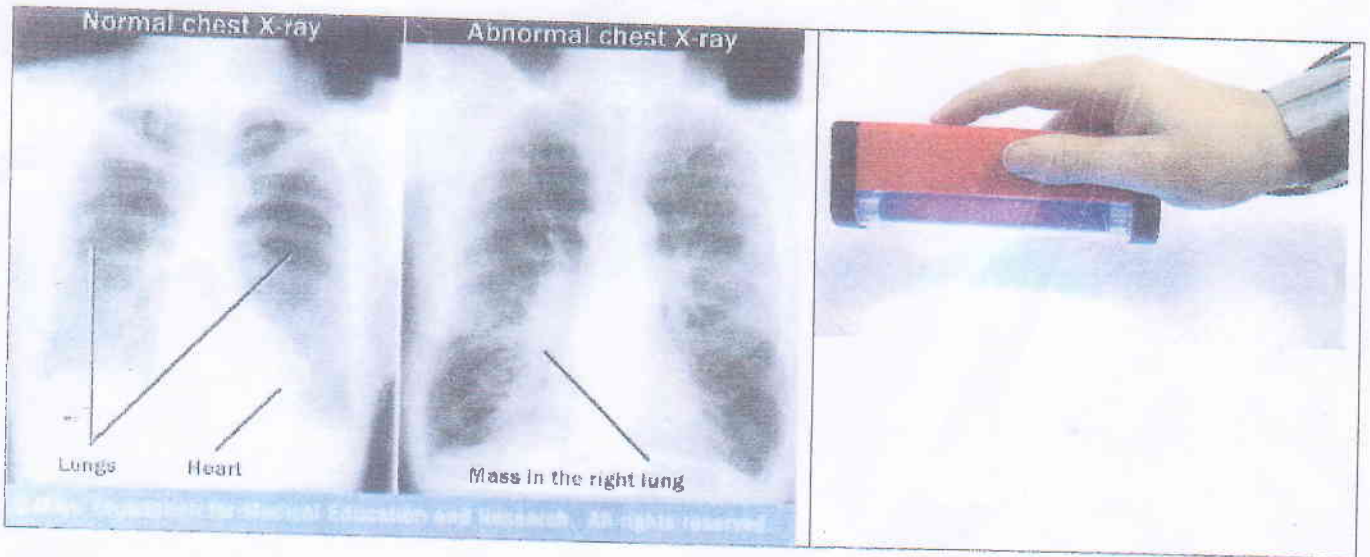


طرق تشخيص الفطريات والأمراض التي تسببها

1/ الفحص والاعراض السريرية

بالإمكان اعتبار الفحص السريري أحد أدلة التشخيص المعتمدة لتحديد نوع الحالة المرضية والكاثر المسبب للإصابة في بعض الحالات ونوع العينة الواجب أخذها والتحليل المطلوب إجرائها. وذلك يعتمد حسب الاعراض السريرية الواضحة لموقع الإصابة في الجسم نتيجة مشاهدتها بالعين المجردة أو العدسات اليدوية المكبرة مما يعطي دلالة أولية لنوع المرض الفطري ونوع العينة الواجب أخذها ونوع التحاليل المختبرية المطلوب إجرائها للتأكد من الإصابة والاستدلال على نوع الفطر الممرض المسبب للإصابة. مثل استخدام مصابيح الأشعة فوق البنفسجية Wood's lamp للكشف عن إصابة الشعر بالفطريات الجلدية.

ومع ذلك فإن هذا النوع من طرق التشخيص غير مجدي في حالة الإصابات الفطرية الجهازية ولذا يتم الاعتماد على نتائج الفحص المختبري بالإضافة الى امكانية استخدام اجهزة اخرى لتحديد موقع الإصابة وحجم الضرر الذي سببته كما في حالة الاستعانة بالتصوير الشعاعي بأشعة X في تشخيص الإصابات الفطرية التي تصيب الرئتين واستخدام جهاز الأيكو لتحديد وجود الاجسام الفطرية على صمامات القلب.



2/ الفحص المختبري Laboratory diagnosis

يجري الفحص المختبري للتحري عن الفطر الممرض وتأكيد الفحص السريري لنوع الإصابة الفطرية. وهذا يعتمد على نوع العينة الواجب فحصها وطريقة معاملتها وفحصها المباشر مجهريا لتأكيد وجود الفطر فيها ومن ثم زرعها على عدد من الاوساط الزرعية المعدة لهذا الغرض لغرض عزل الفطر الممرض لتأكيد تشخيص العامل المسبب للإصابة وهناك بعض الفطريات التي يصعب عزلها او التعرف اليها بهذه الطريقة لذا تستخدم طرق اخرى لتشخيصها مثل استخدام العادات الجاهزة لتشخيص بعض الفطريات المرضية وخصوصا الخمائر او استخدام

الاختبارات السيرولوجية او الفحص النسيجي لعينات مأخوذة من بعض الانسجة المصابة وهناك طريقة PCR للتحري عن دنا الفطر الممرض او استخدام بعض الحيوانات المختبرية مثل الفئران والارانب كادوات مختبرية لعزل وتشخيص بعض الفطريات الممرضة خصوصا في جانب الأبحاث المتعلقة بهذا الموضوع. عموما سيتم مناقشة جانب الفحص المختبري في هذه الدورة بتفصيل أكثر وكالاتي :

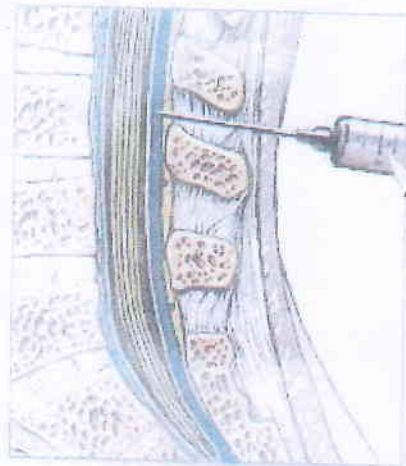
1/ جمع العينات المرضية Specimen Collection

وهذه تختلف في نوعها حسب نوع وموقع الإصابة الفطرية وكما موضح في الجدول ادناه ، نجد انه من الضروري الإشارة الى ان جمع هذه العينات يجب ان يكون في حاويات وانابيب مختبرية معقمة لنقلها سريعا الى المختبر قدر الامكان لمعالمتها وفحصها قبل تلوثها بالبكتيريا او فقدان الفطر الممرض فيها لفعاليتها مما يمنع او يصعب عملية تشخيصه.

| نوع العينة المرضية | الاصابة الفطرية |
|--|-----------------------------|
| قشطات الجلد والاطافر | الامراض الفطرية السطحية |
| قشطات الجلد والاطافر والشعر، مسحات الاذن والعين والاعشبية المخاطية | الامراض الفطرية الجلدية |
| قشطات الجلد ، خزعات الانسجة tissue Biopsy ، pus ^{الجزء المزاج} | الامراض الفطرية تحت الجلدية |
| الدم ، المصل، الادرار ، سائل النخاع الشوكي CSF ، نخاع العظم ، البلغم Sputum ، خزعات النسيج | الامراض الفطرية الجهازية |
| الدم ، المصل، سائل النخاع الشوكي CSF ، البلغم Sputum ، خزعات النسيج | الامراض الفطرية الانتهازية |

المعاملة الاولية لبعض العينات المرضية Processing of Specimen

سائل النخاع الشوكي CSF والذي يجب ان يكون بحدود 2 مل وهذا يوضع في جهاز الطرد المركزي ثم يؤخذ الرايب ويعمل منه مسحة تصبغ بالحرير الهندي وتفحص بالمجهر للتحرري عن فطر *Cryptococcus* اما الباقي فيزرع على وسطي السابرويد Sabouraud's dextrose agar المضاف له الكلورمفنيكول والجنناميسين ووسط Brain heart infusion agar (BHIA) المضاف له دم الخراف بنسبة 5% . اما الراشح فيستخدم لعمل اختبار التحري عن مستضدات هذا الفطر .



Lumbar puncture performed to obtain cerebrospinal fluid or CSF

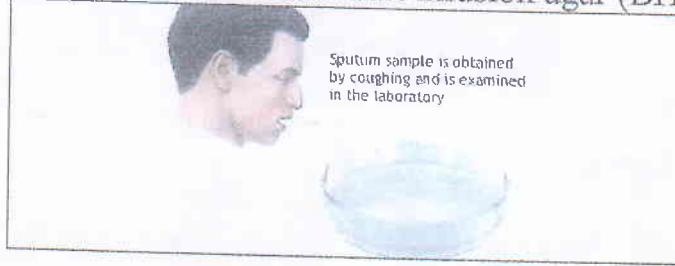


CSF



البغم Sputum

والذي يكون بحدود 2-5 مل تجمع في قناني معقمة عند النهوض صباحا لكون فترة ساعات النوم ليلا تزيد من فرصة تجمع الفطر في الرئتين مما يزيد من فرصة الكشف عنه ونلاحظ وجود او عدم وجود احتوائه على قطع خثرات دموية او انسجة متسلخة او خلايا التهابية ، ومنه نعمل مسحات رطبة بمادة KOH و مصبغة بصبغة كرام وايضا تزرع العينة على وسطي السابرويد Sabouraud's dextrose agar المضاف له الكلورمفينيكول والجنتاميسين ووسط Brain heart infusion agar (BHIA) المضاف له دم الخراف بنسبة 5% .

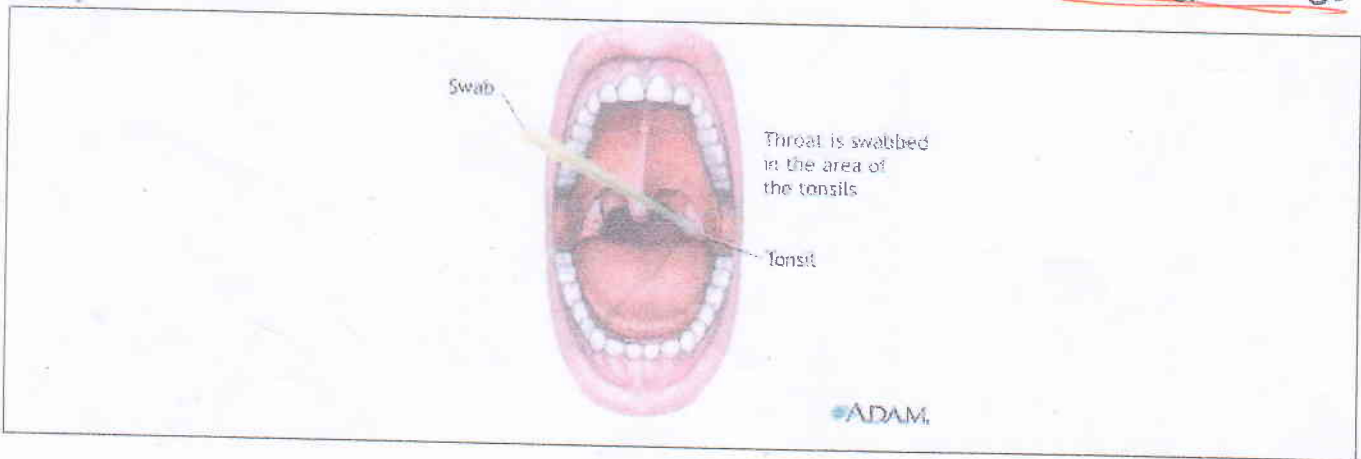


الادرار Urine

من المفضل ان تجمع في الصباح الباكر بعد تنظيف المنطقة بالكلور للحد من تلوثها بالفلورا الطبيعية المتواجدة في هذه المنطقة وبعد ان تطرد مركزيا لمدة 10 دقائق على سرعة 2000 دورة بالدقيقة يوخذ الراسب ويعمل منه مسحة رطبة باستخدام محلول KOH ومن الممكن استخدام صبغة كرام ايضا لهذا الغرض وتفحص بالمجهر وبنفس الوقت يتم زرع 0.1 مل من الراسب على وسط السابرويد Sabouraud's dextrose agar المضاف له الكلورمفينيكول والجنتاميسين من اجل عزل الفطر الممرض .

المسحات Swabs

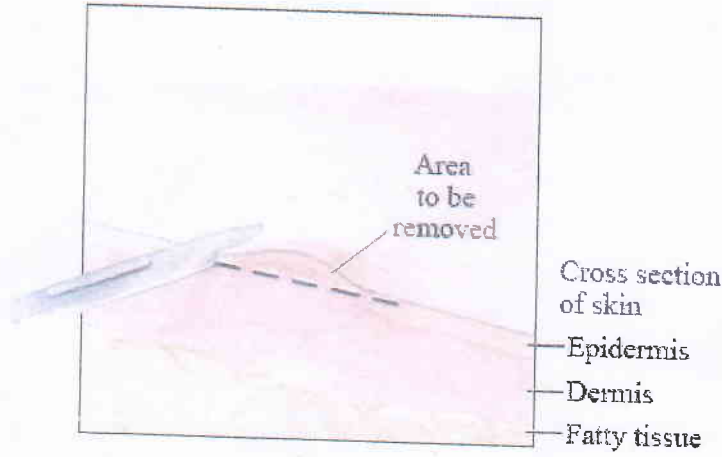
من الضروري ان تستخدم المسحات الرطبة وهذه تمرر فوق المنطقة المصابة ، واذا كان هناك شك بكون خميرة Candida هي المسبب المرضي فيجب استخدام الوسط الناقل او السلاين لحفظ هذه العينات لحين الوصول للمختبر لان هذه الخميرة حساسة للجفاف .



قشطات الجلد والاطافر والشعر Scraping of Skin , nail , hairs

طريقة اخذ العينة من المرضى المصابين بالفطريات الجلدية يكون باستخدام شفرة طبية معقمة و غير حادة لقشط الجلد في منطقة الاصابة مع ملاحظة انه يجب تنظيف المنطقة بالكلور لتعقيمها وبعد الانتظار لدقيقة يتم اخذ القشطة الجلدية من الحافة الخارجية للآفة lesion وهذه يعمل منها سلايد باستخدام محلول KOH ويفحص وايضا

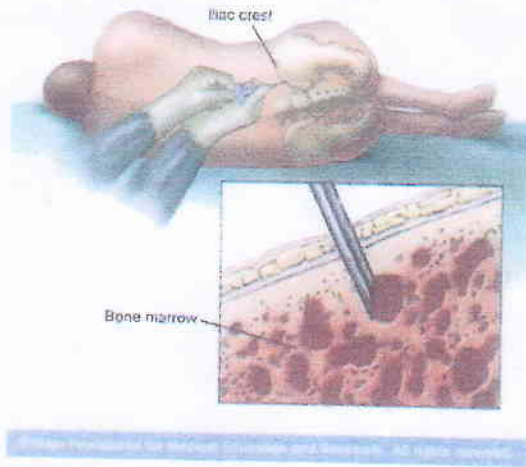
يزرع منها على وسطي السابرويد Sabouraud's dextrose agar المضاف له الكلورمفتيكول والجنتاميسين فقط (لكون خميرة الكانديدا حساسة للسايكلوهكسميد) ووسط السابرويد Sabouraud's dextrose agar المضاف له السايكلوهكسميد فقط . ونفس الشيء بالنسبة لقشطات الشعر والاطافر وهنا بالامكان استخدام الملقط المعقم او فرشاة شعر خاصة لهذا الغرض لجمع عينات الشعر ومقص الاظافر (المقراظة) لجمع عينات الاظافر.



طريقة اخذ عينة قشطة الجلد في الاصابات الفطرية الجلدية .

الدم ونخاع العظم Blood and Bone Marrow

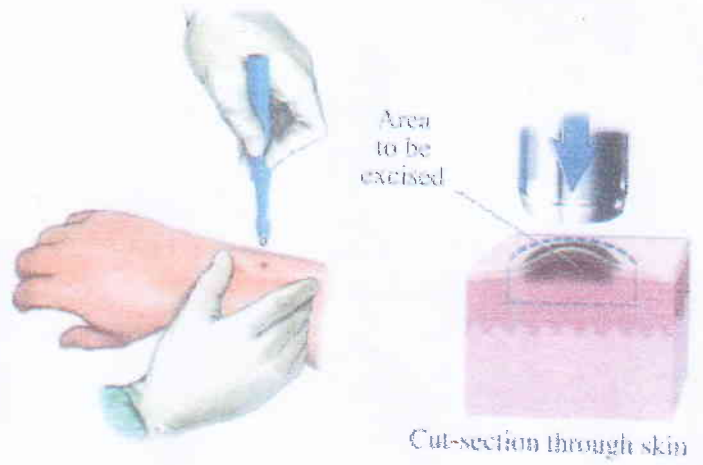
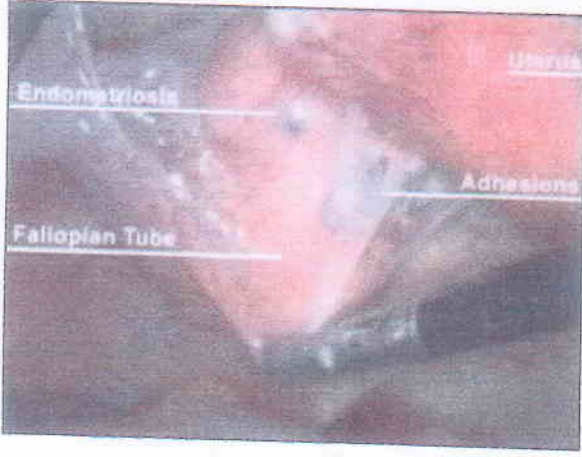
من المفضل ان يكون حجم عينة الدم بحدود 10-20 مل وهذه يعمل منها مسحات للفحص المباشر بالمجهر تصبغ بصبغة كيمزا وكرام وصبغة PAS والباقي يزرع بعد ان يتم تركيز العينة بوساطة الطرد المركزي لها او ترشيحها عبر غشاء قطر فتحاته 0.45 مايكرون بعد ان تعامل مع المحلول الحاوي على كاربونات الصوديوم و Triton-X لتحليل الخلايا الدموية ثم يتم الزرع باحدى الطريقتين الاولى يزرع على وسطي السابرويد Sabouraud's dextrose agar المضاف له الكلورمفتيكول والجنتاميسين ووسط Brain heart infusion agar (BHIA) المضاف له دم الخراف بنسبة 5% ، الطريقة الثانية هي استخدام الاوساط الزرعية ثنائية الطور Biphasic culture bottle الحاوية على وسط Brain heart infusion بشكليه السائل والصلب . ونفس الشيء بالنسبة لعينة نخاع العظم حيث انها تفحص تحت المجهر وتزرع .



14-16 Direct bone marrow preparation showing *Histoplasma capsulatum* stained with calcofluor white ($\times 2500$). The rod is usually small, 2 - 5 μ m. Marrow fluid containing yeast cells can be observed on this type of direct marrow preparation.

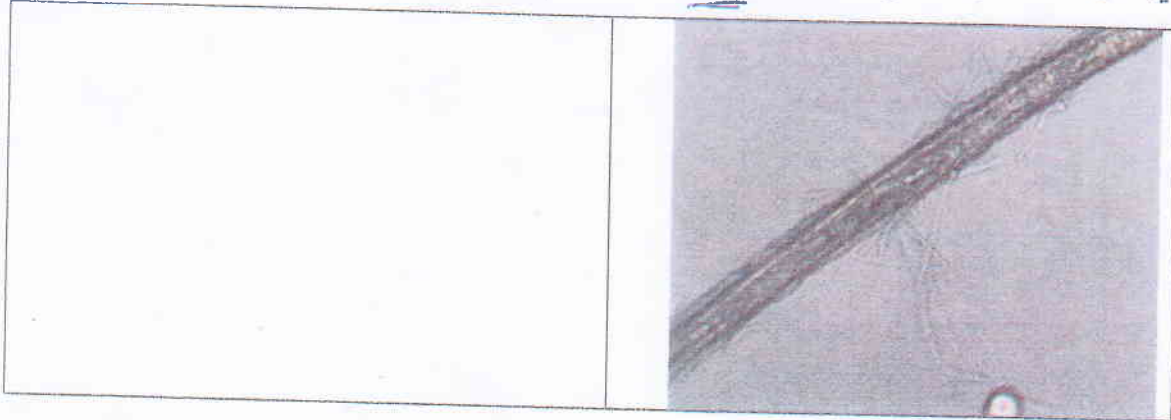
خزعات الانسجة tissue Biopsy

بعض الحالات المرضية تتطلب اخذ عينة من النسيج المصاب biopsy وصيغها للكشف عن وجود الفطر الممرض فيها مع مراعاة ان تكون العينة المأخوذة من النسيج حاوية على نسيج مصاب وسليم وهذه العينة يجب ان يحفظ جزء منها للتقطيع والفحص النسيجي والجزء الاخر منه يعمل من مسحات مصبغة للفحص المجهرى المباشر ويتفس الوقت يزرع منها على وسطي السابرويد Sabouraud's dextrose agar المضاف له الكلورمفينيكول والجنتاميسين ووسط Brain heart infusion agar (BHIA) المضاف له دم الخراف بنسبة 5% من اجل عزل الفطر الممرض .



③ الفحص المجهرى المباشر

معظم العينات المرضية التي تم جمعها تفحص تحت المجهر للكشف عن وجود الفطريات المرضية فيها والتي تختلف في نوعها حسب موقع الإصابة حيث أنها قد تمثل نسيج مصاب أو مسحة محضرة من سطح الجلد أو قد تكون المسحة محضرة من البلغم في حالات الإصابات الجهازية و الإصابات التنفسية أو محضرة من السوائل المهبلية في حالات إصابات الجهاز التناسلي الأنثوي وهذه العينات بأنواعها تفحص تحت المجهر من خلال تحضير مسحات رطبة أو مصبوغة منها باستخدام محلول KOH بتركيز 10-20% مع التسخين القليل من أجل اذابة وتحليل الخلايا والمواد الجسمية لتسهيل عملية الكشف عن الفطر المرض خصوصاً مع عينات الجلد والشعر والأظافر حيث يستدل عليه من خلال ملاحظة الخيوط الفطرية المقسمة والمنتظمة بعرض واحد كما في الأشكال أدناه التي تمثل مسحات رطبة مع محلول KOH لعينات من الجلد والأظافر والشعر المصابة بفطريات جلدية.





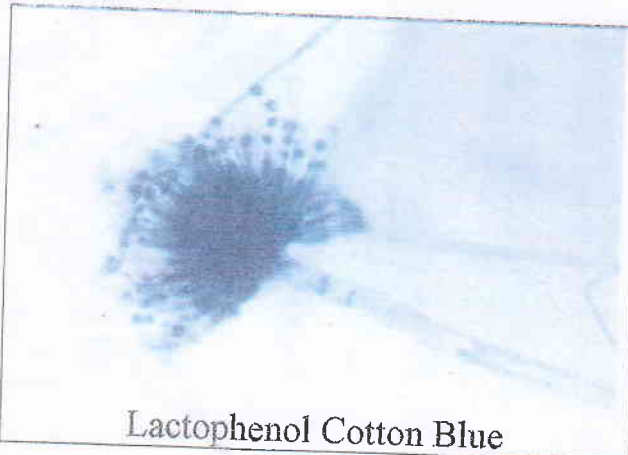
الخيوط الفطرية في صفيحة الاظفر، اصابة من نوع سعفة الاظفر .



بسعفة الجسم الخيوط الفطرية في جلد مصاب

وهناك عدد من الصبغات الخاصة بالفطريات والتي بالامكان استخدامها مثل صبغة Lactophenol Cotton Blue المستخدمة عند الفحص المجهرى للكشف عن الفطريات وصبغة Calcofluor White with 10% KOH التي تستخدم للفحص الدقيق عن الفطريات باستخدام المجهر الفلوريسيني . كما يمكن استخدام المسحات المصبغة بصبغة كيمزا للكشف عن فطر *H. capsulatum* او الحبر الهندي لعينة CSF للكشف عن فطر *Cryptococcus neoformans* ويمكن استخدام المسحات المصبغة بصبغة كرام للكشف عن الخمائر .

بعض الحالات تكون العينة الواجب فحصها هي مسحة محضرة من خزعة نسيجية والتي تعامل باحدى الصبغات الخاصة للكشف عن الفطريات ومن ثم تفحص ومن هذه الصبغات صبغة كومري ميثانامين الفضة GMS التي تصبغ الفطر بلون بني غامق الى اسود عند تواجده في النسيج المفحوص وصبغة حامض شف الحلقي PAS التي تصبغ الفطر بلون ارجواني عند تواجده في النسيج المفحوص .



Lactophenol Cotton Blue



Calcofluor White with 10% KOH

H. capsulatum