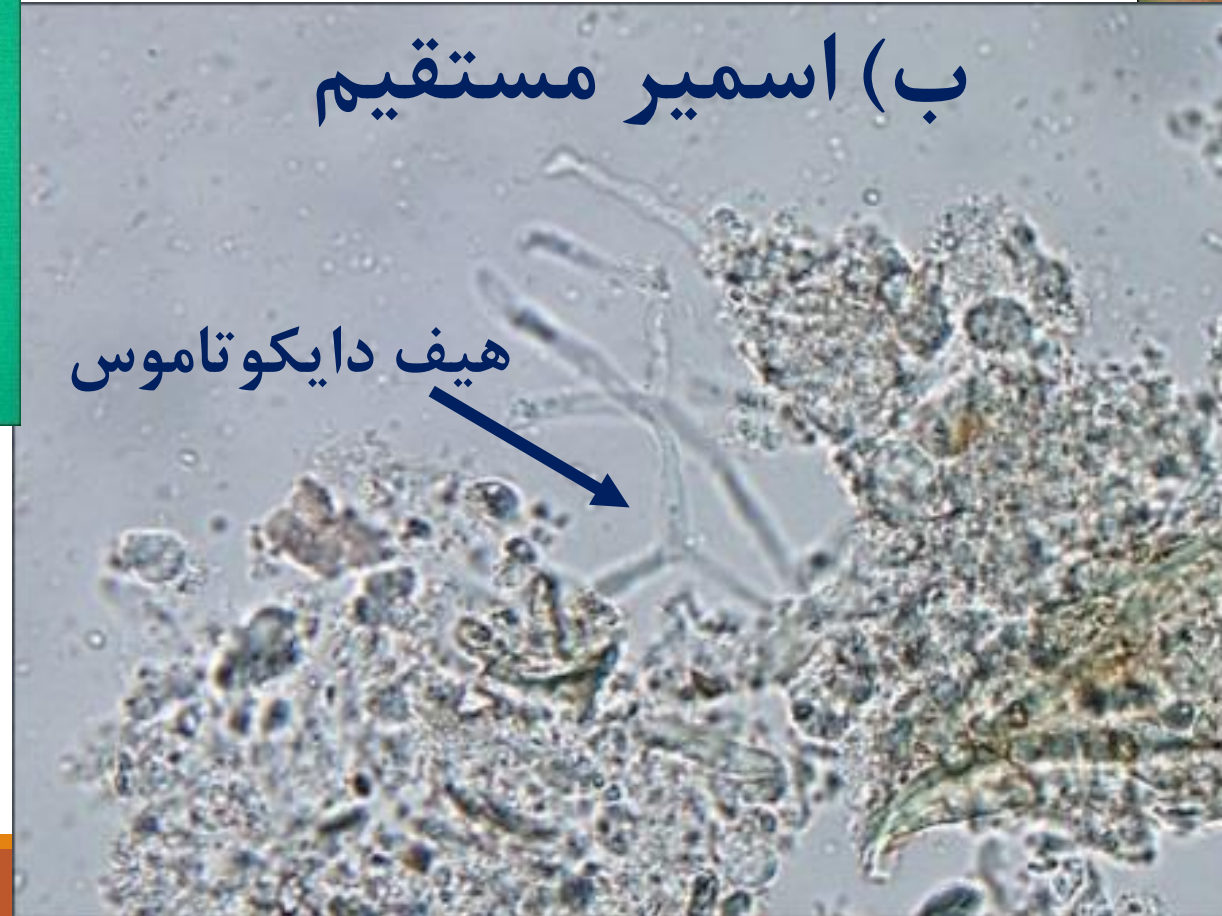


ج) کشت



ب) اسمیر مستقیم

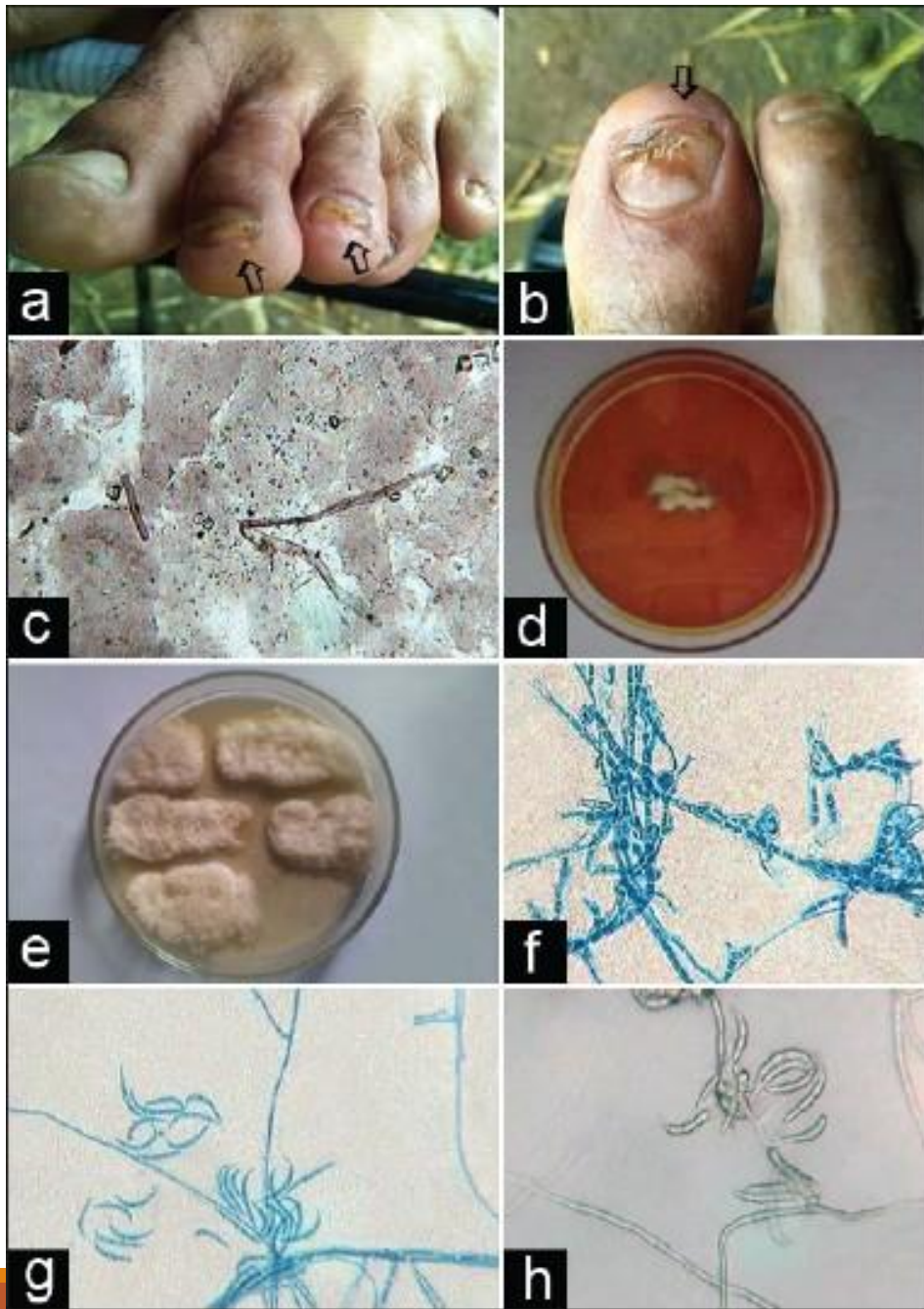
هیف دایکوتاموس



د) اسلاید کالچر



اونیکومایکوزیس بعلت فوزاریوم



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

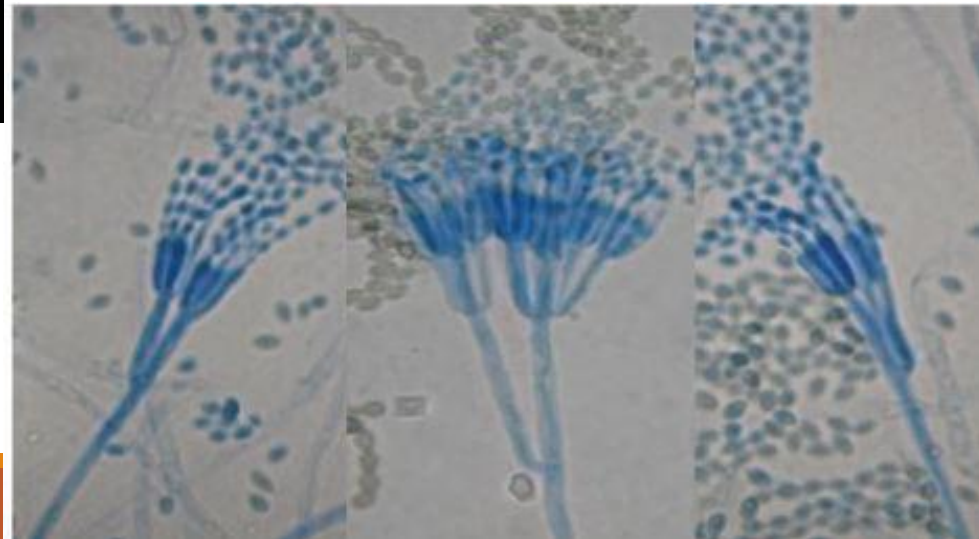
(c) هیف قارچی در اسمیر مستقیم KOH

(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



اونیکومایکوزیس بعلت/اسکوپولاریوپسیس

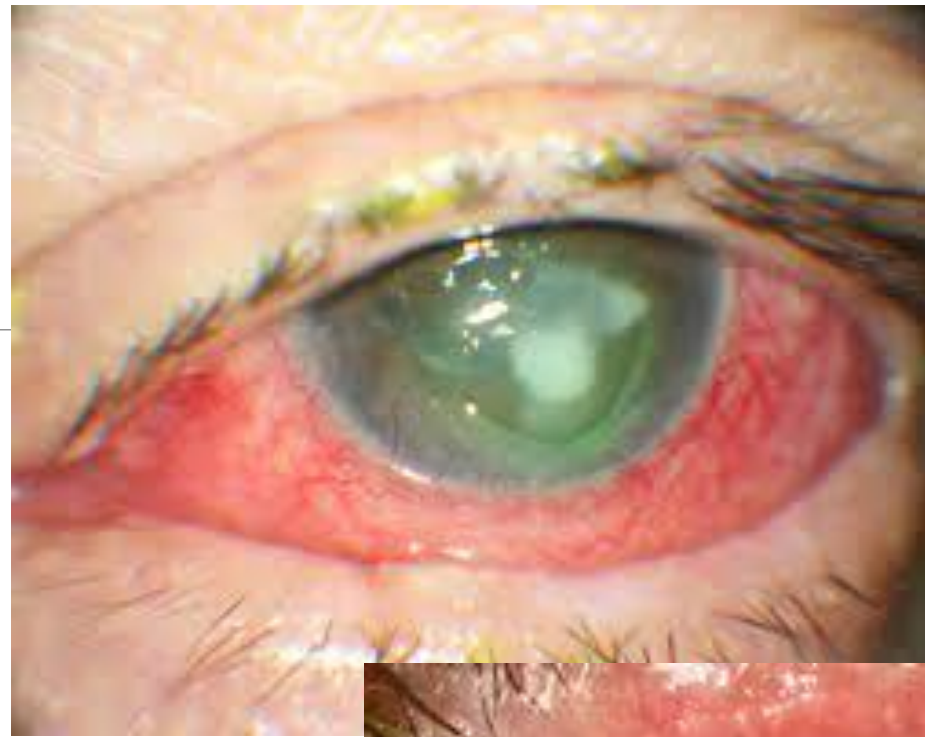
کلنی چروکیده Scopulariopsis سفید، کرم و خاکستری

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



عفونت قارچی چشم

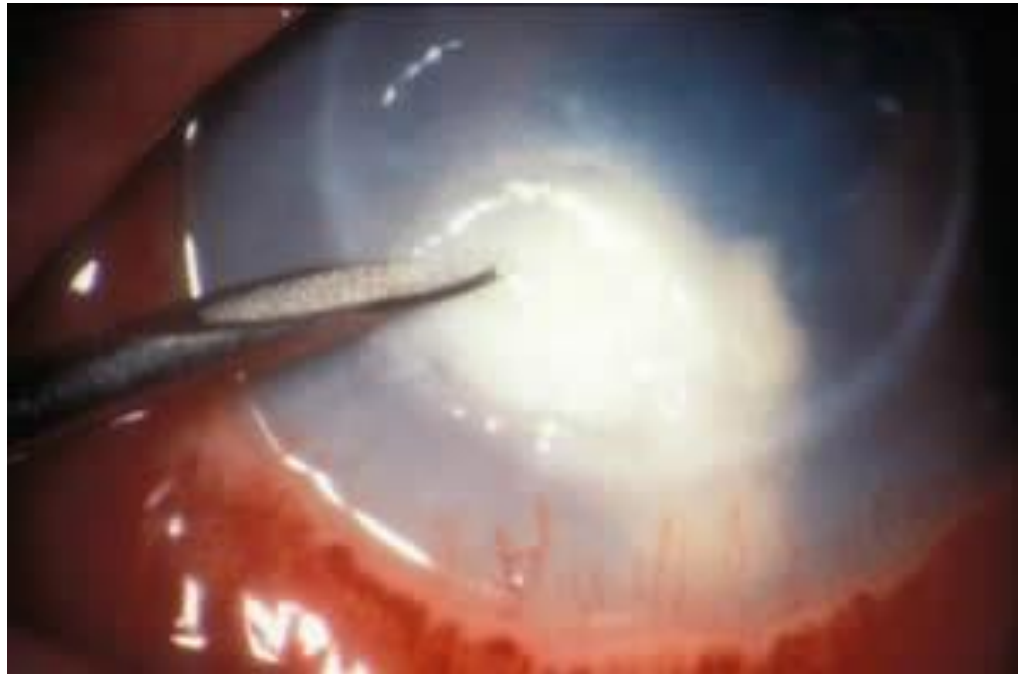
کراتیت قارچی



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 تا ۴ هفته نگهداری شده در صورت منفی شدن اتوکلاو شده و دور ریخته شوند

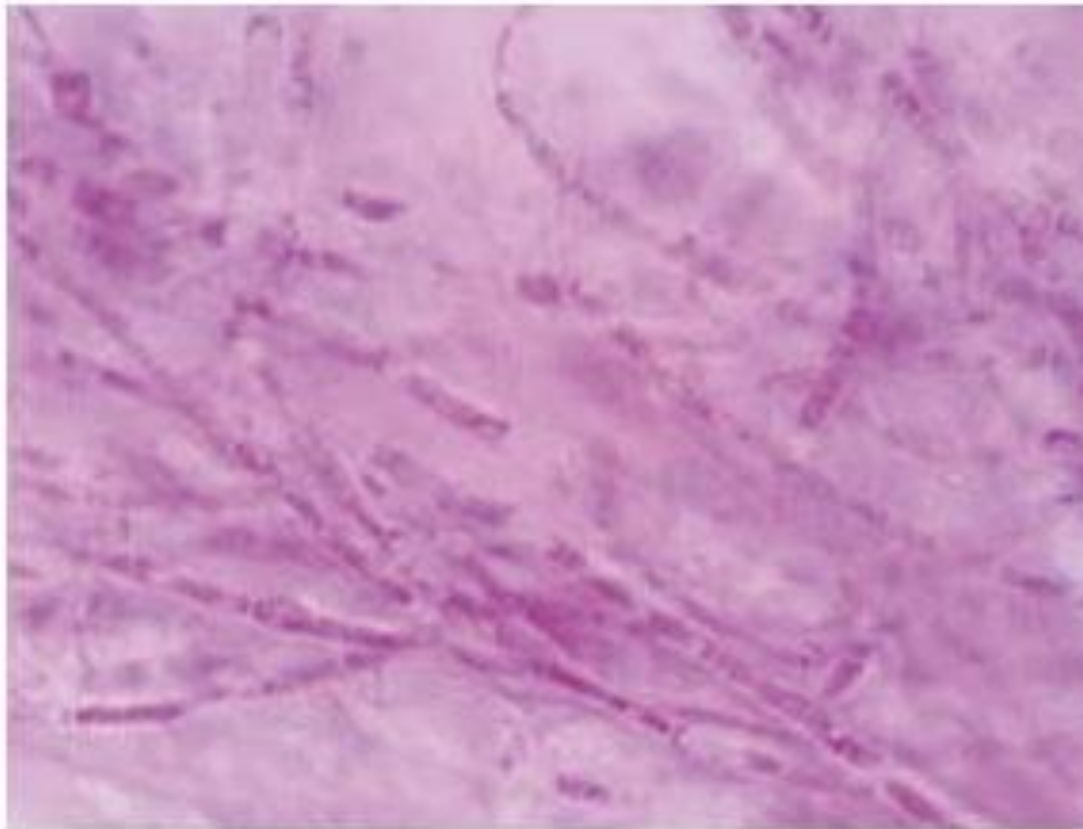


Figure 9. Fungal hyphae visible after Gram stain. Credit: Astrid Leck

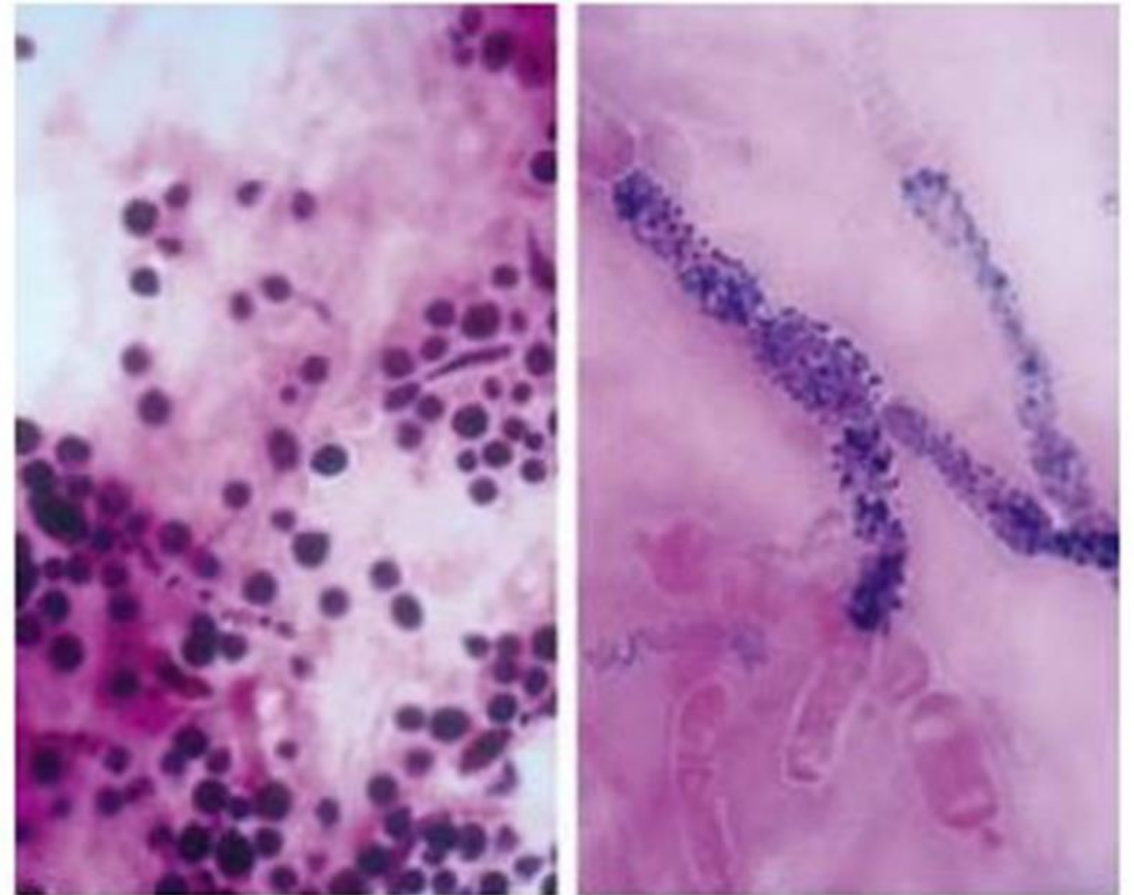


Figure 8. Gram appearance of yeast cells (left) and pseudohyphae (right). Credit: Astrid Leck

KOH mount

