**به نام او**

# بیماری های قارچی دامپزشکی

**مولفان**


**دکتر مهدی رزاقی ابیانه**

استادیار پژوهش بخش قارچ شناسی انستیتو پاستور ایران

**دکتر معصومه شمس قهفرخی**

استادیار گروه قارچ شناسی دانشگاه تربیت مدرس



**برای دریافت سایر پکیج های آموزشی و آزمونهای تخصص دامپزشکی به ما پیام دهید**

**T.me/Nonhumanity - ۰۹۳۷۳۶۰۳۰۷۴**

# بیماری‌های قارچی دامپزشکی


مؤلفان

**دکتر مهدی رزاقی ابیانه (D.V.M,Ph.D.)**

استادیار پژوهش بخش قارچ‌شناسی

انستیتو پاستور ایران

**دکتر معصومه شمس قهفرخی (M.Sc.,Ph.D.)**

استادیار گروه قارچ‌شناسی

دانشگاه تربیت مدرس



انتشارات مؤسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی

تهران :۱۳۸۴

*درسنامه مورد تایید دانشگاه جامع علمی کاربردی*

رزاقی ابیانه، مهدی، ۱۳۴۸ -
بیماریهای قارچی دامپزشکی / مولفان مهدی رزاقی ابیانه، معصومه شمس قهفرخی .-- تهران: موسسه آموزش عالی علمی -کاربردی جهاد کشاورزی، ۱۳۸۴.
۲۴۸ ص.: مصور، جدول، -- (موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی ؛ ۴۶ گروه دامپزشکی ؛ ۱۵)
ISBN : 964-8748-17-9 ۲۵۰۰۰ ریال
فهرست نویسی بر اساس اطلاعات فیپا .
واژه نامه
۱. دامها -- قارچشناسی. ۲. دامها -- میکربشناسی. ۳. بیماریهای واگیردر حیوانات .
الف .شمس قهفرخی، معصومه، ۱۳۴۵
ب. موسسه آموزش عالی علمی کاربردی وزارت جهاد کشاورزی. ج. عنوان .
۹ ب۴ر/۷/SF۷۸۰ ۶۳۶/۰۸۹۶۹۰۴۱
کتابخانه ملی ایران ۸۴-۱۶۳۵۹م

**عنوان :** بیماریهای قارچی دامپزشکی
**مولفان:** دکتر مهدی رزاقی ابیانه ،دکتر معصومه شمس قهفرخی
**ناشر:** انتشارات مؤسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهادکشاورزی
تهران : صندوق پستی ۱۷۸۳-۱۳۱۴۵ تلفن: ۶۴۳۰۴۳۷
**ویراستارفنی :**دکتر مهدی هاشمی
**مشاور فنی :** شاهین میمندی‌نژاد
**ویراستارادبی:** اسکندر قربانی
**طراح جلد:** مهدی شمس قهفرخی
**چاپ و صحافی :** چاپ پنج رنگ
**نوبت چاپ :** اول
**تاریخ نشر :** ۱۳۸۴
**شمارگان :** ۱۵۰۰
**قیمت :** ۲۵۰۰۰ ریال
**شابک :**ISBN : 964-8748-17-9
**نظارت فنی :**شرکت تعاونی کارکنان مؤسسه آموزش عالی علمی کاربردی‌جهادکشاورزی

## پیش‌گفتار ناشر

کتاب و کتابخوانی یکی از معیارهای توسعه کشورها و جوامع به شمار می رود که هر ساله سازمان‌های جهانی همچون یونسکو و غیره به عنوان یکی از شاخص های ارزیابی میزان توسعه یافتگی به آن استناد می‌کنند. همچنین ، از این معیار برای ارزیابی نهادهای آموزشی و پژوهشی نیز استفاده می شود، یعنی میزان انتشار کتاب‌ها، نشریات و سایر منابع اطلاعاتی توسط هر سازمان و اعضای هیات علمی آن ملاکی جهت سنجش میزان توانمندی ها و دروندادشت های علمی آن به حساب می‌آید، حتی تولید منابع اطلاعاتی چنان اهمیتی دارد که مهم ترین شاخص ارزیابی و ارتقای کاری اعضای هیات علمی سازمان‌های پژوهشی و آموزشی محسوب می شود . نیاز موسسات آموزشی به خصوص موسسات آموزش علمی کاربردی شاید فراتر از مسائل فوق باشد زیرا علاوه بر نکات فوق ، آنها نیازمند متون آموزشی خاصی هستند که دانشجویان باید در فرآیند آموزش از آن استفاده کنند، متونی که به دلیل «کاربردی»بودن‌باید همگام با آموزش رسمی و کلاسیک ، ویژگی‌های خاصی نیزداشته باشد؛ زیرا آنچه که آموزش‌های علمی -کاربردی را از سایر آموزش‌ها متمایز می‌سازد، بیشتر محتوا و روش‌های آموزشی است که در متون آموزشی متجلی می‌شود.

موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی با توجه به اهمیت تولید و انتشار منابع اطلاعاتی به خصوص کتاب‌های آموزشی ، این مهم را در دستور کار خود قرار داده است . امید است با همکاری مدرسان و اعضای هیات علمی دانشگاه‌ها و موسسات علمی و پژوهشی کشور ، مجموعه افزایش کمی و کیفی بیشتری یابد .

در پایان ، از تمام همکاران و اساتیدی که در تولید این منابع سهم شایان توجهی داشته اند تشکر و سپاسگزاری می شود. قطعا انتشار این مجموعه در این حجم نمی تواند عاری از هر گونه عیب و نقص

باشد . با این توصیف ،پیشاپیش از تمام کسانی که با ارسال انتقادات و پیشنهادات خود ما را در بهبود کیفی این مجموعه یاری می رسانند نیز صمیمانه قدردانی می‌شود . بدون تردید هدایت‌ها و حمایت‌های بی دریغ و ارزشمند مسئولان آموزش و تحقیقات در سطح وزارت جهاد کشاورزی و اعضای محترم هیات امنای موسسه آموزش عالی علمی کاربردی و به ویژه مدیران عالی سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی ، در شکل‌گیری و تداوم تألیف و چاپ بیش از ۱۰۰ عنوان کتاب مربوط به دروس دوره‌های علمی کاربردی در بخش کشاورزی ، نقش اصلی و کلیدی داشته است و امید می‌رود نظارت عالیه این بزرگواران تضمین کننده کیفیت کار ما باشد.

**غلامرضا کریمی نژاد**
**مدیر مسئول**
**انتشارات موسسه آموزش عالی**
**علمی کاربردی جهاد کشاورزی**

## دیباچه

بسیار خوشحالم که به دنبال تالیف کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به عنوان اولین مرجع فراگیر فارسی در زمینهٔ علوم پایهٔ قارچ‌شناسی، تلاش همکاران خوب و پرتلاشم، آقای دکتر مهدی رزاقی ابیانه و خانم دکتر معصومه شمس قهفرخی در تدوین کتاب بیماری‌های قارچی دامپزشکی به بار نشسته است و به علاقمندان علم میکروبیولوژی تقدیم می‌شود.این کتاب، که در شش فصل و با قلمی شیوا و دقت شایان توجه تهیه شده است، حاوی مطالب بسیار ارزنده و جدید در زمینه بیماری‌های قارچی حیوانات و انسان و روش‌های کنترل بیماری‌های مشترک انسان و دام و حفظ بهداشت و سلامت جامعه می‌باشد.

در کتابی که پیش رو دارید، جنبه‌های گوناگونی از بیماری‌های قارچی و اکتینومیستی، اصول نمونه‌برداری و تشخیص آزمایشگاهی این قبیل عفونت‌ها و روش‌های متفاوت کشت و نگهداری قارچ‌ها و آنچه را که در تحقیقات قارچ‌شناسی بالینی به آن نیاز است، مورد توجه قرارگرفته است و می‌توان از آن در حکم یک کتاب جامع بیماری‌های قارچی، استفاده کرد. توجه مؤلفان به یافته‌های جدید، از امتیازهای دیگر این اثر است. مطالعهٔ این کتاب را به دانشجویان عزیز رشته‌های گوناگون علوم پزشکی، دامپزشکی، علوم زیستی، علوم آزمایشگاهی و بویژه قارچ‌شناسی و همه علاقمندان به علم میکروبیولوژی توصیه می‌کنم و امیدوارم که در توسعه و پیشرفت علمی و ارتقای کیفیت خدمات آزمایشگاهی و درمانی مفید باشد.

برای مؤلفان محترم در راه شکوفایی علم و خدمت به جامعه، از خداوند متعال توفیق بیشتر مسئلت دارم.

**دکتر محمد تقی خانی**
**رئیس انستیتو پاستور ایران**

قابلیت بیماری‌زایی قارچ‌های فرصت‌طلب در میزبان‌های مبتلا به نقایص سیستم ایمنی،توجه محققان علم میکروبیولوژی را به مطالعات گسترده بر روی قارچ‌های رشته‌ای و مخمّرهای بیماری‌زا معطوف ساخته است.

در همین زمینه و به دنبال تالیف کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی در حکم یکی از جامع‌ترین مرجع‌ها در زمینهٔ علوم پایه قارچ‌شناسی، ضرورت تالیف کتابی دیگر برای آشنایی هرچه بیشتر محققان، دانش‌پژوهان و دانشجویان گرامی با بیماری‌های قارچی و روش‌های تشخیص،پیشگیری و درمان این‌گونه بیماری‌ها بیش از هر زمان دیگر احساس‌گردید. این بار نیز توفیق الهی رفیق راه گردید و حرکت قلم بر کاغذ، به تالیف کتاب بیماری‌های قارچی دامپزشکی، انجامید.این کتاب در ۶ فصل تهیه و تدوین گردیده است که دربرگیرندهٔ اطلاعات مربوط به جنبه‌های مختلف بیماری‌های قارچی و اکتینومیستی، اصول نمونه‌برداری و تشخیص آزمایشگاهی این بیماری‌ها و محیط‌های کشت ،معرف‌ها و روش‌های نگهداری قارچ‌ها در آزمایشگاه است. نظر به اهمیت تصاویر رنگی در فهم مطالب ارائه شده یک بخش جداگانه تحت عنوان «تصاویر ضمیمه» در انتهای کتاب نیز به نمایش تصاویر رنگی کتاب اختصاص یافته‌است.

با توجه به گستردگی و تنوع مطالب ارائه شده، دانش‌پژوهان و دانشجویان رشته‌های گوناگون دامپزشکی، علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، میکروبیولوژی، قارچ‌شناسی، بیولوژی و دامپروری می‌توانند از کتاب حاضر در حکم یک مجموعهٔ کاربردی استفاده کنند.

در پایان، مراتب تشکر و امتنان بی‌شائبه خود را از استاد گرانمایه جناب آقای دکتر محمد تقی‌خانی رئیس محترم انستیتو پاستور ایران که با راهنمایی‌های پدرانه خود بر ما منت نهاده و دیباچه کتاب حاضر را با قلم شیوای خود زینت دادند، اعلام می‌داریم. همچنین از زحمات بی‌شائبهٔ تمامی همکاران در مؤسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی که در ظهور این اثر مولفان را یاری کردند قدردانی می‌گردد.

دکتر مهدی رزّاقی ابیانه

دکتر معصومهٔ شمس قهفرّخی

۱۳۸۴

# فهرست مطالب

عنوان — صفحه


**فصل اول: بیماری‌های قارچی مهم در دامپزشکی** ..... ۱
مقدمه‌ای برقارچ‌های بیماری‌زا ..... ۲
ویژگی‌های عمومی قارچ‌ها ..... ۲
جنبه‌های عمومی عفونت‌های قارچی ..... ۳
بیماری‌های قارچی ..... ۴
درماتوفیتوزیس ..... ۴
سبب‌شناسی ..... ۷
زیستگاه طبیعی و همه‌گیرشناسی ..... ۷
بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۱۰
ایمنی‌شناسی ..... ۱۴
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۱۶
غربالگری اولیه و نمونه برداری ..... ۱۶
بررسی میکروسکوپی مستقیم ..... ۱۷
جداسازی و شناسایی ..... ۱۹
کنترل و پیشگیری ..... ۱۹
درمان ..... ۲۱
آسپرژیلوزیس ..... ۲۲
زیستگاه طبیعی ..... ۲۲
بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۲۳
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۲۵
نمونه‌های بالینی ..... ۲۵
بررسی میکروسکوپی مستقیم ..... ۲۷
جداسازی و شناسایی ..... ۲۷
کنترل و پیشگیری ..... ۲۸
درمان ..... ۲۹
کاندیدیازیس ..... ۲۹
زیستگاه طبیعی ..... ۳۰
بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۳۰
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۳۳
نمونه‌های بالینی ..... ۳۳
بررسی میکروسکوپی مستقیم ..... ۳۳
جداسازی و شناسایی ..... ۳۳

درمان ..... ۳۴
کریپتوکوکوزیس ..... ۳۵
زیستگاه طبیعی ..... ۳۵
بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۳۶
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۳۸
نمونه‌های بالینی ..... ۳۸
بررسی میکروسکوپی مستقیم ..... ۳۸
جداسازی و شناسایی ..... ۳۹
درمان ..... ۳۹
پیتروسپوروزیس ..... ۴۰
زیستگاه طبیعی ..... ۴۰
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۴۰
نمونه‌های بالینی ..... ۴۰
بررسی میکروسکوپی مستقیم ..... ۴۰
جداسازی و شناسایی ..... ۴۱
عفونت‌های مخمّری کمیاب ..... ۴۲
ترایکوسپورونوزیس ..... ۴۲
هیستوپلاسموزیس ..... ۴۳
نشانه‌های بالینی ..... ۴۳
نشانه‌های کالبدگشایی ..... ۴۴
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۴۴
درمان ..... ۴۵
کوکسیدیوئیدومایکوزیس ..... ۴۵
نشانه‌های بالینی ..... ۴۶
نشانه‌های کالبدگشایی ..... ۴۶
تشخیص ..... ۴۶
درمان ..... ۴۷
بلاستومایکوزیس ..... ۴۷
نشانه‌های بالینی ..... ۴۸
نشانه‌های کالبدگشایی ..... ۴۸
تشخیص ..... ۴۸
درمان ..... ۴۹
زایگومایکوزیس ..... ۴۹
زیستگاه طبیعی ..... ۵۱
بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۵۱
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۵۳
نمونه‌های بالینی ..... ۵۳
بررسی میکروسکوپی مستقیم ..... ۵۴
جداسازی و شناسایی ..... ۵۴
درمان ..... ۵۵
اِنتوموفتورومایکوزیس ..... ۵۵
زیستگاه طبیعی ..... ۵۵
بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۵۵
تشخیص ..... ۵۶
درمان ..... ۵۶
اسپوروتریکوزیس ..... ۵۷
زیستگاه طبیعی ..... ۵۷
بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۵۸
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۵۸
درمان ..... ۶۰
کرومویلاستومایکوزیس ..... ۶۰
زیستگاه طبیعی ..... ۶۱
بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۶۱
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۶۲
درمان ..... ۶۲
مایستوما ..... ۶۳
زیستگاه طبیعی ..... ۶۳
نشانه‌های بالینی ..... ۶۳
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۶۳
درمان ..... ۶۴
رینوسپوریدیوزیس ..... ۶۵
زیستگاه طبیعی ..... ۶۵
نشانه‌های بالینی ..... ۶۵
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۶۵
درمان ..... ۶۶
لوبومایکوزیس ..... ۶۶
لنفانژیت واگیردار ..... ۶۷
زیستگاه طبیعی ..... ۶۷
نشانه‌های بالینی ..... ۶۷
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۶۸
پسیلومایکوزیس ..... ۶۹
زیستگاه طبیعی ..... ۷۰
نشانه‌های بالینی ..... ۷۰
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۷۰

درمان ..... ۷۱
پنی سیلیوزیس ..... ۷۱
نشانه‌های بالینی ..... ۷۱
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۷۲
درمان ..... ۷۲
پیتیوزیس ..... ۷۲
زیستگاه طبیعی ..... ۷۲
نشانه‌های بالینی ..... ۷۳
تشخیص ..... ۷۴
درمان ..... ۷۴
ژئوتریکوزیس ..... ۷۴
نشانه‌های بالینی ..... ۷۵
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۷۵
درمان ..... ۷۵
آدیاسپیرومایکوزیس ..... ۷۶
زیستگاه طبیعی ..... ۷۶
همه‌گیرشناسی و اکولوژی ..... ۷۷
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۷۸
درمان ..... ۷۸
سایرولگنیازیس ..... ۷۸
زیستگاه طبیعی ..... ۷۹
همه‌گیرشناسی و بیماری‌زایی ..... ۷۹
نشانه‌های بالینی ..... ۸۰
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۸۲
کنترل و درمان ..... ۸۴
برانشیومایکوزیس ..... ۸۴
اگزوفیالیوزیس ..... ۸۴
نشانه‌های بالینی و بیماری‌زایی ..... ۸۵
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۸۵
درمان ..... ۸۶
ایختیوفونیازیس ..... ۸۶
بیماری زایی و نشانه‌های بالینی ..... ۸۷
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۸۷
درمان ..... ۸۸
بیماری لاروگچی ..... ۸۸
سبب شناسی و همه‌گیرشناسی ..... ۹۰
نشانه‌های بالینی ..... ۹۱
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۹۱
بیماری‌های ناشی از جلبک‌ها ..... ۹۲
پروتوتکوزیس ..... ۹۲
همه‌گیرشناسی و اکولوژی ..... ۹۳
نشانه‌های بالینی ..... ۹۳
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۹۴
عفونت جلبکی آبزیان ..... ۹۴
آزمون فصل اول ..... ۹۵

**فصل دوم: بیماری‌های ناشی از اکتینومیست‌ها در دامپزشکی ..... ۹۹**
اکتینومایکوزیس ..... ۱۰۰
زیستگاه طبیعی ..... ۱۰۱
نشانه‌های بالینی ..... ۱۰۱
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۱۰۵
درمان ..... ۱۰۶
درماتوفیلوزیس ..... ۱۰۶
زیستگاه طبیعی ..... ۱۰۶
سبب‌شناسی و همه‌گیرشناسی ..... ۱۰۷
بیماری‌زایی ..... ۱۰۷
یافته‌های بالینی ..... ۱۰۸
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۱۰۹
نوکاردیوزیس ..... ۱۱۳
نشانه‌های بالینی ..... ۱۱۳
تشخیص آزمایشگاهی ..... ۱۱۴
درمان ..... ۱۱۶
آزمون فصل دوم ..... ۱۱۸

**فصل سوم: مایکوتوکسین‌ها و انواع مایکوتوکسیکوز در حیوانات ..... ۱۲۱**
ویژگی‌های عمومی مایکوتوکسین‌ها ..... ۱۲۲
ویژگی‌های عمومی انواع مایکوتوکسیکوز ..... ۱۲۳
آزمون فصل سوم ..... ۱۲۹

**فصل چهارم: اصول نمونه‌برداری و تشخیص بیماری‌های قارچی ..... ۱۳۱**
نمونه‌های بالینی ..... ۱۳۲
اطلاعات عمومی ..... ۱۳۲
تکنیک‌ها ..... ۱۴۵
نمونه‌های آبسه ..... ۱۴۵

نمونه‌های خون ..... ۱۴۵
نمونه‌های مغزاستخوان ..... ۱۴۷
مایع مغزی ـ نخاعی ..... ۱۴۷
مایعات ..... ۱۴۸
مو ..... ۱۴۹
ناخن ..... ۱۵۰
تراشه‌های جلدی (لایهٔ شاخی) ..... ۱۵۰
نمونه‌های بافت ..... ۱۵۱
نمونه‌های ادرار ..... ۱۵۳
نمونه‌های شیر ..... ۱۵۴
نمونه‌های بافت چشم ..... ۱۵۴
بررسی میکروسکوپی مستقیم ..... ۱۵۵
روش هیدروکسید پتاسیم (پتاس) ..... ۱۵۵
روش کالکوفلوئور سفید و پتاس ..... ۱۵۶
روش جوهر هندی ..... ۱۶۲
روش پریودیک اسید شیف ..... ۱۶۲
روش گیمسا ..... ۱۶۳
روش رنگ‌آمیزی اسیدفست برای نوکاردیا ..... ۱۶۴
آزمون فصل چهارم ..... ۱۶۵

**فصل پنجم: محیط‌های کشت معمول جداسازی و شناسایی قارچ‌ها ..... ۱۶۷**
محیط آلفاسل اگار ..... ۱۶۸
محیط تفریقی آسپرژیلوس ..... ۱۶۹
محیط اگار عصارهٔ مغز و قلب ..... ۱۶۹
محیط کافئیک اسید اگار ..... ۱۷۰
محیط پایهٔ جذب کربن برای مخمرها ..... ۱۷۱
محیط مایع تخمیر ویکرهام ..... ۱۷۲
محیط مایع جذب ویکرهام ..... ۱۷۳
محیط تبدیلی تغییریافته (فرمول تغییر یافتهٔ لِواین) ..... ۱۷۳
محیط آرد ذرّت اگار ..... ۱۷۴
محیط اگار پتنه دانه ..... ۱۷۵
محیط چاپک ـ داکس اگار ..... ۱۷۶
محیط آزمون درماتوفیت ..... ۱۷۷
محیط گورودکوا آسکوسپور اگار ..... ۱۷۷
محیط آزمون لولهٔ زایا ..... ۱۷۸
محیط آزمون مو ..... ۱۷۹
محیط اگار عصارهٔ یونجه ..... ۱۷۹
محیط تبدیل فاز میسلیومی به مخمّری برای هیستوپلاسما ..... ۱۸۰
محیط اگار کِلی ..... ۱۸۰
محیط کِلینز استات آسکوسپور اگار ..... ۱۸۱
محیط عصارهٔ مالت اگار ..... ۱۸۲
محیط مارتین تغییریافته ..... ۱۸۲
محیط جذب نیترات ..... ۱۸۳
محیط اگار مغذّی برای درماتوفیت‌ها ..... ۱۸۴
محیط‌های ترایکوفیتون اگار (شمارهٔ ۱ تا ۷) ..... ۱۸۵
محیط اگارعصارهٔ جو دوسر ..... ۱۸۶
محیط سیب‌زمینی دکستروز اگار ..... ۱۸۷
محیط فنل اکسیداز ..... ۱۸۸
محیط دانهٔ برنج ..... ۱۸۹
محیط سابهی اگار ..... ۱۸۹
محیط سابورو دکستروز اگار ..... ۱۹۰
محیط سابورو گلوکز اگار رقیق شده ..... ۱۹۰
محیط سابورو دکستروز اگار دارای کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید ..... ۱۹۱
محیط سابورو دکستروز برات ..... ۱۹۲
حیط اگار عصارهٔ خاک ..... ۱۹۲
محیط اگار آب جاری ..... ۱۹۳
محیط اگار عصارهٔ سبزیجات ۱۸ درصد ..... ۱۹۴
محیط عصارهٔ مخمّر ـ عصارهٔ مالت اگار ..... ۱۹۴
محیط عصارهٔ مخمّر ـ فسفات اگار ..... ۱۹۵
حیط اگار مورفولوژی مخمّر ..... ۱۹۶
محیط عصارهٔ مخمّر پپتون گلوکز اگار ..... ۱۹۶
محیط انجماد گلیسرول ـ لاکتوز ..... ۱۹۷
محیط اگار مهاری قارچ‌های رشته‌ای ..... ۱۹۷
محیط کاناوانین ـ گلایسین ـ برم تیمول بلو اگار ..... ۱۹۸
محیط ژلاتین ..... ۱۹۹
محیط دیکسون تغییریافته ..... ۱۹۹
محیط آرد ذرّت گلوکز سوکروز عصارهٔ مخمّر اگار ..... ۲۰۰
محیط اگار دانهٔ پرنده ..... ۲۰۰
آزمون فصل پنجم ..... ۲۰۲

**فصل ششم: معرف‌ها، رنگ‌ها و روش‌های نگهداری قارچ‌ها در آزمایشگاه ..... ۲۰۵**
کالکوفلوئور سفید ـ پتاس ۱۰ درصد ..... ۲۰۶
هیدروکسید پتاسیم ـ جوهر پارکر ..... ۲۰۶
هیدروکسید پتاسیم ـ دی متیل سولفوکساید ..... ۲۰۷

رنگ‌آمیزی اسید فست (روش تغییریافتهٔ کاینیون) ..... ۲۰۷
رنگ‌آمیزی گیمسا ..... ۲۰۸
رنگ آمیزی گوموری متنامین سیلور (روش تغییر یافتهٔ گروکوت) ..... ۲۱۰
رنگ‌آمیزی گرم (روش تغییریافتهٔ هوکر) ..... ۲۱۲
لاکتوفنل کاتن بلو ..... ۲۱۳
محلول آب و عامل مرطوب‌کننده ..... ۲۱۴
محلول پتاس ـ فلوکسین ..... ۲۱۴
محلول لاکتوفوشین ..... ۲۱۵
محیط مونته کنندهٔ شیرز ..... ۲۱۵
رنگ‌آمیزی موسی کارمین مایر ..... ۲۱۶
رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف ..... ۲۱۷
رنگ‌آمیزی ویرتز (روش تغییریافتهٔ شفر ـ فولتون) ..... ۲۱۹
معرف دی‌آزونیوم بلو B ..... ۲۲۰
روش‌های حفظ و نگه‌داری قارچ‌ها ..... ۲۲۱
انتقال مکرر (دوره‌ای) روی محیط‌های جامد شیب‌دار ..... ۲۲۱
نگهداری در آب مقطر ..... ۲۲۳
روش انجماد ..... ۲۲۳
انجماد و ذخیره‌سازی در نیتروژن مایع ..... ۲۲۴
روش پوشانیدن با روغن ..... ۲۲۵
روش آبگیری و انجماد در خلأ (لیوفلیزاسیون) ..... ۲۲۵
تهیهٔ مونته‌های دائمی قارچی ..... ۲۲۶
آزمون فصل ششم ..... ۲۲۸
منابع ..... ۲۲۹
تصاویر رنگی ضمیمه ..... ۲۳۳
واژه‌نامه ..... ۲۴۱

# فصل اول

# بیماری‌های قارچی مهم در دامپزشکی

**هدف‌های رفتاری**

**پس از خواندن این فصل فراگیرنده باید:**

۱. ویژگی‌های عمومی قارچ‌ها و جنبه‌های عمومی عفونت‌های قارچی را شرح دهد؛

۲. جنبه‌های مختلف عفونت‌های قارچی شامل سبب‌شناسی، زیستگاه طبیعی، اپیدمیولوژی، بیماری‌زایی، نشانه‌های بالینی، ایمنی‌شناسی، تشخیص آزمایشگاهی، کنترل و پیشگیری نهایتاً روش‌های درمانی را توضیح دهد.

## مقدمه‌ای برقارچ‌های بیماری‌زا

### ویژگی‌های عمومی قارچ‌ها

این بخش به تفصیل در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی مطالعه و بررسی شده است. با این‌حال برای توجه بیشتر دانشجویان و دانش‌پژوهان گرامی، ویژگی‌های عمومی قارچ‌ها در این قسمت به اختصار شرح داده می‌شود. قارچ‌ها ارگانیسم‌های یوکاریوتی هستند که حرکت (به استثنای اُمیست‌ها) و فتوسنتز نمی‌کنند. pH مناسب برای رشد این ارگانیسم‌ها حدود ۶ تعیین شده است، با این‌حال، قارچ‌ها می‌توانند مقدار pH بین ۲ تا ۱۰ و گاه خارج این محدوده را نیز تحمل کنند. قارچ‌ها هوازی هستند و بیشتر در محدودهٔ دمایی ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد به بهترین وجه رشد می‌کنند. قارچ‌ها عموماً به دو دستهٔ اصلی رشته‌ای[1] و مخمّرها[2] طبقه‌بندی می‌شوند. قارچ‌های رشته‌ای رشته‌های چندشاخه به‌نام ریسه(هایف)[3] با قطر ۲ تا ۱۰ میکرون دارند. ریسه‌ها دارای یا بدون تقسیمات داخلی هستند. رشد ریسه با تولید توده‌ای به نام میسلیوم[4] همراه است و مجموعهٔ میسلیوم‌ها، پرگنه قارچ یا تالوس[5] را تشکیل می‌دهند. قارچ‌های رشته‌ای برحسب جنس و گونه به صورت‌های متفاوت نظیر کرکی، پرزی، پودری و غیره هستند و پرگنهٔ آنها از ریسه‌های رویشی و زایشی تشکیل می‌شوند. مخمّرها، پرگنه‌های موکوئید، شبیه پرگنهٔ باکتری‌ها، دارند واین پرگنه‌ها از سلول‌های بیضی، کروی و استوانه‌ای شکل با قطر حدود ۳ تا ۵ میکرون تشکیل شده‌اند. مخمّرها از طریق جوانه‌زدن و گاه تقسیم دوتایی تکثیر می‌شوند. برخی از قارچ‌های بیماری‌زا از نوع دوشکلی[6] اند. این گروه از قارچ‌ها در داخل بافت‌های حیوانات و در پی رشد روی محیط‌های مغذّی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به فرم مخمّری هستند، در حالی که در طبیعت و در زمان رشد روی محیط‌های کشت معمولی آزمایشگاهی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به صورت رشته‌ای رشد می‌کنند. برخی از مخمّرها نظیر *کاندیدا آلبیکنس* زنجیره‌ای از سلول‌های دراز به‌نام ریسهٔ کاذب[7] در داخل بافت‌های حیوانات یا محیط‌های کشت اختصاصی تولید می‌کنند.

1- Mycelial fungi or Moulds
2- Yeasts
3- Hypha
4- Mycelium
5- Thallus
6- Dimorphic fungi
7- Pseudohyphae



### جنبه‌های عمومی عفونت‌های قارچی

در میان قارچ‌ها، تنها تعداد اندکی از درماتوفیت‌ها[1] عوامل بیماری‌زای اجباری[2] هستند. در همین حال بیشتر قارچ‌های بیماری‌زا به صورت ساپروفیت در طبیعت پراکنده یا به صورت همزیست با حیوانات و انسان در ارتباط هستند. به همین دلیل، اکثر این قارچ‌ها در گروه عوامل بیماری‌زای فرصت‌طلب[3] طبقه‌بندی می‌شوند و برای ایجاد بیماری به عوامل مستعد کننده نیاز دارند. این عوامل شامل تغییر میکروفلور طبیعی میزبان، سرکوب سیستم ایمنی، عفونت‌های همزمان[4]، جراحات پوست و مخاط‌ها، رطوبت پایدار در سطح پوست و تماس با دوز عفونی بالا (نظیر آنچه که دربارهٔ اسپورهای *آسپرژیلوس فومیگاتوس* در پنومونی جوجه‌ها اتفاق می‌افتد) هستند. بیماری‌های قارچی در حیوانات معمولاً به فرم انفرادی اتفاق می‌افتند و تنها موارد خاصی از اپیدمی‌های عفونی قارچی نظیر شیوع ناگهانی درماتوفیتوزیس یا کچلی بویژه در گوساله‌ها و بره‌ها و اپیدمی پنومونی جوجه‌ها[5] در سطح دسته‌های پرندگان گزارش شده است. برخی از قارچ‌ها سموم گوناگون به‌نام مایکوتوکسین[6] تولید می‌کنند که در شرایط محیطی مناسب روی فرآورده‌های غذایی و محصولات کشاورزی تولید می‌شوند. اگر حیوانات، غذاهای آلوده به این سموم را مصرف کنند انواع مایکوتوکسیکوز[7] در آنها ایجاد می‌شود. عفونت‌های قارچی مزمن یک واکنش گرانولوماتوز را در میزبان ایجاد می‌کند. ایمنی ایجاد شده در مقابل برخی از عفونت‌های قارچی در حیوانات از انواع وابسته به سلول[8] و هومورال[9] است که به ترتیب در مقابله با عفونت و تشخیص آن مهم هستند. عفونت‌های قارچی را عموماً به سه دستهٔ اصلی عمقی یا سیستمیک، زیر جلدی و سطحی تقسیم‌بندی می‌کنند. با این‌حال، بسیاری از قارچ‌های بیماری‌زا نظیر *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس فومیگاتوس* تمام انواع این عفونت‌ها را تولید می‌کنند. در ادامه،انواع مهم بیماری‌های قارچی در حیوانات از نظر سبب‌شناسی، اپیدمیولوژی، بیماری‌زایی، تشخیص آزمایشگاهی و درمان مطالعه و بررسی می‌شوند.

1- Dermatophytes
2- Obligate parasites
3- Opportunistic pathogens
4- Concurrent infections
5- Brooder pneumonia
6- Mycotoxins
7- Mycotoxicosis
8- Cell-mediated immunity
9- Humoral immunity

## بیماری‌های قارچی

به‌طور کلی، عفونت‌های قارچی حیوانات در سه گروه اصلی سطحی یا جلدی[1] زیر جلدی[2] و سیستمیک یا عمقی[3] طبقه‌بندی می‌شوند. از آن جا که این طبقه‌بندی در بسیاری از موارد مرز مشخصی ندارد (بسیاری از قارچ‌ها انواع گوناگون عفونت‌های سطحی، زیرجلدی و سیستمیک ایجاد می‌کنند)، در کتاب حاضر عفونت‌های قارچی براساس قارچ عامل بیماری طبقه‌بندی شده‌اند و به تفکیک مطالعه و بررسی می‌شوند. در این کتاب، سعی شده است تا بیماری‌های مهم دام و پرندگان، آبزیان و حتی زنبور عسل در حد امکان بررسی و مطالعه شوند (جدول ۱-۱). مهم‌ترین عفونت‌های حیوانی ناشی از جلبک‌ها، نظیر عفونت جلبکی آبزیان و پروتوتکوزیس در این بخش گنجانیده شده‌اند.

### درماتوفیتوزیس

درماتوفیتوزیس[4] عفونت قارچی لایه شاخی پوست، مو و ناخن‌هاست که گروهی از قارچ‌های تخصص یافته به‌نام درماتوفیت‌ها[5] آنها را ایجاد می‌کنند. نام‌های مترادف بیماری یاد شده رینگ ورم (کچلی)[6] و تینه‌آ[7] است. این بیماری در سرتاسر جهان درحیوانات و انسان وجود دارد و یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است. ضایعات به صورت گرد و پوسته‌دار در نقاط گوناگون بدن، بویژه در ناحیهٔ سر و گردن حیوانات، ایجاد می‌شوند. این ضایعات بیشتر سفید تا خاکستری رنگ‌اند و سطح آنها پوشیده از دلمه[8] است. عفونت به‌طور مستقیم (تماس مستقیم) یا غیرمستقیم (تماس حیوانات با پوسته‌های آلودهٔ موجود روی بستر و وسایل) در میان گله حیوانات منتقل می‌شود. در محل ضایعات؛ موها می‌ریزند و التهاب پیش می‌آید و موها نیز به احتمال زیاد آلوده می‌شوند.

1- Superficial or Cutaneous mycoses
2- Subcutaneous mycoses
3- Systemic or Deep mycoses
4- Dermatophytosis
5- Dermatophytes
6- Ring worm
7- Tinea
8- Crust



**جدول ۱-۱- بیماری‌های قارچی مهم در دامپزشکی [۲۹].**

| قارچ (ها)، عامل | حیوان (حیوانات حساس) |
|---|---|
| درماتوفیت‌ها (گونه‌های میکروسپوروم و تریکوفیتون) | درماتوفیتوزیس (کچلی) |
| پیدرا هورته | پیدرای سیاه |
| مالاسزیا پاکی درماتیس (پیتروسپوروم کانیس) | پیتروسپوروزیس |
| تریکوسپورون بژلی | پیدرای سفید |
| اسپوروتریکس شنکی | اسپوروتریکوزیس |
| عوامل قارچی مختلف | مایستوما (مادورا فوت) |
| هورمودندروم و برخی از قارچ‌های | کرومومیلاستومایکوزیس |
| رینوسپوریدیوم سیبری | رینوسپوریدیوزیس |
| عوامل قارچی مختلف | فئوهایفومایکوزیس |
| بازیدیوبولوس رانارووم | انتروموفتورومایکوزیس |
| کونیدیوبولوس کورونا توس | لوبومایکوزیس |
| گونه‌های آسپرژیلوس بویژه آسپرژیلوس فومیگاتوس | آسپرژیلوزیس |
| زایگومیست‌ها (رایزوپوس، موکور، رایزومکور، آبسیدیا، مورتیرلا) | زایگومایکوزیس |

**ادامهٔ جدول ۱-۱-**

| قارچ (های) عامل | بیماری | میزبان (حیوانات حساس) |
|---|---|---|
| *کوکسیدیوئیدس ایمیتیس* | کوکسیدیوئیدومایکوزیس | سگ، گربه، گاو، گوسفند و جوندگان |
| *هیستوپلاسما کپسولاتوم* | هیستوپلاسموزیس | گاو، گوسفند، بز، اسب، سگ، گربه، پرندگان، جوندگان و حیوانات وحشی |
| *بلاستومایسس درماتیتیدیس* | بلاستومایکوزیس | سگ |
| *پاراکوکسیدیوئیدس برازیلینسیس* | پاراکوکسیدیوئیدومایکوزیس | ناشناخته |
| *گونه‌های کاندیدا بویژه کاندیدا آلبیکنس* | کاندیدیازیس | گاو، خوک، گوسفند، بز، اسب، پرندگان، سگ، گربه و بسیاری از حیوانات اهلی و وحشی |
| *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* | کریپتوکوکوزیس | سگ و گربه، گاو، گوسفند، بز، اسب و پرندگان |
| *ژئوتریکوم کاندیدوم* | ژئوتریکوزیس | گاو (ورم پستان) |
| *گونه‌های ساپرولگنیا* | ساپرولگنیازیس | تمامی آبزیان آب شیرین |
| *گونه‌های برانشیومایسس* | برانشیومایکوزیس | ماهیان باس دهان کوچک و دهان بزرگ |
| *گونه‌های اگزوفیالا* | اگزوفیالیوزیس | اسب دریایی، ترایگرفیش سارگاسوم |
| *امونسیا پاروا (واریته‌های پاروا و کرسنس)* | آدیاسپیرومایکوزیس | بسیاری از حیوانات اهلی و وحشی بویژه جوندگان حفّار |
| *هیستوپلاسما فارسیمینوزوم* | هیستوپلاسموزیس (لنفانژیت واگیردار) | اسب، الاغ و قاطر |
| *پتیوم اینسیدیوزوم* | پتیوزیس | اسب |
| *پوروریا باسیانا* | موسکاردین | کرم ابریشم |
| *آسکوسفرا آپیس* | بیماری لاروگچی | زنبور عسل |
| *پروتوتکا زوپفی و پروتوتکا ویکرهامی* | پروتوتکوزیس | گاو، سگ و بسیاری از حیوانات اهلی و وحشی |
| *گونه‌های جلبک کُلرِلّا* | عفونت جلبکی آبزیان | یک‌نوع خورشیدماهی آب آزاد |



## سبب‌شناسی

درماتوفیت‌ها گروهی از قارچ‌های تخصص یافته هستند که از کراتین[1] موجود در لایهٔ شاخی به‌عنوان منبع انحصاری تغذیه استفاده می‌کنند. این قارچ‌ها در سه جنس اصلی میکروسپرووم[2]، تریکوفیتون[3] و اپیدرموفیتون[4] طبقه‌بندی می‌شوند. توانایی استفاده از کراتین به وجود آنزیم‌هایی به‌نام کراتینازها[5] بستگی دارد. از این‌رو، درماتوفیت‌ها در حالت طبیعی، تنها لایهٔ شاخی پوست، ناخن، چنگال و موی حیوانات و انسان را آلوده می‌کنند. ضایعات کلاسیک بیماری به شکل حلقوی هستند و به همین دلیل، واژهٔ رینگ ورم[6] برای توصیف بیماری به کار گرفته شده است. درماتوفیت‌های بدون مرحلهٔ تولیدمثل جنسی در شاخهٔ ناقص یا دیوترومایکوتا طبقه‌بندی می‌شوند، در حالی که انواع دارای تولیدمثل جنسی در شاخهٔ آسکومایکوتا قرار می‌گیرند. در حال حاضر، نام مرحلهٔ جنسی درماتوفیت‌ها در گروه آرتروردرما[7] طبقه‌بندی می‌شود. تاکنون بیش از ۳۸ گونه درماتوفیت شناسایی شده‌اند که همان‌طور که ذکر شد در سه جنس اصلی میکروسپرووم، تریکوفیتون و اپیدرموفیتون قرار می‌گیرند (جدول ۱-۲). درماتوفیت‌ها ریسه‌هایی با دیوارهٔ عرضی دارند و بسیاری از آنها ماکروکونیدیوم[8] و میکروکونیدیوم[9] تولید می‌کنند. ظاهر و رنگ پرگنه نیز ممکن است در درماتوفیت‌های گوناگون با هم متفاوت باشند. پرگنهٔ بسیاری از درماتوفیت‌ها رنگی است و باید از نظر حالت و رنگ بررسی شوند.

## زیستگاه طبیعی و همه‌گیرشناسی

درماتوفیت‌ها را براساس اکولوژی مخزن در سه گروه اصلی حیوان‌گرا[10]، انسان‌گرا[11] و خاک‌گرا[12] طبقه‌بندی کرده‌اند (جدول ۱-۲). درماتوفیت‌های حیوان‌گرا برای حیوانات بیماری‌زا و برای انسان نیز معمولاً عفونت‌زا هستند. در این شرایط به دلیل ناهمسانی قارچ با کراتین

1- Keratin
2- *Microsporum*
3- *Trichophyton*
4- *Epidermophyton*
5- Keratinases
6- Ring worm
7- Arthroderma
8- Macroconidium(pl. Macroconidia)
9- Microconidium (pl. Microconidia)
10- Zoophilic
11- Anthropophilic
12- Geophilic

میزبان انسانی، عفونت‌های التهابی بسیار شدیدی ایجاد خواهد شد که در مقایسه با عفونت‌های اختصاصی قارچ در میزبان مخزن خود دورهٔ کوتاه‌تر و بهبودی سریع‌تری دارد. درماتوفیت‌های انسان‌گرا معمولاً انسان را به‌عنوان میزبان اصلی خود انتخاب می‌کنند و به‌ندرت عامل عفونت‌های حیوانی هستند. درماتوفیت‌های خاک‌گرا در خاک وجود دارند و به صورت ساپروفیت یا بیماری‌زا عمل می‌کنند. برای مثال، دو گونهٔ میکروسپوروم جیپسئوم[1] و میکروسپوروم *نانوم*[2] عامل بیماری در حیوانات و انسان هستند. برخی از درماتوفیت‌ها نظیر *میکروسپوروم کانیس* (درگربه)، *میکروسپوروم پرسیکالر* (در موش باغی)، *ترایکوفیتون متاگروفایتس واریتهٔ متاگروفایتس* (در جوندگان)، *ترایکوفیتون متاگروفایتس واریتهٔ ارینائسئی* (در جوجه تیغی) و *ترایکوفیتون وروکوزوم* (در گاو) ویژهٔ حیوانات میزبان خود هستند و در سایر حیوانات و انسان کمتر ظاهر می‌شوند. درماتوفیت‌های یاد شده علاوه بر بیماری، عفونت‌های تحت کلینیکی یا عفونت‌های بدون علایم ظاهری در حیوانات مخزن خود نیز ایجاد می‌کنند. پوسته‌های جدا شده از محل ضایعات تا مدت‌ها (۱۵ ماه تا ۴/۵ سال در مورد *ترایکوفیتون وروکوزوم*) درماتوفیت را در مکان‌های تاریک و مرطوب حفظ می‌کنند و تماس با این پوسته‌های آلوده سبب انتقال غیر مستقیم عفونت به حیوانات دیگر و انسان می‌شود. در حیوانات در فصل سرما، بویژه زمان نگهداری آنها در آغل به جهت این که مدت زمان بیشتری در آغل هستند و احتمال تماسشان با یکدیگر نیز بیشتر است، درماتوفیتوزیس گسترش می‌یابد و گاه همه حیوانات گله به آن مبتلا می‌شوند. عفونت‌های درماتوفیتی مهم حیوانات عموماً از راه تماس مستقیم در میان حیوانات گسترش می‌یابند.

1- *Microsporum gypseum*  2- *Microsporum nanum*



**جدول ۱-۲-طبقه‌بندی گروه‌های اصلی درماتوفیت‌های مهم بالینی در حیوانات و انسان [۲۱،۲۹،۳۲].**

| گروه (جنس) | درماتوفیت | اکولوژی مخزن |
|---|---|---|
| میکروسپوروم | *میکروسپوروم کانیس* | حیوانگرا |
| | *میکروسپوروم دیستورتوم* | حیوانگرا |
| | *میکروسپوروم اکوئینوم* | حیوانگرا |
| | *میکروسپوروم نانوم* | حیوانگرا و خاک‌گرا |
| | *میکروسپوروم پرسیکالر* | حیوانگرا |
| | *میکروسپوروم فولوم* | خاک‌گرا |
| | *میکروسپوروم جیپسئوم* | خاک‌گرا |
| | *میکروسپوروم گالینه* | حیوانگرا |
| | *میکروسپوروم فروجینوم* | انسان‌گرا |
| | *میکروسپوروم کوکئی* | خاک‌گرا |
| | *میکروسپوروم راسموزوم* | خاک‌گرا |
| | *میکروسپوروم وانبروزگمی* | خاک‌گرا |
| | *میکروسپوروم ادوئینی* | انسان‌گرا |
| | *میکروسپوروم ریوالیری* | انسان‌گرا |
| ترایکوفیتون | *ترایکوفیتون اکوئینوم* | حیوانگرا |
| | *ترایکوفیتون وروکوزوم* | حیوانگرا |
| | *ترایکوفیتون سیمئی* | حیوانگرا |
| | *ترایکوفیتون متاگروفایتس* | حیوانگرا و انسان‌گرا (برحسب نوع واریته) |
| | *ترایکوفیتون روبروم* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون ویولاسئوم* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون تونسورانس* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون سودانس* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون گورویلی* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون مگنینی* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون کانسنتریکوم* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون شوئن‌لاینی* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون یائوندئی* | انسان‌گرا |
| | *ترایکوفیتون ترستر* | خاک‌گرا |
| | *ترایکوفیتون آجلوئی* | خاک‌گرا |
| اپیدرموفیتون | *اپیدرموفیتون فلوکوزوم* | انسان‌گرا |
| | *اپیدرموفیتون استوکداله* | انسان‌گرا |

با این‌حال، عفونت ممکن است به طور غیرمستقیم، از راه حیوانات مخزن نظیر جوندگان (مخزن *ترایکوفیتون متاگروفایتس*)، جوجه تیغی (مخزن *ترایکوفیتون اریناسئی* )، گربه (مخزن *میکروسپوروم کانیس* ) و خاک (مخزن *میکروسپوروم جیپسئوم*) یا لوازم آلوده نظیر بستر، وسایل تیمار (قشو) حیوانات و زین دارای آرتروسپورهای عفونت‌زا منتقل شوند. این آرتروسپورها، همان‌طور که ذکر شد، تا مدت‌ها (حداقل ۶ تا ۱۲ ماه) در داخل موها و پوسته‌های آلوده در محیط‌های تاریک و مرطوب زنده باقی می‌مانند. نوع مخزن، روش انتقال و محل ضایعات اغلب به نوع درماتوفیت عامل بستگی دارد. این مسأله بویژه در مورد اسب و سگ صادق است. درماتوفیت‌های بیماری‌زا در حیوانات به همراه میزبان‌های اصلی و نحوهٔ پراکندگی جغرافیایی در جدول ۱-۳ خلاصه شده‌اند.

**بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی**

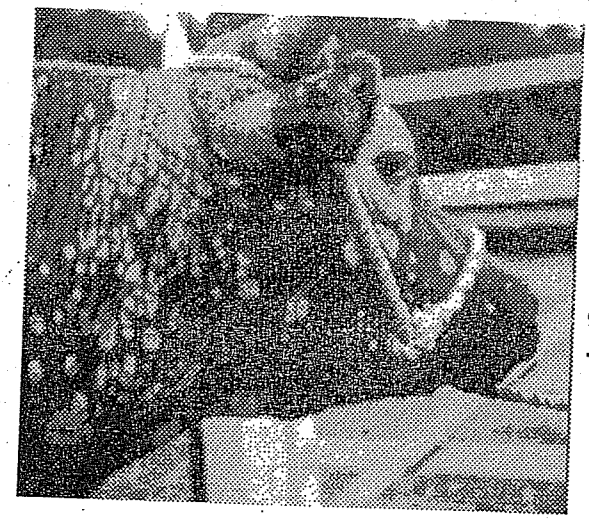
توانایی درماتوفیت‌ها در هیدرولیز کراتین به اپیدرم و فولیکول‌های مو آسیب می‌رساند. مکانیسم ایجاد ضایعات، بروز یک واکنش ازدیاد حساسیت میزبان در مقابل فرآورده‌های متابولیک قارچی است. این واکنش غالباً برای قارچ زیان‌آور است و به همین دلیل درماتوفیت از مرکز به سمت اطراف ضایعه حرکت می‌کند و بدین ترتیب ضایعات حلقوی شکل ایجاد خواهد شد. در این شرایط، مرکز ضایعات ترمیم می‌شود و بدون عناصر قارچی، اما حاشیه ضایعات، التهابی و دارای ارگانیسم است. همسانی درماتوفیت با میزبان مخزن سبب می‌شود که ضایعات بالینی مشخص در میزبان‌ها به‌وجود نیاید و این حیوانات عموماً به‌عنوان مخزن بدون علامت بیماری عمل می‌کنند و عفونت را در میان حیوانات و حتی به انسان انتقال می‌دهند. برای مثال، گربه های بالغ و گاو به ترتیب به‌عنوان مخزن بدون علامت *میکروسپوروم کانیس* و *ترایکوفیتون وروکوزوم* عمل می کنند.عفونت بالینی در میزبان‌های اختصاصی غالباً برای حیوانات جوان پیش می‌آید و این مسأله بویژه در مورد بچه گربه‌ها، بره‌ها و گوساله‌ها صادق است. عفونت‌های درماتوفیتی در حیوانات به اشکال مختلف نظیر عفونت‌های تحت کلینیکی یا بدون علامت، ضایعات گرد کلاسیک، ضایعات ژنرالیزه همراه با عفونت های باکتریایی و جرب و همچنین ضایعات ندولار و تومور مانند (کریون) هستند. ضایعات درماتوفیتی بیشتر در



**جدول ۱-۳ :درماتوفیت‌های عامل درماتوفیتوزیس در حیوانات به همراه میزبان‌های خاص هر کدام و پراکندگی جغرافیایی [۴،۲۹].**

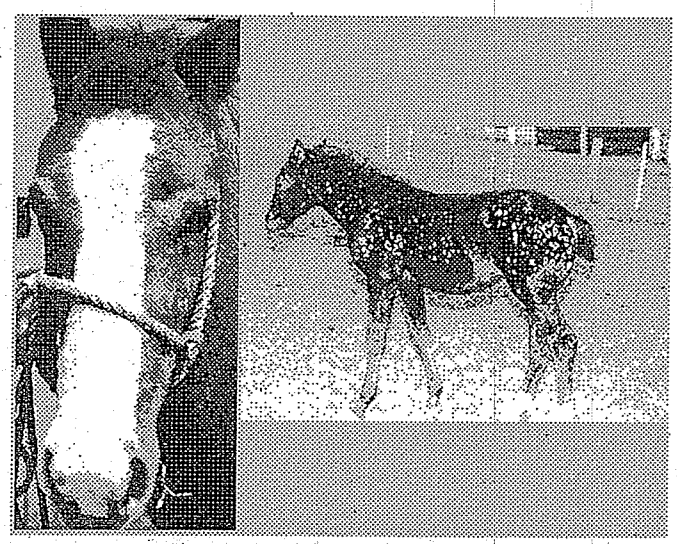
| درماتوفیت | میزبان (ها) | پراکندگی جغرافیایی |
|---|---|---|
| *میکروسپوروم پرسیکالر* | سگ ،گربه ،جوندگان ،میمون و گاه‌گاو، گوسفند،خوک و سایر حیوانات و انسان | جهانی |
| *میکروسپوروم دیستورتوم* | سگ‌وبه‌ندرت‌گربه | استرالیا،نیوزلندوآمریکای‌شمالی |
| *میکروسپوروم گالینه* | جوجه ها ،بوقلمون و به ندرت جوندگان و گربه | اروپا،آمریکای شمالی و جنوبی |
| *میکروسپوروم جیپسئوم* | جوندگان،اسب ،سگ ،گربه،میمون و به ندرت گاو و سایر حیوانات و انسان | جهانی |
| *میکروسپوروم پرسیکالر* | جوندگان(موش باغی)و به ندرت سگ | جهانی |
| *میکروسپوروم کوکئی* | به ندرت در سگ ومیمون | جهانی |
| *میکروسپوروم وانبروزگمی* | به ندرت در سگ ،گربه وجوندگان | —— |
| *میکروسپوروم ادوئینی* | به ندرت درسگ و میمون | جهانی |
| *میکروسپوروم‌نانوم* | خوک‌وبه‌ندرت‌درسایرحیوانات و انسان | اروپا، استرالیا، نیوزلند، آمریکای‌شمالی و جنوبی |
| *ترایکوفیتون اکوئینوم واریته‌اتوتروفیکوم* | اسب | استرالیا و نیوزلند |
| *ترایکوفیتون اکوئینوم* | اسب و به ندرت سگ و انسان | جهانی |
| *ترایکوفیتون متاگروفایتس واریتهٔ اریناسئی* | جوجه تیغی و سگ | انگلستان ،فرانسه‌و نیوزلند |
| *ترایکوفیتون متاگروفایتس واریتهٔ کوئین کیانوم* | موش | ناشناخته |
| *ترایکوفیتون متاگروفایتس (واریتهٔ متاگروفایتس)* | جوندگان، سگ، گربه، اسب، گاو، گوسفند، میمون، خوک و گروه وسیعی از سایر حیوانات و انسان | جهانی |
| *ترایکوفیتون سیمئی* | میمون ، پرندگان و به ندرت سگ | برزیل، گینه و هندوستان |
| *ترایکوفیتون وروکوزوم* | گاو، اسب و گاه‌گوسفند، خوک، سگ، گربه و انسان | جهانی |
| *ترایکوفیتون ویولاسئوم* | به ندرت در سگ | جهانی |
| *ترایکوفیتون روبروم* | به ندرت در سگ | جهانی |
| *ترایکوفیتون مگنینی* | به ندرت در سگ | —— |
| *آپیدرموفیتون فلوکوزوم* | به ندرت در سگ | جهانی |

نواحی سر و گردن حیوانات ایجاد می‌شوند. *ترایکوفیتون وروکوزوم* عامل اصلی درماتوفیتوزیس در گاو و نیز عامل اصلی کچلی‌های زئونوتیک انسانی در جوامع روستایی است. ضایعات در گاو (عموماً گوساله‌ها) به صورت لکه‌های گرد سفید تا خاکستری رنگ برآمده بویژه در ناحیهٔ سر و گردن ظاهر می‌شوند (تصویر ۱-۱). سطح ضایعات از دلمه‌های ضخیم سفیدرنگ پوشیده شده و ممکن است عفونت به سایر نقاط بدن نظیر میان دوراه، دم و کمر نیز گسترده شود. پس از مدتی، دلمه‌ها می‌ریزند و سطح ضایعات بهبود می‌یابد و جای زخم روی سطح بدن حیوان باقی می‌ماند. البته در برخی موارد، موها در محل ضایعات دوباره رشد می‌کنند. در گوسفند و بز نیز عمدتاً *ترایکوفیتون وروکوزوم* عامل بیماری است. ضایعات، بیشتر درناحیهٔ سر و گردن ایجاد می‌شوند و در برخی موارد کل بدن را فرا می‌گیرند. این ضایعات در گوسفند بیشتر به علت وجود پشم مخفی می‌مانند و در صورت توأم شدن با جرب گوسفند (*سارکوپتس اسکبئی*)، شکل ضایعات بر اثر خارش بسیار شدید تغییر خواهد کرد. عامل درماتوفیتوزیس در اسب غالباً *ترایکوفیتون اکوئینوم* و به ندرت *میکروسپوروم اکوئینوم* است. ضایعات یاد شده عمدتاً در نواحی صورت، پشت و شکم به علت تماس با افسار، زین و شکم‌بند ایجاد می‌شوند (تصویر ۱-۲).



**تصویر ۱-۱- ضایعات کچلی ناشی از *ترایکوفیتون وروکوزوم* در ناحیهٔ سر و گردن یک گاو، این ضایعات حلقوی هستند و سطحی پوشیده از دلمه‌های سفیدرنگ دارند [۲۹].**





**تصویر۱-۲- ضایعات مشخص کچلی به فرم حلقوی در نواحی تماس با افسار در صورت یک اسب (چپ) و نواحی مختلف بدن در یک کره اسب (راست) این ضایعات بر اثر آلودگی با *ترایکوفیتون اکوئینوم* ایجاد شده‌اند[۲۷،۲۹].**

ضایعات مزبور به دو صورت کلاسیک (ضایعات حلقوی پوسته‌دار) و التهابی (فاووس اسب) هستند. در فرم التهابی، ریزش دایم مو همراه با ترشحات و چرک دیده می‌شود. عامل درماتوفیتوزیس در سگ و گربه عمدتاً *میکروسپوروم کانیس* است. فرم بدون علامت بیماری در گربه‌ها و سگ‌های بالغ دیده می‌شود و تعداد زیادی از گربه‌های بالغ ناقل بدون علامت بیماری هستند. این حیوانات عامل اصلی انتقال عفونت به انسان و ایجاد اپیدمی‌های خانوادگی کچلی (بویژه کچلی سر) در جوامع شهری‌اند. بچه‌گربه‌ها و توله‌سگ‌ها به فرم کلینیکی عفونت مبتلا می‌شوند. در این‌باره، ضایعات بیشتر درناحیهٔ سر و صورت بویژه اطراف چشم‌ها، پوزه و نوک‌بینی به صورت التهاب و ریزش مو ظاهر می‌شوند. ممکن است عفونت به تمام بدن گسترش یابد و ضایعات کریونی بویژه در سگ‌ها نیز ایجاد کند. عامل درماتوفیتوزیس در پرندگان بیشتر *میکروسپوروم گالینه* است و ضایعات عموماً در ناحیهٔ تاج و ریش به صورت

لکه‌های سفید تا خاکستری رنگ دیده می‌شوند (تصویرA ۱ـ۳). گاه پرها نیز به آلودگی شدید مبتلا می‌شوند. عفونت درمیان خروس‌های لاری بیشتر و موارد بیماری در گله‌های صنعتی بسیار کم است. درماتوفیتوزیس در خوک نیز به صورت ضایعات حلقوی تا بیضی شکل بزرگ بویژه در نواحی سر و بدن حیوان است (تصویر B ۱ـ۳). درماتوفیتوزیس در بسیاری از سایر حیوانات اهلی و وحشی نیز گزارش شده است که بیشتر با ایجاد ضایعات حلقوی پوسته‌دار و ریزش مو همراه است. برخی از درماتوفیت‌های عامل بیماری در حیوانات موها را نیز آلوده می‌کنند که این آلودگی در انواع درماتوفیت‌های حیوان‌گرا و خاک‌گرا به صورت اکتوتریکس (ایجاد آرتروسپور در خارج از ساقهٔ مو) است.




**تصویر ۱ـ۳ـ A: ضایعات کچلی ناشی از** میکروسپوروم *گالینه* **در ناحیهٔ تاج یک خروس. این ضایعات به صورت برآمده و سفید رنگ‌اند.**
**B: ضایعات کچلی ناشی از** میکروسپوروم *نانوم* **در نواحی سر و بدن یک خوک** [۲۹].

### ایمنی‌شناسی

درماتوفیتوزیس عموماً به لایهٔ شاخی اپیدرم محدود می‌شود و به ندرت بافت‌های عمقی را درگیر می‌سازد. بیشتر محققان بر این عقیده‌اند که ترکیبی به نام آلفا ـ۲ـ ماکروگلوبولین در



سرم و مقدار بالایی از ترانسفرین غیراشباع در بافت‌های عمقی، عامل مهار رشد درماتوفیت‌ها در این نواحی هستند. درصورتی که متابولیت‌ها و آنتی‌ژن‌های درماتوفیتی به جریان خون راه یابند، واکنشهای آلرژیک به‌نام واکنش Id[1] در محلی دورتر از محل ضایعهٔ اولیه به صورت وزیکول‌های استریل (بدون قارچ) ظاهر می‌شود. برخی محققان عقیده دارند که تشکیل کمپلکس‌های آنتی‌ژن – آنتی‌بادی یا فعالیت سیستم کمپلمان در ایجاد چنین واکنش‌هایی نقش دارند. فاکتورهای جلدی نظیر گرما ورطوبت، جمع شدن دی‌اکسیدکربن در سطح پوست قسمت‌های پوشیدهٔ بدن، به‌وجود آمدن خراش‌های مختصر در پوست و نبودن چربی‌های دارای اسیدهای چرب فرد کربنه با زنجیر متوسط در غدد چربی موی سر کودکان میزان ابتلا به درماتوفیتوزیس را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر، برخی از فاکتورهای سیستمیک نظیر اختلال در کراتین‌سازی، افزایش سن، بدخیمی‌های خونی و تغذیه (آلودگی درگاو در فصل سرما، به علت عدم دسترسی به علوفهٔ سبز، بیشتر پیش می‌آید) نیز از عواملی هستند که شرایط ابتلا به بیماری را فراهم می‌کنند. تبخیر سطحی پوست، رقابت فلور طبیعی پوست، پرتو فرابنفش و افزایش پوسته‌ریزی در محل ضایعات از عوامل مؤثر مقاومت طبیعی در برابر درماتوفیتوزیس‌اند. تحقیقات در این‌باره نشان داده‌اند که سلول‌های اپیدرمی در اطراف محل ضایعهٔ درماتوفیتی با سرعتی حدود ۴/۲ برابر سلول‌های طبیعی تقسیم می‌شوند و زمان عبور کراتینوسیت‌ها از لایهٔ بازال[2] تا سطح پوست از ۱۸ روز به ۱۲ روز کاهش می‌یابد. این فرایند از راه افزایش سرعت پوسته‌ریزی، به دفع درماتوفیت‌ها از سطح پوست،کمک می‌کند. محققان عقیده دارند که بخشی از بلوغ لنفوسیت‌های T در پوست صورت می‌گیرد و سلول‌های لانگرهانس[3] موجود در اپیدرم پوست، نقش عرضه‌کنندگی آنتی‌ژن[4] را در درماتوفیتوزیس برعهده دارند. مصونیت در برابر عفونت مجدّد به صورت موضعی در محل ضایعه ایجاد می‌شود، با این‌حال طی عفونت‌های مکرر غالباً مصونیت دایم ایجاد خواهد شد. تحقیقات در این‌باره نشان داده‌اند گاوی که در زمان گوساله بودن به درماتوفیتوزیس مبتلا نشده باشد، به

1- Id reaction
2- Basal layer
3- Langerhans cells
4- Antigen presentation

اندازهٔ گوساله حساس خواهد بود. در مصونیت مجدّد و دفاع در برابر بیماری، نقش اصلی، برعهدهٔ ایمنی سلولی است و آنتی‌بادی‌های ایجاد شده علیه درماتوفیت‌ها نقش اندکی دارند. در آزمون جلدی با ترایکوفیتین [1] دیدن واکنش ازدیاد حساسیت تأخیری [2] در درماتوفیتوزیس نشان دهندهٔ فعال بودن ایمنی سلولی حیوان است. بدین ترتیب ،حیواناتی که به اشکال مزمن بیماری مبتلا می شوند ، در آزمون جلدی واکنش ازدیاد حساسیت فوری و یا واکنش بدون تأخیر خواهند داشت که نشان دهندهٔ اختلال در ایمنی سلولی در مقابل آنتی ژن‌های درماتوفیتی است.

**تشخیص آزمایشگاهی**

**غربالگری اولیه و نمونه برداری**

برخی از درماتوفیت‌ها نظیر *میکروسپوروم کانیس*، *میکروسپوروم دیستورتوم*، *میکروسپوروم ادوئینی* و *میکروسپوروم فروجینوم* در پی رشد در سطح پوست و موهای میزبان، متابولیت‌های ویژه‌ای تولید می‌کنند که در مجاورت لامپ وود(مولد پرتو فرابنفش با طول موج ۳۶۶ نانومتر) فلئورسانس سبزسیبی [3] دارند. حیوانات مبتلا به بیماری را می‌توان در محل تاریک و در مجاورت لامپ وود بازرسی کرد و محل ضایعات در بدن آنها (در صورت وجود ضایعه، فلئورسانس در محل دیده خواهد شد)را مشخص ساخت.استفاده از لامپ وود در تشخیص اولیه بویژه در موارد وجود عفونت‌های بدون علامت در بچه گربه‌ها بسیار سودمند و مؤثر است. این حیوانات تقریباً همیشه به *میکروسپوروم کانیس* آلوده هستند و آلودگی مذکور عموماً در نواحی پوزه، صورت و شکم است. حدود ۵۰ درصد عفونت‌های ناشی از *میکروسپوروم کانیس* در مجاورت لامپ وود فلئورسانس دارند و به همین دلیل ،موارد منفی باید به روش‌های دیگر و با دقت بیشتر بررسی شوند. استفاده از پماد و صابون در محل ضایعات فلئورسانس کاذب ایجاد می‌کند. در نمونه‌گیری، موها باید با پنس به طور کامل از محل ضایعات کنده شوند و نمونه‌های تهیه شده با قیچی بدون ارزش هستند. دلیل این امر، حضور عناصر

1- Trichophytin
2- Delayed type hypersensitivity
3 - Apple-green fluorescence



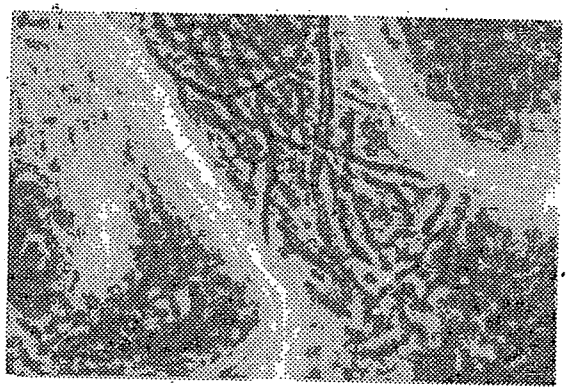
درماتوفیتی در بخشهای انتهایی موها (نزدیک به فولیکول مو) است. تمام موهای صدمه دیده (موهای تغییرشکل و رنگ داده) باید جمع‌آوری شوند. بهتر است نمونه‌های پوسته از حاشیهٔ ضایعات تهیه شود. زیرا ارگانیسم زنده اغلب در بخشهای جانبی ضایعات وجود دارد. از پوسته‌ها با یک اسکالپل کند نمونه برداری انجام می‌شوند و محل ضایعات باید تا زمان آغاز خارج شدن خون تراشیده شود. نمونه‌های مو و پوسته را پس از تهیه به روش فوق در داخل پاکت‌های کاغذی و ظروف شیشه‌ای یا پلاستیکی می‌گذارند و به آزمایشگاه می‌برند. این نمونه‌ها را تا ۶الی ۱۲ ماه می‌توان در دمای آزمایشگاه نگهداری کرد. در مورد عفونت‌های بدون علامت اجتمالی، که غالباً در گربه‌ها دیده می‌شود، برای تهیهٔ نمونه از روش بُرس زدن [1] با به کاربردن یک بُرس استریل، استفاده می‌شود. بهتر است محل ضایعات پیش از نمونه برداری با اتانول ۷۰درصد تمیز شود تا احتمال رشد باکتری‌ها در محیط‌های کشت به حداقل میزان ممکن برسد.

**بررسی میکروسکوپی مستقیم**

تهیهٔ گسترش مرطوب با پتاس در مورد نمونه‌های مو، پوسته و ناخن (چنگال )مناسب است. گسترش‌های تهیه شده به این روش در زیر میکروسکوپ از نظر وجود ریسه‌های چندشاخه با دیوارهٔ عرضی و آرتروسپورهای مستطیلی یا بشکه‌ای شکل بررسی خواهند شد (تصویر ۱-۴). ماکروکونیدیوم‌های درماتوفیتی به‌ندرت در داخل مو یا پوسته‌های آلوده تولید می‌شوند. دربارهٔ آلودگی موها، به‌طور کلی سه فرم متفاوت فاووس [2]، اندوتریکس [3] و اکتوتریکس [4] وجود دارند که دو فرم اول غالباً با درماتوفیت‌های انسان‌گرا و فرم سوم و به ندرت فرم اول با درماتوفیت‌های حیوان‌گرا و خاک‌گرا به‌وجود می‌آیند. البته تمام درماتوفیت‌ها نمی‌توانند موها را آلوده کنند. گاه پوست سالم و ساختمان‌های تشکیل دهندهٔ مو نظیر ذرات چربی و گرانول‌های رنگدانهٔ مو (ملانوزوم ها) با آرتروسپور اشتباه می‌شوند. آرتروسپورها بر حسب نوع درماتوفیت اندازهٔ متغیری دارند. این اسپورهای قارچی دربارهٔ *ترایکوفیتون وروکوزوم* بزرگ

1- Brushing
2- Favus
3- Endothrix
4-Ectothrix

(قطر حدود ۵ تا ۶ میکرون) هستند و به آسانی دیده می‌شوند (تصویر ۱-۵). در مورد ضایعات جلدی گاو، اسب و گوسفند، علاوه بر بررسی از نظر وجود درماتوفیت‌ها، تهیهٔ یک گسترش رنگ آمیزی شده به روش گرم یا گیمسا، برای اطمینان از وجود *درماتوفیلوس کونگولنسیس*[1] پیشنهاد می‌شود.



**تصویر ۱-۴- میسلیوم‌های چندشاخه با دیوارهٔ عرضی و آرتروسپورها در نمونهٔ پوستهٔ آلوده به درماتوفیت[۱۵].**



**تصویر ۱-۵- *ترایکوفیتون وروکوزوم*؛ موهای آلوده دارای آرتروسپور در گاو (گسترش مرطوب تهیه شده با پتاس ۱۰ درصد، بزرگ‌نمایی ۴۰۰ ×)[۲۹].**

*1- Dermatophylus congolensis*



### جداسازی و شناسایی

جداسازی وشناسایی درماتوفیت‌ها از جنبه‌های مختلف نظیر اپیدمیولوژی وکنترل درماتوفیتوزیس مهم است. از محیط‌های کشت گوناگون شامل محیط اگار اختصاصی برای قارچ‌های بیماری‌زا، محیط‌های شمارهٔ ۱تا۷ ترایکوفیتون اگار ومحیط آزمون درماتوفیت[1] می‌توان برای جداسازی انواع درماتوفیت‌ها استفاده کرد. بخشی از نمونه‌های مو و پوسته را با استفاده از آنس یا اسکالپل استریل، در سطح محیط کشت پراکندهٔ و به آرامی به داخل محیط تلقیح می‌کنند. کشت‌ها در شرایط هوازی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و هفته‌ای ۲ بار به مدت ۳ هفته از نظر رشد قارچ کنترل می‌شوند. کشتها در موارد مشکوک به حضور *ترایکوفیتون وروکوزوم* باید تا ۵ هفته نگهداری شوند.البته نگهداری این کشت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، زمینه را برای رشد سریع قارچ فراهم خواهد کرد. برخی از درماتوفیت‌های با رشد سریع نظیر میکروسپوروم *کانیس* حتی پس از ۴ تا ۶ روز روی محیط کشت ظاهر می‌شوند و می‌توان آنها را شناسایی کرد. در میان درماتوفیت‌ها، تنها *ترایکوفیتون وروکوزوم* در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در مقایسه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، بهتر رشد می‌کند که از این ویژگی برای تفکیک این گونه از *ترایکوفیتون شوئن‌لاینی* استفاده می‌شود. به منظور شناسایی یک درماتوفیت از ویژگی‌های متفاوتی نظیر نوع حیوان میزبان، ظاهر پرگنه و ویژگی‌های میکروسکوپی قارچ استفاده می‌شود. دربارهٔ ظاهر پرگنه، باید به خصوصیاتی نظیر میزان رشد، حالت، رنگ و رنگ پشت پرگنه توجه کرد. دربارهٔ روش‌های شناسایی و ریخت‌شناسی اختصاصی درماتوفیت‌ها در بخش‌هایی از کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفضیل بحث و بررسی شده است.

### کنترل و پیشگیری

جهت پیشگیری و کنترل عفونت‌های درماتوفیتی حیوان‌گرا در حیوانات و انسان باید به نکات زیر توجه کرد:

1-Dermatophyte test medium(DTM)

- جداسازی دام‌های آلوده و مشکوک و درمان آنها؛
- ضدعفونی‌کردن بستر حیوانات با ترکیبات فنلی، سود سوزآور و آب آهک؛
- افزودن ویتامین A به غذاهای حیوانات بویژه در فصل زمستان و استفاده از جایگاه‌های آفتاب‌گیر؛
- استفاده از دستکش و لباس کار در محوطهٔ دامداری؛
- قطع مسیرانتقال عفونت به حیوانات بویژه جوندگان، از راه نابودن کردن مخازن؛
- درمان زخم‌های پوستی و جلوگیری از ایجاد خراشهای مختصر در پوست؛
- جدا نگهداشتن گاو،گوسفند، بز و اسب از یک‌دیگر؛
- واکسیناسیون گاو و اسب.

استفاده از واکسن برای کنترل درماتوفیتوزیس در گاو و اسب مهم است. دو نوع واکسن به نام‌های LTF-۱۳۰ و چکوسلواکین، به‌ترتیب در شوروی سابق و جمهوری‌چک از یک استرین تخفیف حدّت یافتهٔ *ترایکوفیتون وروکوزوم* تهیه شده‌اند که در کاهش سطح عفونت ناشی از این درماتوفیت در انسان و گاو بسیار مؤثر بوده‌اند.گوساله‌ها در فاصلهٔ بین ماه اول تا سوم زندگی، از راه داخل عضلانی در دو نوبت با فاصلهٔ ۲ هفته با دوز ۲/۵ میلی‌لیتر در هر نوبت واکسینه می‌شوند. گروهی از محققان، واکسیناسیون گوساله‌ها را با واکسن LTF-۱۳۰ در ماه اول زندگی (ترجیحاً ۳ تا ۷ روز اول) با دو تلقیح ۲/۵ میلی‌لیتری به فاصلهٔ ۱۰ روز پیشنهاد می‌کنند تا گوساله‌ها پیش از فروش ایمن شوند. مقدار واکسن درگوساله‌های بالاتر از ۳ ماه باید دوبرابر (۵ میلی‌لیتر برای هر تلقیح) شود. حیوانات، ۳ تا ۴ هفته پس از واکسیناسیون ایمن می‌شوند و این ایمنی حداقل به مدت ۵ سال دوام خواهد داشت. در صورت بروز بیماری در حیوانات واکسینه شده، ضایعات جدا از هم و بدون تمایل به انتشار ایجاد می‌شود. تمام گاوهای یک منطقه باید واکسینه شوند، اگرچه حیوانات حامل بدون علامت برای حیوانات ایمن شده خطری ایجاد نمی‌کنند. ایمن‌سازی از طریق واکسیناسیون از نظر اقتصادی مفید است و هزینه‌های درمان و زیان‌های غیرمستقیم عفونت را حذف کنند. واکسیناسیون، از بروز خسارات مستقیم پوستی و کاهش وزن و کشتار اضطراری دام به علت بیماری نیز جلوگیری



می‌کند. از واکسن تهیهٔ شده از یک سویهٔ کشتهٔ *ترایکوفیتون اکوئینوم* نیز در واکسیناسیون اسب‌ها علیه درماتوفیتوزیس استفاده می‌شود.

**درمان**

کمترین برتری درمان حیوانات مبتلا به کچلی، جلوگیری از آلوده شدن بیشتر محیط زیست است. کچلی گاو با داروی ضد قارچ گریزئوفولوین[1] در فرم خوراکی با موفقیت درمان شده است. با این‌حال، به‌دلیل گران بودن دارو، درمان گلهٔ گاو مقرون به صرفه نیست. میزان مصرف دارو در گوساله‌ها، ۰/۲۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به مدت ۷ تا ۱۰ روز است. این دارو یک ترکیب بازدارندهٔ رشد قارچ[2] است و پس از رسیدن به نسوج کراتین‌دار بدن از راه جریان خون، رشد قارچ را با جلوگیری از تشکیل دوک میتوز متوقف می‌کند. از آنجا که دارو اثر قارچ‌کشی ندارد، باید تا برطرف شدن کامل عفونت و از بین رفتن عامل بیماری مصرف شود. بهتر است حیوان را واداشت تا دارو را به همراه غذاهای چرب مصرف کند، زیرا چربی، جذب دارو را از راه دستگاه گوارش افزایش می‌دهد. گریزئوفولوین به صورت قرص‌های ۱۲۵ میلی‌گرمی موجود و میزان مصرف آن برای درمان کچلی در انسان برابر ۱۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن است. استفادهٔ موضعی از ترکیبی به نام کاپتان[3] نیز نتایج درمانی خوبی به همراه داشته است. استفاده از ترکیبات کراتولیتیک نظیر اسید سالسیلیک و اسید بنزوئیک نیز برای درمان کچلی گاو موفقیت‌آمیز بوده است. افزودن سولفور به غذای گاو به میزان ۴ گرم در روز به مدت ۶ هفته نتایج درمانی مناسبی داشته است. ترکیبات ایمیدازول نیز در درمان درماتوفیتوزیس مؤثر هستند. از ترکیبی به نام ناتامایسین[4] که یک آنتی‌بیوتیک ضد قارچ است، برای زدودن آلودگی محیط زیست دام و وسایل استفاده می‌شود. این ترکیب اثر سمّی و کشنده‌ای برای دام‌ها و انسان ندارد، در شیر و گوشت ظاهر نمی‌شود و غیر محرک است و سریع اثر می‌کند. برای استفاده از ناتامایسین، سوسپانسیون محتوی ۱۰ قسمت در

1- Griseofulvin
2- Fungistatic
3- Captan
4- Natamycin

میلیون[1] از آن را در یک فرمولاسیون اسیدی تهیه و با فشار ۴ الی ۵ اتمسفر دوبار به فاصلهٔ ۴ روز روی بدن تمام گاوها، اعم از مبتلا و غیر مبتلا، اسپری می‌کنند.

**آسپرژیلوزیس**

تاکنون صدها گونه از جنس *آسپرژیلوس*[2] شناسایی شده‌اند که بیشتر آنها جزو ساپروفیت‌های محیطی هستند. *آسپرژیلوس فومیگاتوس*[3] عامل ۹۰ تا ۹۵ درصد از موارد ابتلا به آسپرژیلوزیس[4] در حیوانات است. سایر گونه‌های بیماری‌زای *آسپرژیلوس* در حیوانات و انسان شامل *آسپرژیلوس نایجر*[5]، *آسپرژیلوس فلاووس*[6]، *آسپرژیلوس ترئوس*[7] و احتمالاً *آسپرژیلوس نیدولانس*[8] هستند. *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*[9] می‌توانند مایکوتوکسین‌هایی به‌نام آفلاتوکسین و سیکلوپیازونیک اسید تولید کنند و عامل ایجاد آفلاتوکسیکوزیس[10] در حیوانات هستند. بیشتر گونه‌های *آسپرژیلوس* در شاخهٔ قارچ‌های ناقص طبقه‌بندی شده‌اند. با این‌حال مرحلهٔ تولید مثل جنسی در تعداد اندکی از گونه‌ها نظیر *آسپرژیلوس نیدولانس* گزارش شده است که با تولید آسک و آسکوسپور مشخص می‌شود. گونه‌های *آسپرژیلوس* به‌طور سریع رشد و ریسه‌هایی با دیوارهٔ عرضی تولید می‌کنند. رنگ پرگنه برحسب گونه از سبز مایل به آبی تا زرد و حتی سیاه متغیر است. این رنگ ناشی از تولید کونیدیوم‌های پیگمانته است. در زیر میکروسکوپ، زنجیره‌هایی از کونیدیوم‌های بیضی تا کروی شکل کوچک با قطر حدوداً ۳ میکرومتر از فیالیدهای مستقر روی وزیکول (انتهای متورم کونیدیوفور) تولید و دیده می‌شوند. گونه‌های *آسپرژیلوس* عامل ایجاد گسترهٔ وسیعی از بیماری‌ها، مواردی از مایکوتوکسیکوز[11] و عوارض آلرژیک هستند.

**زیستگاه طبیعی**

گونه‌های *آسپرژیلوس* اصطلاحاً همه‌جایی[12] هستند و به طور معمول در سراسر جهان از

1- ppm
2- *Aspergillus*
3- *Aspergillus fumigatus*
4- Aspergillosis
5- *Aspergillus niger*
6- *Aspergillus flavus*
7- *Aspergillus terreus*
8- *Aspergillus nidulans*
9- *Aspergillus parasiticus*
10- Aflatoxicosis
11- Mycotoxicosis
12- Ubiquitous



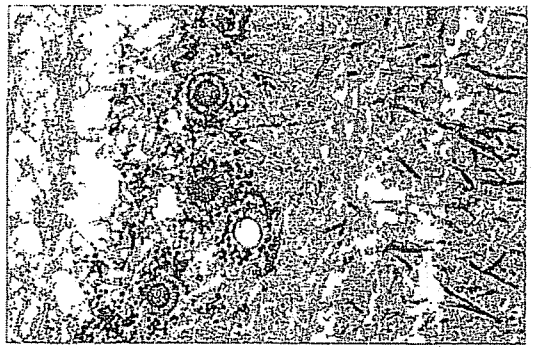
خاک، هوا و گیاهان جداسازی می‌شوند. این گروه از قارچ‌ها جزو شایع‌ترین آلوده‌کننده‌های آزمایشگاهی‌اند. برخی از گونه‌های *آسپرژیلوس* حتی از آب مقطر استریل نیز جداسازی شده‌اند و به همین دلیل اصطلاحاً به آنها جن بطری[1] گفته می‌شود.

**بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی**

گونه‌های *آسپرژیلوس* بویژه گونهٔ *فومیگاتوس* بیماری‌های زیادی شامل عفونت‌های دستگاه تنفس، دستگاه گوارش، چشم، مغز و عفونت‌های سیستمیک و جلدی در حیوانات و انسان تولید می‌کنند. *آسپرژیلوس فومیگاتوس* ترکیبات گوناگونی نظیر انواع همولیزین[2]، آنزیم‌های پروتئولیتیک و سایر ترکیبات سمی تولید می‌کند که نقش دقیق آنها در پاتوژنز آسپرژیلوزیس نامشخص است. بیماری عموماً از راه استنشاق یا بلعیدن کونیدیوم‌های هوابرد[3] قارچ آغاز می‌شود. شایع‌ترین فرم بیماری در حیوانات و انسان، عفونت دستگاه تنفس است که در پرندگان، پنومونی قارچی[4] نامیده می‌شود. در طول زمانی که ریه عفونی است، ترشحات چرکی در برونشیول‌ها انباشته می‌شوند و عفونت از راه تهاجم و ورود قارچ به عروق خونی در سرتاسر بدن گسترش می‌یابد. عفونت ریوی در پرندگان گوناگون نظیر ماکیان، بوقلمون، اردک، غاز، کبوتر، کلاغ، بلدرچین، فلامینگو، پنگوئن، شترمرغ، قناری و تعدادی از پرندگان وحشی گزارش شده است. این پنومونی در جوجه‌های ۱ تا ۳ روزه بیشتر دیده می‌شود و جوجه‌های ۳ تا ۴ هفته‌ای معمولاً به صورت اپیدمی (همه‌گیر) به بیماری مبتلا می‌شوند. عفونت از راه آلودگی سطحی تخم مرغ‌ها به کونیدیوم‌های *آسپرژیلوس* در داخل ستر یا هچری پخش می‌گردد. در این شرایط، قارچ در طی انکوباسیون به داخل تخم مرغ نفوذ می‌کند و پس از استقرار روی پرده‌های جنینی، زرده را به رنگ سبز تغییر می‌دهد و جنین را نابود می‌کند. در صورت جابه‌جایی تخم مرغ‌های آلوده و شکستن آنها در داخل هچری، عفونت انتقال و گسترش می‌یابد. در صورتی که جنین آلوده نمیرد و به جوجه تبدیل شود، جوجهٔ آلوده عفونت را به جوجه‌های پیرامون خود منتقل خواهد کرد. تنفس سریع با دهان باز، ترشحات چشم و بینی،

1- Bottle imp
2- Haemolysins
3- Airborne conidia
4- Mycotic pneumonia or pneumomycosis

خواب آلودگی، افسردگی، بی‌اشتهایی، اختلال در بلعیدن غذا، سیانوزه شدن نوک و در مراحل پایانی، تب، لاغری، توقف رشد و اسهال از نشانه‌های اصلی بالینی در پرندگان مبتلا به بیماری هستند. معمولاً پرندگان مسن بویژه بوقلمون‌ها به فرم مزمن بیماری دچار می‌شوند، و علایمی نظیر بی‌اشتهایی، اشکال در تنفس، کاهش تخم‌گذاری و اسهال مشاهده می‌شود. از مشخصات اصلی فرم تنفسی آسپرژیلوزیس در پرندگان، ایجاد گرانولوم‌های آسپرژیلوسی به صورت ندول‌های خاکستری مایل به زرد[1] در بسیاری از ارگان‌ها (اندام‌ها) بویژه در ریه‌ها و کیسه‌های هوا است. در صورتی که قارچ به فضاهای خالی بدن نظیر کیسه‌های هوا در پرندگان راه یابد، سرهای زایشی تغییر شکل یافته نیز تولید خواهد شد (تصویر ۱-۶).



**تصویر ۱-۶- *آسپرژیلوس فومیگاتوس*: کیسهٔ هوای عفونی در یک قو[2] که دارای ریسه‌های تقسیم‌شونده و سرهای زایشی است (رنگ آمیزی گوموری متنامین سیلور، بزرگ‌نمایی ۴۰۰×) [۲۹].**

*آسپرژیلوس فومیگاتوس* علاوه بر پنومونی جوجه‌ها، بیماری‌های فراوان دیگر را نیز در حیوانات ایجاد می‌کند که در جدول ۱-۴ خلاصه شده‌اند. مهم‌ترین فرم آسپرژیلوزیس در انسان همانند حیوانات، فرم ریوی است که به اشکال مختلف نظیر آسپرژیلوز ریوی آلرژیک[3]، آسپرژیلوما[4]، آسپرژیلوز نکروز دهندهٔ مزمن[5] و آسپرژیلوز مهاجم[6] دیده می‌شود. افراد مبتلا

1- Yellowish-gray nodules 2- Swan
3- Allergic bronchopulmonary aspergillosis 4- Aspergilloma
5- Chronic necroziting aspergillosis



به نقایص سیستم ایمنی و آنهایی که برای مدت‌های طولانی از آنتی‌بیوتیک‌های گوناگون استفاده می‌کنند، بیشتر در معرض ابتلا به بیماری هستند. عفونت‌های مهاجم از کانون اولیهٔ ریوی به پوست، سینوس‌های بینی، گوش خارجی، برونش‌ها، چشم، استخوان‌ها و پرده‌های مغز گسترش می‌یابند. در انسان نیز همانند حیوانات بیماری در پی استنشاق کونیدیوم‌های هوابرد قارچ ایجاد می‌شود.

**تشخیص آزمایشگاهی**

**نمونه‌های بالینی**

نمونه برحسب مورد از ندول‌های گرانولوماتوز، شیر، ضایعات جنین (پلاک‌های خاکستری رنگ جلدی یا محتوای معدهٔ جنین)، کوتیلودون‌های جفت، چشم (تراشه‌های قرنیه و پلاک‌های زرد رنگ چشمی)، پوست (تراشه‌های جلدی) و گرانولوم بینی (بیوپسی) تهیه می‌شود. از آنجا که اکثر گونه‌های *آسپرژیلوس* به عنوان ساپروفیت‌های فرصت طلب در طبیعت پراکنده‌اند، تایید حضور بیماری در حیوانات و انسان با نشان دادن قارچ در بافت‌های درگیر امکان‌پذیر خواهد بود. برای بررسی آسیب‌شناسی بهتر است نمونهٔ بافتی تهیه شود. برای مثال، در گرانولوم بینی، جداسازی *آسپرژیلوس فومیگاتوس* از کشت ترشحات بینی چندان مهم نیست و نتیجه به سختی تفسیر می‌شود، در حالی‌که دیدن ریسه‌های تقسیم‌شونده با انتهای دو شاخه[7] در مقاطع بافتی تهیه شده از نمونهٔ بیوپسی بسیار مهم است.

6- Invasive aspergillosis 7- Dichotomus hyphae

**جدول ۱-۴-بیماری‌های ناشی از *آسپرژیلوس فومیگاتوس* در حیوانات [۲۹].**

| میزبان | بیماری‌ها |
|---|---|
| اسب | عفونت‌های چشمی (درگیری قرنیه)<br>عفونت جیب حلقی[1]<br>گرانولومای بینی[2]<br>عفونت‌های گوارشی در کره اسب‌ها |
| سگ | اوتیت خارجی[3]<br>رینیت مزمن<br>عفونت منتشر شده با ترومبوز عروقی (در برخی موارد) |
| گاو | سقط جنین قارچی<br>پنومونی قارچی<br>ورم پستان (ایجاد آبسه و گرانولوم در غدد پستانی)<br>عفونت گوارشی در گوساله‌ها |
| پرندگان (پرندگان اهلی، پرندگان وحشی، پرندگان آبزی، پنگوئن و غیره | پنومونی جوجه‌ها[4]<br>پنومونی و عفونت‌های حاد و مزمن کیسه‌های هوایی<br>عفونت منتشر شده (ایجاد ندول‌های زردرنگ در اندام‌های بدن) |
| سایر حیوانات | پنومونی قارچی<br>عفونت‌های سطحی پوست<br>عفونت‌های چشمی (درگیری قرنیه)<br>مایکوتوکسیکوزیس (آفلاتوکسین‌ها، مایکوتوکسین‌های رعشه‌آور و غیره) |

1- Guttural pouch mycosis
2- Nasal granulomas
3- Otitis externa
4- Brooder pneumonia



**بررسی میکروسکوپی مستقیم**

تراشه‌های جلدی و سایر نمونه‌ها را می‌توان پس از شفاف کردن با پتاس ۱۰ درصد در زیر میکروسکوپ بررسی کرد. بررسی مقاطع آسیب‌شناسی نیز مفید است. این مقاطع را می‌توان به روش‌های پریودیک اسید شیف[1] یا گوموری متنامین سیلور[2] رنگ‌آمیزی و از نظر وجود ریسه‌های تقسیم‌شونده با انشعابات دو شاخهٔ انتهایی بررسی کرد (تصاویر ۱-۶ و ۱-۷).



**تصویر ۱-۷-*آسپرژیلوس فومیگاتوس*: ریسه‌های تقسیم‌شونده با انشعابات دو شاخهٔ انتهایی در مقطع بافت ریهٔ تهیه شده از یک اسب مبتلا به پنومونی قارچی[3] (رنگ آمیزی PAS، بزرگ‌نمایی ۴۰۰×) [۲۹].**

**جداسازی و شناسایی**

برای جداسازی گونه‌های *آسپرژیلوس* می‌توان از محیط کشت سابورو دکستروز اگار واجد یا فاقد کلرامفنیکل (۰/۰۵ گرم در لیتر) استفاده کرد. آسپرژیلوس‌ها غالباً نسبت به سیکلوهگزامید حساس‌اند. بخش کوچکی از نمونه (تراشه‌های جلدی، بافت، ...) را به داخل محیط کشت تلقیح می‌کنند و کشت‌ها را از جهت وجود داشتن *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و سایر آسپرژیلوس‌های عامل عفونت‌های حیوانی، به مدت ۵ روز در شرایط هوازی و در دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند. پرگنه‌های *آسپرژیلوس* معمولاً طی ۲ تا ۳ روز در سطح

1- Periodic acid schiff (PAS)
2- Gomori methenamine silver (GMS)
3- Equine mycotic pneumonia

محیط کشت ظاهر می‌شوند. گونهٔ *فومیگاتوس* تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد نیز رشد می‌کند. گونه‌های *آسپرژیلوس* با ویژگی‌هایی نظیر ظاهر پرگنه، منظرهٔ میکروسکوپی و آزمون‌های سرم‌شناسی شناسایی می‌شوند. ویژگی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی گونه‌های مهم *آسپرژیلوس* در فصل سوم به تفضیل بررسی شده است. به‌طور کلی، در شناسایی گونه‌های *آسپرژیلوس* ویژگی‌هایی نظیر رنگ پرگنه، اندازه و حالت دیوارهٔ کونیدیوفور، شکل و اندازهٔ وزیکول، بودن یا نبودن متولا، وضعیت فیالیدها، اندازه، شکل و ظاهر کونیدیوم‌ها و طول زنجیرهٔ کونیدیوم به همراه شکل سلول پایه مهم هستند. در آزمون‌های سرم شناسی، کیت‌های تجاری ایمونودیفیوژن[1] در دسترس هستند و نتایج باید با احتیاط تفسیر شوند.

**کنترل و پیشگیری**

با ضدعفونی کردن پی در پی جایگاه‌های نگهداری دام و نگهداری علوفه در شرایط مناسب برای جلوگیری از کپک زدن آنها، غلظت کونیدیوم‌های هوابرد *آسپرژیلوس* کاهش می‌یابد. اصولاً کنترل و پیشگیری دربارهٔ عفونت پنومونی جوجه‌ها است. در این‌باره، استفاده از گاز فرمالین(فرمالین + پرمنگنات) و محلول سولفات مس ۵ در هزار برای ضدعفونی‌کردن جایگاه در کارخانجات جوجه‌کشی پیشنهاد می‌شود. همچنین، از اسپری اینوکونازول[2] به میزان ۱/۵ گرم به ازای هر مترمربع آشیانه نیز می‌توان استفاده کرد که در این حالت تلفات به میزان زیادی کاهش می‌یابد. افزودن ترکیبی به نام هامایسین[3] به آب آشامیدنی پرندگان برای کنترل و پیشگیری آسپرژیلوزیس موفقیت‌آمیز بوده است.برای پیشگیری از آسپرژیلوزیس، سوزاندن بستر آلوده، شستشو و ضدعفونی کردن دانخوری و آبخوری‌ها، جمع‌آوری منظم و پی در پی تخم‌مرغ‌ها، ضدعفونی کردن وسایل حمل و نقل تخم‌مرغ ، شستشو و ضدعفونی کردن قسمت‌های مختلف ماشین جوجه‌کشی پس از هر بار استفاده، اجتناب از خریداری دان کپک‌زده و نگهداری دان در شرایط مناسب پیشنهاد می‌شود.

1- Commercial immunodiffusion kits
2- Inoconazole
3- Hamycin



**درمان**

درمان پنومونی جوجه‌ها، در موارد حاد غیرممکن است و در موارد مزمن نیز غالباً با شکست روبه‌رو می‌شود. در صورتی که سن جوجه‌ها کمتر از یک هفته و شدت آلودگی زیاد باشد، تمام گله و گروه جوجه‌ها باید نابود شوند. اما در صورتی که شدت آلودگی کم باشد، جداسازی جوجه‌های آلوده، برداشتن بستر و ضدعفونی کردن سالن با محلول سولفات مس ۱ درصد یا بخار فرمالین و درمان گله با داروهای ضد قارچی نظیر نیستاتین[1]، آمفوتریسین B[2] و تریکومایسین پیشنهاد می‌شود.افزودن مایکواستاتین (نیستاتین) و املاح سدیم و کلسیم پروپیونات و ویوله‌دوژانسین به غذا و سولفات مس یک در دو هزار به آب آشامیدنی پرندگان، از رشد قارچ‌ها به‌طور مؤثری جلوگیری خواهد کرد. رزینت مزمن آسپرژیلوسی در سگ با جراحی و جدا کردن بافت‌های آلوده و در پی آن تجویز داروهای ضد قارچی موضعی نظیر نیستاتین و لوگل ۱ درصد درمان می‌شود. برای درمان ورم پستان آسپرژیلوسی گاو، داروهای ضد قارچی موضعی مانند نیستاتین و کلوتریمازول را مستقیماً در داخل کارتیه‌های پستانی تزریق می‌کنند. نام‌ها و شکل‌های تجاری این نوع داروها در لیست پمادهای پستانی آمده است.

**کاندیدیازیس**

تا کنون بیش از ۱۵۰ گونه در جنس مخمّری *کاندیدا*[3] شناسایی شده‌اند که در این میان، تنها گونهٔ *آلبیکنس*[4] به‌طور معمول در حیوانات بیماری‌زا است. *کاندیدا آلبیکنس* به صورت سلول‌های مخمّری جوانه‌دار بیضی شکل با ابعاد ۳/۵ تا ۶ در ۶ تا ۱۰ میکرون در محیط‌های کشت جامد و در داخل بافت‌های حیوانات رشد می‌کند. این قارچ در داخل بافت‌های آلوده، ریسهٔ کاذب[5] نیز ایجاد می‌کند. در پی جوانه‌زدن مکرر، بدون جدا شدن جوانه‌ها از یکدیگر ریسهٔ کاذب تولید می‌شود. این ریسه‌ها با ریسه‌های حقیقی قارچ‌های رشته‌ای اشتباه گرفته می‌شوند.

1- Nistatin
2- Amphotericin B
3- *Candida*
4- *Candida albicans*
5- Pseudohypha

*کاندیدا آلبیکنس*، در شرایط خاص آزمایشگاهی، لولهٔ زایا[1] و کلامیدوسپورهای انتهایی[2] تولید می‌کند. این مخمّر روی محیط‌های معمول آزمایشگاهی در pH و دمای مناسب رشد می‌کند. پرگنه‌های قارچ در دو دمای ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد به رنگ سفید درخشان و اندکی برآمده‌اند. این پرگنه‌ها در عرض ۲۴ تا ۴۸ ساعت در سطح محیط کشت ظاهر می‌شوند. سایر گونه‌های *کاندیدا* نظیر *کاندیدا تروپیکالیس*[3]، *کاندیدا پاراپسیلوزیس*[4]، *کاندیدا گیلرموندی*[5]، *کاندیدا کروزئی*[6]، *کاندیدا لوسیتانی*[7] و غیره نیز به میزان کمتری در سبب‌شناسی کاندیدیازیس نقش دارند.

**زیستگاه طبیعی**

*کاندیدا آلبیکنس* بخشی از فلور طبیعی نواحی جلدی ـ مخاطی بویژه دستگاه تناسلی بسیاری از حیوانات و انسان است. انواع کاندیدیازیس[8] غالباً منشأ داخلی (ناشی از مهاجم شدن فلور طبیعی بدن) دارند و به زمینه‌سازهایی نظیر سرکوب سیستم ایمنی، مصرف طویل المدت آنتی‌بیوتیک‌ها، بدخیمی‌ها و سوءتغذیه مربوط هستند. مخمّر از طریق پمادهای پستانی آلوده به غدد پستانی گاو راه می‌یابد و بافت پستان را متورم می‌کند. *کاندیدا آلبیکنس* در جهان پراکنده و وجود آن تقریباً از تمام نقاط دنیا گزارش شده است. حیوانات و انسان به هنگام تولد و عبور از کانال زایمان، *کاندیدا آلبیکنس* را از ناحیهٔ واژن مادر می‌گیرند. *کاندیدا آلبیکنس* به‌ندرت از خاک‌های آلوده به مدفوع حیوانات و انسان جداسازی می‌شود. ظاهر شدن کاندیدیازیس در انسان به عواملی نظیر نوتروپنی، برهم خوردن فلور باکتریایی مخاط‌های گوارشی و دهان، افزایش رطوبت، تومورهای بدخیم، مصرف سیگار و الکل و ایدز وابسته است.

**بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی**

*کاندیدا آلبیکنس* دارای انواع پروتئاز[9]، استراز[10] و نورآمینیداز[11] است که در بیماری‌زایی و

1- Germ tube
2- Terminal chlamidospore
3- *Candida tropicalis*
4- *Candida parapsilosis*
5- *Candida guillermondi*
6- *Candida krusei*
7- *Candida lusitani*
8- Candidiasis
9- Proteases
10- Esterases
11- Neuraminidase



حدت قارچ نقش بسزایی دارند. همچنین، گلیکوپروتئین‌های دیوارهٔ سلولی قارچ فعالیت شبه اندوتوکسینی[1] دارند. سلول‌های مخمّری قارچ در زمان تهاجم به بافت، جوانه می‌زنند و لولهٔ زایا و ریسه تولید می‌کنند. در حقیقت ریسه‌ها به درون بافت‌های گوناگون نفوذ و عوارض بیماری را ایجاد می‌کنند. پاسخ‌های التهابی میزبان در برابر این گونه عفونت‌ها اغلب از نوع نوتروفیلیک است و ضایعات گرانولوماتوز به ندرت دیده می‌شوند. به همین دلیل، همانند آسپرژیلوزیس و زایگومایکوزیس، نقش اصلی مقابله با بیماری برعهدهٔ دفاع غیراختصاصی فاگوسیتوز بوده و ایمنی سلولی تنها در موارد کاندیدیازیس موضعی مهم است. عفونت‌های ناشی از *کاندیدا آلبیکنس* نام‌های مختلفی شامل کاندیدیازیس[2]، کاندیدوزیس[3] و مونیلیازیس[4] دارند. *کاندیدا آلبیکنس* بیماری‌های زیادی در حیوانات ایجاد می‌کند (جدول ۱ـ۵). در عفونت‌های شدید و مزمن نظیر عفونت چینه‌دان[5] در پرندگان، که غالباً با بروز مشکل در دهان، پیش معده و سنگدان نیز همراه است، دیوارهٔ چینه‌دان ضخیم و از یک لایهٔ کاذب نکروزهٔ خاکستری مایل به زرد رنگ پوشیده می‌شود. در این شرایط، چینه‌دان ظاهری ویژه به‌نام تریتاولینگ[6] پیدا می‌کند. عفونت چینه‌دان در پرندگان یا همان کاندیدیازیس پرندگان به عواملی نظیر مصرف دراز مدت آنتی‌بیوتیک‌ها، استرس، کوکسیدیوز و سوءتغذیه مربوط و در پرندگان گوناگون نظیر مرغ و خروس، کبوتر، بوقلمون، طوطی، بلدرچین و غیره گزارش شده است. بیماری عموماً در سن یک تا دو هفتگی ظاهر می‌شود و با علایمی نظیر بی‌اشتهایی، کاهش رشد و وزن، اسیدی شدن محتویات چینه‌دان، تورم جلد در ناحیهٔ پشت ران و در موارد پیشرفته با توقف جذب مواد غذایی، اسهال شدید و مشکلات ریوی همراه است. درکالبدگشایی، ضخیم بودن دیوارهٔ چینه‌دان دیده می‌شود. کاندیدیازیس در دام‌های بزرگ به صورت‌های گوناگون شامل ورم پستان در گاو، ضایعات گوارشی در گوساله‌ها و کره‌اسب‌ها، عفونت‌های تناسلی در اسب و ماده سگ و عفونت‌های جلدی ـ مخاطی در پستانداران دریایی ظاهر می‌شود. کاندیدیازیس در انسان نیز از بیماری‌های قارچی بسیار مهم است. که به‌صور جلدی (اونیکومایکوزیس، اینترتریگو و

1- Endotoxin-like activity
2- Candidiasis
3- Candidosis
4- Moniliasis
5- Crop infection
6- Terry-towelling

گرانولوم کاندیدایی)، جلدی ـ مخاطی (برفک دهان، درگیری گوشه‌های لب، واژینیت، بالانیت، مشکلات ریوی و مخاط‌های گوارشی و فرم جلدی ـ مخاطی مزمن)، سیستمیک (پیلونفریت، اندوکاردیت، اندوفتالمیت، مننژیت و سپتی‌سمی) و آلرژیک (وزیکول‌های استریل بین انگشتی، اگزما، آسم و ورم معده) دیده می‌شود.

**جدول ۱ـ۵ـ بیماری‌های ناشی از *کاندیدا آلبیکنس* در حیوانات [۲۹].**

| میزبان | بیماری |
|---|---|
| پرندگان (جوجه، بوقلمون، کبوتر و...) | برفک دهان، مری، وچینه‌دان (مرگ و میر در پرندگان جوان) |
| کره اسب | ضایعات گوارشی بویژه زخم‌های معده |
| اسب (مادیان و یابو) | عفونت‌های دستگاه تناسلی |
| گوساله | عفونت‌های ریوی (پنومونی)، گوارشی و منتشر شده |
| گاو | ورم پستان (خفیف و خود محدودگر: در طی ۱ هفته خود به خود بهبود می‌یابد) |
| بچه‌گربه و توله سگ | التهاب محوطهٔ دهانی [1] |
| بچه‌گربه | آنتریت (ورم و التهاب روده) |
| ماده سگ | عفونت‌های دستگاه تناسلی |
| سگ سانان | عفونت‌های منتشر شده با درگیری عضلات، استخوان‌ها و گاه پوست |
| گربه سانان | پیوتوراکس [2] |
| پستانداران (انواع اولیه و دریایی) | کاندیدیازیس جلدی ـ مخاطی [3] |

1- Stomatitis 2- Pyothorax 3- Mucocutaneous candidiasis



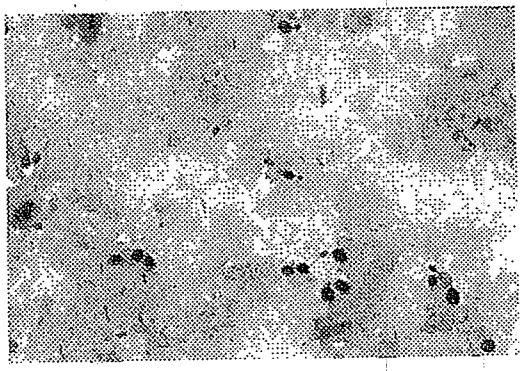
**تشخیص آزمایشگاهی**

**نمونه‌های بالینی**

نمونه برحسب مورد شامل تراشه‌های جلدی، شیر، خون، ترشحات برونشی، خلط و نمونه‌های بیوپسی یا بافت است. نمونه‌های بیوپسی باید در دو قسمت یکی در سرم فیزیولوژی استریل (جهت کشت و وبررسی میکروسکوپی مستقیم ) و دیگری در فرمالین ۱۰ درصد (به منظور بررسی آسیب‌شناسی) به آزمایشگاه فرستاده شوند.

**بررسی میکروسکوپی مستقیم**

*کاندیدا آلبیکنس* به شکل سلول‌های مخمّری جوانه‌دار ارغوانی ـ آبی رنگ در نمونه‌های رنگ آمیزی شده به‌روش گرم دیده می‌شود (تصویر ۱ـ۸). این قارچ در مقاطع بافتی به شکل سلول‌های مخمّری جوانه‌دار بیضی شکل و ریسهٔ کاذب دیده می‌شود. همچنین، گسترش‌های مستقیم تهیه شده از پوسته‌های آلوده به قارچ به روش پتاس، دارای ریسه‌های تقسیم شونده بدون انشعاب، ریسهٔ کاذب و سلول‌های مخمّری جوانه‌دار هستند.



**تصویر ۱ـ۸ـ *کاندیدا آلبیکنس* در گسترش تهیه شده از نمونه مدفوع یک کوساله؛ سلول‌های مخمّری جوانه‌دار تیره‌رنگ مشاهده می‌شوند (رنگ آمیزی گرم ، بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰×) [۲۹].**

**جداسازی و شناسایی**

*کاندیدا آلبیکنس* روی محیط‌های کشت اگار خون‌دار و سابورو دکستروز اگار به خوبی

رشد می‌کند. تمام گونه‌های *کاندیدا* به‌جز گونه‌های *پاراپسیلوزیس*، *تروپیکالیس* و *کروزئی* نسبت به سیکلوهگزامید مقاوم هستند. از محیط مایکوبیوتیک اگار نیز برای جداسازی *کاندیدا آلبیکنس* استفاده می‌شود. نمونه‌های بالینی به صورت خطی روی پلیت‌های دارای محیط کشت تلقیح و در شرایط هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت حداکثر ۵ روز نگهداری می‌شوند. پرگنه‌های *کاندیدا آلبیکنس* معمولاً طی ۱ تا ۳ روز اول در سطح محیط کشت ظاهر می‌شوند. این پرگنه‌ها رنگ سفید مایل به کرم درخشان یا کدر و سطح محدّب و برآمده دارند و بوی خاص عصارهٔ جو[1] می‌دهند. قطر پرگنه به‌طور متوسط ۴ تا ۵ میلی‌متر است. در زیر میکروسکوپ، این مخمّر در گسترش‌های مرطوب تهیه شده با لاکتوفنل کاتن بلو یا گسترش‌های رنگ آمیزی شده با گرم یا متیلن بلو به صورت سلول‌های مخمّری جوانه‌دار با دیوارهٔ سلولی نازک است. *کاندیدا آلبیکنس* لولهٔ زایا و کلامیدوسپور، که از ویژگی‌های مهم در تشخیص این مخمر هستند، تولید می‌کند. آزمون‌های بیوشیمیایی، نظیر آزمون جذب کربوهیدرات‌ها نیز برای شناسایی مخمّر استفاده می‌شود. از محیط‌های کشت بیسموت ـ سولفیت ـ گلوکز ـ گلایسین ـ مخمّر اگار[2] و کروم اگار *کاندیدا*[3] برای جداسازی و شناسایی گونه‌های *کاندیدا* به‌کار گرفته می‌شوند. *کاندیدا آلبیکنس* روی محیط اوّل، پرگنه‌های صاف گرد قهوه‌ای رنگ با حاشیهٔ سفید تولید می‌کند و هیچ نوع رنگدانهٔ اختصاصی در محیط اطراف آزاد نمی‌کند. از محیط کشت کروم اگار *کاندیدا* نیز برای تفکیک *کاندیدا آلبیکنس* از گونهٔ بسیار مشابهی به‌نام *کاندیدا دوبلینینسیس* استفاده می‌شود. دربارهٔ روش‌های شناسایی گونه‌های *کاندیدا* و ظاهر ماکرو و میکروسکوپی این مخمّرها در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفضیل بحث شده است.

**درمان**

واژینیت‌های کاندیدایی (در حیواناتی مثل مادیان و ماده سگ، مطابق جدول ۱-۵) با پمادهای واژینال دارای ترکیبات ضدقارچی نظیر نیستاتین و کلوتریمازول درمان می‌شود.

1- Pleasant«beery» smell
2- Bismuth-sulphite-glucose-glycine-yeast agar
3- CHROM agar *Candida*



کاندیدیازیس دهان، مری و چینه‌دان با قطرهٔ نیستاتین و کریستال ویولهٔ ۱ درصد درمان می‌شود. ورم‌های پستانی کاندیدایی نیز با پمادهای پستانی حاوی نیستاتین و سایر ترکیبات ضد قارچ درمان می‌شوند. برای درمان فرم‌های منتشر شدهٔ کاندیدیازیس، از ترکیب دو داروی آمفوتریسین B و فلوسایتوزین یا از داروی کتوکونازول استفاده می‌شود. درمان، در تمام موارد باید تا محوشدن کامل نشانه‌های بالینی ادامه یابد.

**کریپتوکوکوزیس**

کریپتوکوکوزیس یک عفونت قارچی حاد یا مزمن است که عموماً سیستم عصبی مرکزی، دستگاه تنفس و چشم‌ها را مبتلا می‌سازد. این بیماری، به‌نام‌های تورولوزیس[1] و بلاستومایکوز اروپایی[2] نیز خوانده می‌شود. بیماری مزبور با جنس قارچی کریپتوکوکوس ایجاد می‌شود که در این میان، تنها گونهٔ *نئوفورمنس*[3] از نظر بیماری‌زایی در حیوانات و انسان مهم است. البته دو گونهٔ *آلبیدوس*[4] و *لائورنتی*[5] نیز از مواردی از عفونت‌های انسانی جداسازی شده‌اند. کریپتوکوکوس *نئوفورمنس* یک مخمّر جوانه‌دار کروی تا بیضی شکل با دیوارهٔ سلولی نازک و قطر بسیار متغیر (بین ۲/۵ تا ۲۰ میکرون) است. سلول‌های مخمّری این قارچ با یک کپسول پلی‌ساکاریدی موکوئید احاطه شده‌اند که این کپسول در داخل بافت‌های حیوانات بسیار بزرگ و قطر آن بیش از قطر سلول مادر می‌شود. سلول‌های دختر (جوانه‌ها) معمولاً به فرم تنها با یک اتصال باریک به سلول مادر متصل‌اند. کریپتوکوکوس *نئوفورمنس* در شرایط تجربی، مرحلهٔ کامل بازیدیومیستی دارد که اصطلاحاً *فیلوبازیدیلّا نئوفورمنس*[6] نامیده می‌شود.

**زیستگاه طبیعی**

کریپتوکوکوس *نئوفورمنس* در داخل گرد و غبار وجود دارد و از پوست، مخاط‌ها و دستگاه گوارش حیوانات و پرندگان سالم جداسازی شده است. این قارچ دو واریته به نام‌های *نئوفورمنس* (سروتیپ‌های A و D) و *گاتی* (سروتیپ‌های B و C) دارد که به ترتیب در مدفوع کبوتر و درخت اکالیپتوس (گونهٔ *کامالدولنسیس* و چندگونهٔ دیگر) یافت می‌شوند. قارچ مزبور از

1- Torulosis
2- European blastomycosis
3- *Cryptococcus neoformans*
4- *Cryptococcus albidus*
5- *Cryptococcus laurenti*
6- *Filobasidiella neoformans*

کراتینین [1] موجود در مدفوع کبوتر به عنوان منبع تغذیه استفاده می‌کند. کریپتوکوکوس نئوفورمنس در جهان گسترده است و در داخل مدفوع کبوتر در شرایط مناسب حتی به مدت بیش از یک سال نیز می‌تواند زنده بماند. تمامی سروتیپ‌های قارچ برای حیوانات و انسان بیماری‌زا هستند. عامل بیماری در شرایط تجربی تا دو سال روی فضولات پرندگان زنده می‌ماند. محققان معتقدند که آمیب‌های خاکزی نظیر *آکانتامویا پلی‌فاگا* [2] باکریپتوکوکوس رقابت دارند و حتی قارچ را می‌بلعند. به همین دلیل، کریپتوکوکوس نئوفورمنس نمی‌تواند در خاک دوام داشته باشد. این مخمر در ایران از فضولات پرندگان در شهرهای مشهد، قم، تهران و مازندران جداسازی شده است.

**بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی**

کریپتوکوکوس نئوفورمنس (سلول‌های مخمری و بازیدیوسپورها) از راه دستگاه تنفس به بدن حیوانات و انسان وارد و در داخل ماکروفاژهای آلوئولار مستقر می‌شود. در صورت مساعد شدن شرایط، مخمر از طریق گردش خون ریه‌ها در بدن منتشر می‌شود و عمدتاً سیستم عصبی مرکزی را درگیر می‌سازد. حدّت کریپتوکوکوس نئوفورمنس به شدت به کپسول پلی‌ساکاریدی قارچ مربوط است. این کپسول خاصیت ضد فاگوسیتوز و سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی دارد. علاوه برکپسول و آنتی‌ژن‌های کپسولی (گلوکورونوزایلومانان، گالاکتوزایلومانان و مانوپروتئین‌ها)، توانایی رشد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و حضور آنزیم فنل اکسیداز [3] نیز در بیماری‌زایی کریپتوکوکوس نئوفورمنس نقش دارند. البته تاکنون آنزیم‌هایی نظیر اوره‌آز و پروتئاز و مواد شبه اندوتوکسینی را نیز از مخمر جداسازی کرده‌اند. ضایعات کریپتوکوکوسی ظاهری شبیه نئوپلاسم‌های میکزوماتوز [4] دارند. این ضایعات از کپسول، سلول‌های التهابی و در مراحل پیشرفته از هیستیوسیت‌ها، سلول‌های اپیتلیوئید و سلولهای غول‌پیکر تشکیل شده‌اند. کریپتوکوکوس نئوفورمنس غالباً در داخل ماکروفاژها و سلول‌های غول‌پیکر وجود دارد. همان‌طور که ذکر شد راه اصلی ورود عفونت معمولاً تنفسی

1- Creatinine 2- *Acantamoeba polyphaga* 3- Phenol oxidase
4- Myxomatous neoplasms



است و در این شرایط، قارچ پس از استقرار در حفرهٔ بینی و سینوس‌های پارانازال به مغز و پرده‌های مغزی گسترش می‌یابد. عفونت پرده‌های مغز به منشأ سلی شباهت دارد و گسترش عفونت به عصب بینایی به کوری می‌انجامد. کریپتوکوکوس نئوفورمنس احتمالاً تمام پستانداران را تحت تأثیر قرار می‌دهد، با این‌حال، کریپتوکوکوزیس غالباً در گربه، سگ، گاو، اسب و انسان پیش می‌آید. بیماری‌های ناشی از کریپتوکوکوس نئوفورمنس در حیوانات در جدول ۱ـ۶ خلاصه شده است. بیماری درگربه‌ها غالباً توأم با عفونت ناشی از ویروس لوکمی گربه [1] است. در فرم ریوی، خروج ترشحات موکوسی یا آبکی به صورت یک یا دو طرفه از بینی دیده می‌شود. ضایعات به‌صورت زخم در محل پوست بینی ایجاد و تورم سفت و بدون درد غدد تحت فکّی و عقب حلقی نیز دیده می‌شود. در فرم عصبی، آنسفالیت و منشأیت ظاهر می‌شود که با نشانه‌هایی نظیر افسردگی، آتاکسی(عدم تعادل)، چرخش به دور خود، نامساوی بودن قرنیه در دو چشم، فلج اندام حرکتی خلفی و در نهایت کوری کامل و از بین رفتن حس بویایی همراه است. شایع‌ترین فرم بیماری در گاو، ورم پستان کریپتوکوکوسی است که مزمن‌ترین نوع ورم پستان قارچی است و از راه شیر پاستوریزه به انسان منتقل نمی‌شود. در این شرایط، شیر حالت موکوئید پیدا می‌کند و تولید آن به شدت کاهش می‌یابد. در موارد بسیار نادر، عفونت از پستان به ریه‌ها متاستاز می‌دهد. عفونت در اسب به صورت گرانولوم‌های مترشحهٔ بینی ظاهر می‌شود و گاه عفونت‌های ریوی و جلدی نیز ظاهر می‌شوند. فرم جلدی در حیوانات و انسان به صورت پاپول، پوستول یا آبسه‌های زیرجلدی است و عفونت آن به استخوان‌ها نیز گسترش می‌یابد. کریپتوکوکوزیس در انسان عموماً به دو فرم عصبی(منشأیت) و ریوی است. به اعتقاد عموم محققان در این‌باره، به ازای هر یک مورد بیماری شناخته شده، حدود ۲۰۰۰ مورد عفونت ناشناخته وجود دارد. شایع‌ترین فرم درگیری عصبی در انسان به صورت منشأیت است که با علایمی نظیر سردردهای متناوب در یک دورهٔ زمانی طولانی ظاهر می‌شود. در صورتی که فرم عصبی بیماری در حیوانات و انسان به موقع تشخیص داده نشود، با ۱۰۰ درصد مرگ و میر

1- Feline leukemia virus

**جدول ۱-۶- بیماری های ناشی از** *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* **در حیوانات و انسان** [۲۱،۲۹].

| میزبان | بیماری |
|---|---|
| سگ و گربه | گرانولوم‌های زیر جلدی و بینی، ضایعات سیستم‌عصبی مرکزی (عمدتاً منتژیت) و کوری |
| اسب | گرانولوم‌های ترشح شده در بینی، گاه ضایعات ریوی و جلدی |
| گاو | ورم پستان مزمن (تورم شدید و سفتی غدد پستانی) |
| سایر حیوانات | عفونت در سایر حیوانات بسیار به‌ندرت پیش می‌آید |
| انسان | منتژیت کریپتوکوکوسی، عفونت‌های ریوی |

همراه خواهد بود. به همین دلیل، در بررسی‌های معمول آزمایشگاهی، به نمونه‌های مایع مغزی ـ نخاعی از نظر حضور *کریپتوکوکوس* نیز باید توجه داشت.

**تشخیص آزمایشگاهی**

**نمونه‌های بالینی**

برحسب مورد می‌توان از مایع مغزی ـ نخاعی، ضایعات و ترشحات جلدی، شیر و نمونه‌های بیوپسی و بافت به عنوان نمونه استفاده کرد. نمونه‌های بیوپسی و بافت باید در دو سری به طور جداگانه در سرم فیزیولوژی استریل (برای کشت و بررسی میکروسکوپی مستقیم) و فرمالین ۱۰ درصد (برای بررسی‌های آسیب‌شناسی) به آزمایشگاه فرستاده شوند.

**بررسی میکروسکوپی مستقیم**

مایع مغزی ـ نخاعی و ترشحات شفاف با جوهر هندی یا نیگروزین رنگ‌آمیزی و از نظر حضور سلول‌های مخمّری کپسول‌دار بررسی می‌شود. مقاطع بافت‌شناسی تهیه شده از بیوپسی ضایعات را به روش پریودیک اسید شیف با رنگ زمینهٔ هماتوکسیلین ـ ائوزین رنگ‌آمیزی و بررسی می‌کنند. در این روش، سلول‌های مخمّری کریپتوکوکوس به رنگ قرمز ـ



صورتی در می‌آیند، در حالی که کپسول رنگ نگرفته و به صورت یک هالهٔ شفاف در اطراف سلول‌های مخمّری دیده می‌شود. در روش رنگ‌آمیزی بافتی موسی کارمن مایر، کپسول مخمّر اختصاصاً به رنگ قرمز در می‌آید. نمونه‌های شیر، با سانتریفوژ تغلیظ و از رسوب به دست آمده برای بررسی مستقیم و کشت استفاده می‌شود.

**جداسازی و شناسایی**

*کریپتوکوکوس نئوفورمنس* روی محیط‌های کشت اگار خون‌دار و سابورو دکستروز اگار بدون سیکلوهگزامید به‌خوبی رشد می‌کند. نمونهٔ بالینی را به صورت خطی روی پلیت‌های دارای محیط کشت تلقیح کرده و به مدت ۲ هفته در شرایط هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند. اکثر گونه‌های ساپروفیت (غیربیماری‌زا) *کریپتوکوکوس* نمی‌توانند در این دما رشد کنند، در حالی که گونهٔ *نئوفورمنس* تا دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد نیز رشد خواهد کرد. ویژگی‌هایی نظیر ظاهر پرگنه، منظرهٔ میکروسکوپی (تولید سلول‌های مخمّری کپسول‌دار)، توانایی رشد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تولید رنگدانهٔ قهوه‌ای رنگ روی محیط‌های دارای ترکیب‌های دی‌فنل (تولید آنزیم فنل اکسیداز)، تولید آنزیم اوره‌آز، توانایی جذب کربوهیدراتهای مختلف در آزمون API 20C، بیماری‌زایی در موش سوری در تزریق داخل مغزی و صفاقی و آزمون‌های ایمونولوژیک نظیر اگلوتیناسیون ذرات لاتکس[1] و فلئورسانس آنتی‌بادی (جستجوی آنتی‌ژن مخمّر یا آنتی‌بادی‌های ضد قارچ در نمونه‌های سرم و مایع مغزی ـ نخاعی) در شناسایی *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* و عفونت‌های وابسته در حیوانات و انسان مهم هستند. دربارهٔ روش‌های شناسایی *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* و ظاهر ماکروومیکروسکوپی قارچ همراه با تصاویر اختصاصی بافتی در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفضیل بحث شده است.

**درمان**

درمان در شکل‌های پراکنده شدهٔ بیماری نظیر منتژیت ارزش ناچیزی دارد. برای درمان

1- Latex agglutination test

بیماری در سگ و گربه از تلفیقی از آمفوتریسین B و فلوسایتوزین استفاده می‌شود. در این‌باره، از فلوسایتوزین به میزان ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به مدت ۱ الی ۴ ماه و از آمفوتریسین B به میزان ۰/۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن در روز به مدت ۱ ماه استفاده می‌شود. عوارض جانبی آمفوتریسین B در سگ شامل لوکوپنی، ترومبوسیتوپنی و نوتروپنی است که به محض دیده شدن این علایم، باید درمان متوقف شود. در درمان گربه‌ها، از داروی کتوکونازول نیز استفاده شده است. در انسان، فرم عصبی با دارویی به نام فلوکونازول درمان می‌شود. از جمله مزایای این دارو، بالا بودن سطح مایع مغزی ـ نخاعی آن در مقایسه با آمفوتریسین B است. فرم جلدی کریپتوکوکوزیس با جراحی درمان می‌شود.

## پیتروسپوروزیس

### زیستگاه طبیعی

پیتروسپوروزیس[1] عفونت قارچی گوش خارجی در حیوانات بویژه در سگ‌ها و عامل ایجاد آن قارچی به نام *مالاسزیا پاکی‌درماتیس*[2] یا *پیتروسپوروم کانیس*[3] است. این قارچ یک مخمّر چربی‌گرای اختیاری و جزو فلور طبیعی پوست و گوش سگ، گربه و احتمالاً سایر حیوانات است و همان‌طور که ذکر شد، در ایجاد عفونت گوش خارجی در سگ نقش دارد. *مالاسزیا پاکی‌درماتیس* اولین بار از تراشه‌های جلدی ناحیهٔ گردن یک کرگدن در هندوستان جداسازی شد. این قارچ تاکنون از خوک، گربه، فیل هندی و انسان (موارد پسوریازیس و موزائیک فونگوئیدس)نیز جداسازی شده است.

### تشخیص آزمایشگاهی

#### نمونه‌های بالینی

تراشه‌های جلدی به دست آمده از گوش خارجی و مجرای گوش و ترشحات این نواحی در صورتی که موجود باشند، به‌عنوان نمونه بررسی می‌شوند.

1- Pityrosporosis  2- *Malassezia pachydermatis*  3- *Pityrosporum canis*



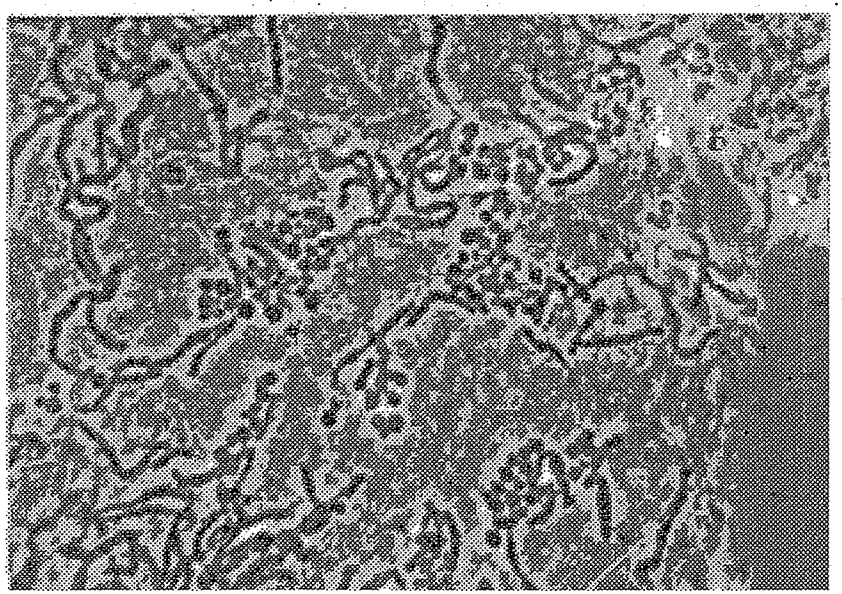
#### بررسی میکروسکوپی مستقیم

بیشتر استرین‌های *مالاسزیا پاکی‌درماتیس* به صورت سلول‌های مخمّری گرد تا بیضی شکل جوانه‌دار در نمونه‌های بالینی (پوسته‌ها و ترشحات گوش خارجی سگ‌های مبتلا) رنگ آمیزی شده به روش گرم و یا گیمسا، یا نمونه‌های شفاف شده با پتاس ۱۰ درصد هستند. *مالاسزیا فورفور* (عامل بیماری تینه‌آ ورسیکالر در انسان) به شکل میسلیوم‌های کوتاه و خمیده و دسته‌های سلول‌های مخمّری است که ظاهری شبیه اسپاگتی و تکه‌های گوشت[1] پیدا می‌کند (تصویر ۱ـ۹). تشخیص اولیه با توجه به ویژگی‌های ظاهری قارچ در لام مستقیم انجام می‌شود، با این‌حال، در تشخیص نهایی عفونت باید مخمّر از کشت جداسازی شود.

#### جداسازی و شناسایی

ترشحات گوش و تراشه‌های جلدی روی محیط سابورو دکستروز اگار تلقیح و کشت‌ها به مدّت ۲ هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند. افزودن یک لایه روغن زیتون یا روغن نارگیل استریل به سطح محیط کشت پیش از تلقیح نمونه، زمینه را برای رشد قارچ آماده‌تر خواهد کرد. پرگنه‌های *مالاسزیا پاکی‌درماتیس* صاف و کوچک‌اند و حاشیهٔ مشخصی دارند. محیط دیکسون تغییر یافتهٔ[2] دارای منابع چربی متفاوت است و ویژگی‌های ظاهری گونه‌های *مالاسزیا* از جمله گونهٔ *پاکی‌درماتیس* را به بهترین وجه نشان می‌دهد. سلول‌های مخمّری بطری شکل جوانه‌دار قارچ در گسترش‌های تهیه شده از پرگنه‌ها دیده می‌شوند. جوانه با اتصال پهن به سلول مادر متصل است. *مالاسزیا پاکی‌درماتیس* تنها گونه جنس *مالاسزیا* است که برای رشد به منبع چربی در محیط کشت نیازی ندارد.از آنجایی که قارچ نسبت به سیکلو هگزامید مقاوم است، افزودن این ترکیب به محیط‌های جداسازی و شناسایی، بسیار مناسب خواهد بود. از تست‌های کاتالاز و جذب انواع توئین‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ نیز می‌توان در تایید تشخیص *مالاسزیاپاکی‌درماتیس* بهره برد.

1- Spagetti and meat balls  2- Modified Dixon agar



**تصویر ۱-۹- منظرهٔ میکروسکوپی *مالاسزیا فورفور*؛ ریسه‌های کوتاه و خمیده به همراه دسته‌هایی از سلول‌های مخمری در نمونه‌های پوستهٔ شفاف شده با مخلوط پتاس و جوهر پارکر (بزرگ‌نمایی ۵۰۰ ×) [۱۵].**

### عفونت‌های مخمری کمیاب

این‌گونه عفونت‌ها به ندرت در حیوانات گزارش شده‌اند و اهمیت بالینی چندانی ندارند. در این بخش، دربارهٔ یک عفونت به نام ترایکوسپورونوزیس بحث خواهد شد.

### ترایکوسپورونوزیس

یک مخمر ساپروفیت به‌نام *ترایکوسپورون بژلی*[1] عامل این عفونت است و به صورت

1- *Trichosporon beigelii*



گرانولومای بینی و عفونت مثانه در گربه، عفونت‌های جلدی نظیر پیدرای سفید[1] در اسب و میمون و ورم پستان در گاو و گوسفند ظاهر می‌شود. نام دیگر این قارچ *ترایکوسپورون کوتانئوم*[2] است. گونهٔ دیگری از این قارچ به‌نام *ترایکوسپورون کپیتاتوم*[3] عامل ورم پستان در گاو است. گونه‌های *ترایکوسپورون* را می‌توان با آزمون جذب کربوهیدرات‌ها در سیستم تجارتی API 20 C شناسایی کرد.

### هیستوپلاسموزیس

هیستوپلاسموزیس[4] یک عفونت گرانولوماتوز منتشر مزمن است که عامل آن یک قارچ دوشکلی به نام *هیستوپلاسما کپسولاتوم*[5] است. نام‌های دیگر این بیماری، بیماری دارلینگ[6] و بیماری غار[7] است. عفونت ناشی از این بیماری در بسیاری از حیوانات و انسان پیش می‌آید؛ اما در سگ و گربه شایع‌تر است. *هیستوپلاسما کپسولاتوم*، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طبیعت، و در محیط‌های کشت به فرم میسلیومی، و در داخل بافت‌های زندهٔ حیوانات و انسان یا در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد روی محیط‌های کشت مغذّی به فرم مخمّری رشد می‌کند. این قارچ در طبیعت در مدفوع خفاش و پرندگانی نظیر سار و توکا و همچنین خاک‌های آلوده به مدفوع این حیوانات یافت می‌شود. هیستوپلاسموزیس در سرتاسر جهان بویژه در مناطق اندمیک شامل درّه میسی‌سیپی و رودخانهٔ اوهایو در ایالت متحده امریکا گزارش شده است. عفونت اغلب از طریق گردش خون ریوی در سراسر بدن منتشر می‌شود و چشم را نیز به کوریورتینیت[8] و اندوفتالمیت[9] مبتلا می‌کند. مواردی از سقط جنین، عفونت‌های ریوی، ضایعات پوستی و ضایعات دهانی نیز در حیوانات گزارش شده است.

#### نشانه‌های بالینی

نشانه‌های بیماری به علت درگیری اندام‌های مختلف بدن متغیر و غیراختصاصی هستند.

1- White piedra
2- *Trichosporon cutaneum*
3- *Trichosporon capitatum*
4- Histoplasmosis
5- *Histoplasma capsulatum*
6- Darling disease
7- Cave disease
8- Chorioretintis
9- Endophthalmitis

در سگ، علائمی نظیر کاهش تدریجی وزن بدن، سرفه‌های مزمن، اسهال مقاوم و پایدار، تب، کم خونی، هپاتومگالی، اسپلینومگالی، لنفادنوپاتی و ضایعات نازوفارنکس و دستگاه گوارش دیده می‌شوند. لنفادنوپاتی ریوی باعث اختلال در تنفس حیوان می‌شود. گسترش عفونت به پوست با ایجاد ضایعات ندولار زخم شونده در این ناحیه همراه است. هیستوپلاسموزیس حاد در عرض ۲ تا ۴ هفته باعث مرگ حیوان می‌شود. بیماری در انسان غالباً به فرم ریوی دیده می‌شود و آزمون داخل جلدی با هیستوپلاسمین[1] در حیوانات و انسان‌های مبتلا با پاسخ ازدیاد حساسیت تأخیری همراه است.

**نشانه‌های کالبدگشایی**

ضایعات ماکروسکوپیک شامل بزرگ شدن کبد، طحال و غدد لنفاوی مزانتریک، آسیت[2]، ندول‌های بزرگ و کوچک ریوی، و بزرگ شدن غدد لنفاوی برونشیال است. کانون‌های زرد رنگ پراکنده با شکل نامشخص در سطح کبد دیده می‌شود. این کانون‌ها در برخی موارد در میوکارد قلب نیز دیده می‌شوند. مخاط‌های رودهٔ کوچک ضخیم و خاکستری رنگ می‌شوند و زخم‌های مخاطی در این ناحیه ایجاد خواهند شد.

**تشخیص آزمایشگاهی**

برای تأیید تشخیص، بررسی میکروسکوپی مستقیم، کشت، بررسی تبدیل فاز رشته‌ای به مخمّری و بالعکس ضروری است. هیستوپلاسما کپسولاتوم مانند سایر قارچ‌های دوشکلی بیماری‌زای حقیقی نسبت به سیکلوهگزامید مقاوم است. در آزمون اگزوآنتی ژن، دیده شدن خطوط رسوبی M و H نشان‌دهندهٔ وجود عفونت است. در این آزمون، عصارهٔ قارچ هیستوپلاسما با آنتی سرم کنترل ضد هیستوپلاسما و نمونه‌های سرمی مشکوک در گوده‌های ژل ایمونودیفیوژن مجاور هم قرار می‌گیرند و با نتایج به‌دست آمده از واکنش آنتی‌ژن و آنتی سرم کنترل برروی یک ژل مقایسه می‌شوند. تزریق داخل صفاقی نمونهٔ مشکوک به موش (حساس‌ترین حیوان نسبت به عفونت تجربی) و جداسازی فرم مخمّری قارچ از بافت‌های کبد و

1- Histoplasmin 2- Ascite



طحال حیوان پس از گذشت ۲ تا ۴ هفته کمک بسیاری به تشخیص بیماری می‌کند. از این بافت‌ها می‌توان مقاطع آسیب‌شناسی تهیه کرد و سلول‌های مخمّری جوانه‌دار قارچ را پس از رنگ‌آمیزی به روش‌های گوموری متنامین سیلور یا پریودیک اسید شیف دید. سلول‌های مخمّری غالباً در داخل ماکروفاژها و سلول‌های غول پیکر وجود دارند و یک منطقهٔ شفاف مابین آنها و سیتوپلاسم سلول بیگانه‌خوار دیده می‌شود. روش‌های شناسایی و ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی هیستوپلاسما کپسولاتوم به تفضیل در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی بررسی شده است.

**درمان**

فرم‌های پیش‌روندهٔ بیماری در سگ تقریباً در ۹۰ درصد مواردی که بیماری درمان نشود به مرگ منجر خواهد شد. بیماری با داروهایی نظیر آمفوتریسین B یا کتوکونازول درمان می‌شود.

## کوکسیدیوئیدومایکوزیس

کوکسیدیوئیدومایکوزیس[1] یک عفونت غیرمسری اندمیک و عامل آن قارچ دو شکلی به‌نام کوکسیدیوئیدس ایمیتیس[2] است. روماتیسم بیابان[3] و تب درّه[4]، نام‌های دیگر این بیماری هستند. بیماری به نواحی خشک و لم یزرع جنوب غربی ایالات متحدهٔ امریکا، مکزیک و امریکای جنوبی و مرکزی محدود می‌شود. برخی از حیوانات و انسان به این بیماری مبتلا می‌شوند، امّا عفونت تنها در سگ مهم است. فرم تحت بالینی بیماری در نشخوارکنندگان (گاو و گوسفند) و خوک گزارش شده است که طی آن، ضایعات کانونی در ریه‌ها و غدد لنفاوی سینه ایجاد می‌شوند. استنشاق اسپورهای (آرتروکونیدیوم‌ها) قارچ، تنها راه تأیید شدهٔ ایجاد عفونت است و این اسپورها از طریق گرد وغبار به داخل ریه‌ها در حیوانات و انسان منتقل می‌شوند. قارچ در مناطق اندمیک در سطح خاک بویژه خاک‌های دارای ترکیبات آلی (به خصوص اطراف لانهٔ

1- Coccidioidomycosis 2- *Coccidioides immitis* 3- Desert reumatism
4- Valley fever

جوندگان) به فرم رشته‌ای وجود دارد. عفونت در گاو غالباً به مصرف غذاهای پرگرد و غبار مربوط می‌شود.

**نشانه‌های بالینی**

بیماری در حیواناتی نظیر گاو، گوسفند، خوک، سگ و گربه به اشکال بدون علامت یا خوش‌خیم دیده می‌شود. در عین حال، حیواناتی نظیر سگ، پریمات‌ها و به ندرت گربه و همچنین انسان معمولاً به فرم پیش‌رونده، فزاگیر و کشندهٔ عفونت مبتلا می‌شوند. کوکسیدیوئیدومایکوزیس در وهلهٔ اول یک عفونت تنفسی مزمن است که در بدن سگ فراگیر می‌شود و بسیاری از بافت‌ها نظیر چشم و استخوان‌ها را درگیر می‌سازد. به همین دلیل، نشانه‌های بالینی به نوع اندام‌های درگیر و شدت عفونت بستگی دارد. فرم پراکندهٔ بیماری درسگ با علائمی نظیر سرفه‌های مزمن، بی‌اشتهایی، لاغری مفرط[1]، لنگش، بزرگ شدن مفاصل، تب و اسهال متناوب[2] همراه است. در برخی موارد، عفونت به پوست گسترش می‌یابد که به صورت زخم‌های همراه با ترشح ظاهر می‌شود.

**نشانه‌های کالبدگشایی**

در کالبدگشایی، ضایعات ماکروسکوپی در ریه‌ها، مدیاستن و غدد لنفاوی سینه و گاه در اندام‌های دیگر دیده می‌شود. این ضایعات در واقع ندول‌های با ابعاد متفاوت هستند که سطحی سفت، مقطّع و خاکستری ـ سفیدرنگ شبیه ضایعات سلی دارند. این ندول‌ها از نوع پیوگرانولوماتوز بوده و از سلول‌های اپیتلیوئید و سلول‌های غول پیکر تشکیل شده‌اند. در مرکز برخی از ندول‌ها، ترشحات چرکی و عناصر قارچی وجود دارند.

**تشخیص**

در نواحی اندمیک، باید به بیماری در صورت وجود عفونت‌های مزمن برونکوپولمونار و دیدن ندول‌های ریوی و غدد لنفاوی بزرگ شده، در رادیوگرافی ناحیهٔ سینه سگ توجه کرد. *کوکسیدیوئیدس ایمیتیس* به شکل اسفرول‌های[3] بزرگ با قطر ۲۰ تا ۸۰ و گاه ۲۰۰ میکرون و

1- Cachexia 2- Intermittent diarrhea 3- Spherules



دیوارهٔ دو لایه در ترشحات و بافت‌های آلوده دیده می‌شود. اسفرول‌های بالغ در زیر میکروسکوپ اندوسپورهایی به قطر ۲ تا ۵ میکرون دارند. از آزمون جلدی با کوکسیدیوئیدین[1]، آزمون اگزوآنتی‌ژن و کشت نیز مانند هیستوپلاسموزیس در تشخیص استفاده می‌شود. در آزمون جلدی، میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از کوکسیدیوئیدین به صورت داخل جلدی در لبهٔ پایینی پوست ناحیهٔ تهی‌گاه تزریق می‌شود و وجود ادم و التهاب در محل تزریق پس از گذشت ۴۸ ساعت نشان‌دهندهٔ تماس حیوان با قارچ عامل بیماری است. روش‌های شناسایی و ویژگی‌های ظاهری ماکرو و میکروسکوپی *کوکسیدیوئیدس ایمیتیس* به تفضیل در بخش‌های مربوط به آنها در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی بررسی شده است.

**درمان**

آمفوتریسین B داروی انتخابی برای درمان بیماری است. از کتوکونازول برای درمان بیماری در انسان استفاده می‌شود اما کاربرد آن در درمان بیماری حیوانات نیز سودمند است.

## بلاستومایکوزیس

بلاستومایکوزیس یک عفونت گرانولوماتوز چرکی است که با قارچ دوشکلی به نام *بلاستومایسس درماتیتیدیس*[2] ایجاد می‌شود. به این بیماری بیماری شیکاگو[3]، بیماری ژیل کریست[4] و بلاستومایکوز امریکای شمالی[5] نیز گفته می‌شود. حیوانات گوناگون نظیر سگ، گربه، اسب، شیر آفریقایی، دولفین و شیر دریایی نیز به این بیماری مبتلا می‌شوند، با این‌حال در سگ و انسان شایع‌تر است. بلاستومایکوزیس عموماً، محدود به شمال امریکا و بیماری‌زایی آن به‌طور دقیق مشخص نشده است. با وجود این، راه اصلی ورود قارچ به بدن حیوانات و انسان از طریق تنفسی (استنشاق کونیدیوم‌های قارچ) است. همان‌طور که ذکر شد منبع عفونت یا زیستگاه طبیعی *بلاستومایسس درماتیتیدیس* به‌طور دقیق مشخص نیست و با این‌که قارچ تاکنون در چندین مورد از خاک جداسازی شده است، در شرایط آزمایشگاهی در خاک زنده

1- Coccidioidin 2- *Blastomyces dermatitidis* 3- Chicago disease
4- Gilchrist 5- North american blastomycosis

نمی‌ماند. عفونت‌های جلدی عموماً از نوع ثانویه هستند و به‌دنبال انتشار از کانون اولیهٔ ریوی ایجاد می‌شوند.

**نشانه‌های بالینی**

نشانه‌های بالینی بلاستومایکوزیس غالباً غیراختصاصی و براساس ناحیهٔ درگیر متفاوت هستند. ضعف، سرفه، بی‌اشتهایی، دشواری تنفس، تب و ترشحات بینی از جمله نشانه‌های عمومی بیماری است. ضایعات جلدی به صورت پوستول‌های کوچک پوشیده شده از پوسته‌های زرد رنگ دیده می‌شوند. حجم غدد لنفاوی برونشیال غالباً افزایش می‌یابد و به صورت توده‌های متراکم در رادیوگرافی ناحیهٔ سینه دیده می‌شوند. علایمی نظیر هماتوری، و اختلال در دفع ادرار در فرم ادراری ـ تناسلی بیماری وجود دارند. در سگ، درگیری چشم نیز گزارش شده است.

**نشانه‌های کالبدگشایی**

ضایعات ماکروسکوپی شامل سخت شدن و تغییر رنگ (بروز رنگ خاکستری مایل به زرد) کانونی بافت ریه‌ها و ایجاد شدن ندول در ریه‌ها و غدد لنفاوی سینه است. انتشار بیماری با به‌وجود آمدن ضایعات ندولار در اندام‌های مختلف بویژه پوست، چشم و استخوان همراه است. ضایعات جلدی به شکل پاپول‌های منفرد یا چندتایی یا ندول‌های پیوگرانولوماتوز ترشح‌کننده ظاهر می‌شوند.

**تشخیص**

بلاستومایکوزیس در سگ با علایمی نظیر ندول‌های ترشح‌کنندهٔ جلدی و علایم بیماری‌های تنفسی تشخیص داده می‌شوند. نشانه‌های ریوی ابتلا به بلاستومایکوزیس در رادیولوژی شامل ندول‌ها و مناطق سفت شده و غیر کلسیفیهٔ ریوی و بزرگ شدن غدد لنفاوی مدیاستینال و سینه است. برای تشخیص بیماری باید فرم مخمّری قارچ عامل بیماری در نمونه‌های بیوپسی بافت، خلط یا ترشحات به‌دست آمده از ضایعات جلدی را با میکروسکوپ دید. این سلول‌های مخمّری در رنگ آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین به شکل سلول‌های گرد جوانه‌دار با قطر تقریبی ۸ تا ۲۵ میکرون و دیوارهٔ دولایه دیده می‌شوند. سلول‌های مخمّری خالی یا پُر از ترکیبات



هسته‌ای بازوفیل هستند و به طور اختصاصی با یک اتصال پهن به جوانه متصل می‌شوند. برای تشخیص عفونت از آزمون اگزوآنتی‌ژن و سایر آزمون‌های ایمنی شناسی نظیر ایمونودیفیوژن و فلئورسانس آنتی‌بادی نیز استفاده می‌شوند. جداسازی قارچ از طریق کشت نمونه‌های بالینی و بررسی ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی قارچ نیز مطالبی بسیار مهم‌اند که در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به‌طور مفصل دربارهٔ آنها بحث شده است. برای تأیید تشخیص، دیدن تغییر فرم قارچ از رشته‌ای به مخمّری، ضروری است.

**درمان**

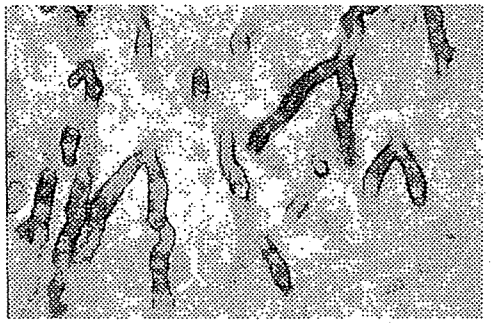
عفونت جلدی اولیه به ندرت پیش می‌آید، با این‌حال ممکن است برای مدت‌های طولانی باقی بماند. این‌گونه ضایعات را باید با جراحی درمان کرد. آمفوتریسین B داروی انتخابی برای درمان بیماری است. برای کاستن از میزان بازگشت بیماری، تلفیق این دارو با کتوکونازول تجویز می‌شود.

## زایگومایکوزیس

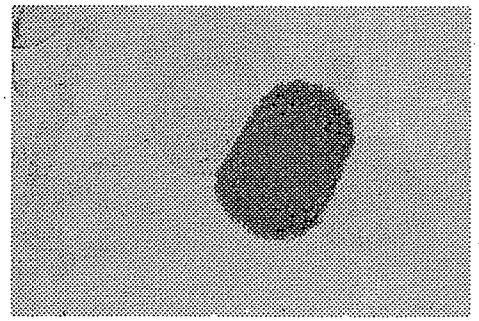
زایگومایکوزیس[1] یک عفونت قارچی فرصت طلب است که با زایگومیست‌های متعلق به راستهٔ موکورال[2] ایجاد می‌شود. اکثر زایگومیست‌ها به صورت ساپروفیت در محیط پراکنده‌اند، با این‌حال برخی از این قارچ‌ها از عوامل بیماری‌زای فرصت طلب هستند. بیماری در موارد به‌وجود آمدن اختلالات ایمنی و با ورود تنفسی یا گوارشی حجم زیادی از اسپورهای قارچی به بدن حیوانات و انسان ظاهر می‌شود. ریسه‌های زایگومیست‌ها به صورت رشته‌های نامنظم بالونی شکل پهن با قطر ۵ تا ۱۵ میکرون در کشت و در بافت‌های حیوانات درگیر دیده می‌شوند (تصویر ۱ـ۱۰).

این ریسه‌ها معمولاً بدون دیوارهٔ عرضی هستند. اسپورهای جنسی به‌نام زایگوسپور[3] با الحاق گامت‌های متعلق به دواسترین سازگار از یک گونه تولید می‌شوند (تصویر ۱ـ۱۱).

1- Zygomycosis 2- Mucorales 3- Zygospore



**تصویر ۱-۱۰- یک گونه از *رایزوپوس*؛ ریسه‌های پهن بدون دیوارهٔ عرضی در دیوارهٔ شکمیهٔ گاو (رنگ‌آمیزی GMS، بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰×) [۲۹].**



**تصویر ۱-۱۱- اسپور جنسی (زایگوسپور) در جنس *رایزوپوس* (بزرگ‌نمایی ۴۰۰×) [۲۹].**

راستهٔ موکورال شامل جنس‌های بیماری‌زای مختلف نظیر *آبسیدیا*[1]، *موکور*[2]، *رایزوپوس*[3]، *رایزوموکور*[4]، *مورتیرلّا*[5] و غیره است. این قارچ‌ها به‌طور سریع رشد می‌کنند و در عرض ۳ تا ۵ روز تمام فضای پلیت‌های کشت را فرا می‌گیرند. از ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی قارچ‌های موکوراسه در فصل سوم به تفضیل بحث شده است.

*1- Absidia* *2- Mucor* *3- Rhizopus*
*4- Rhizomucor* *5- Mortierella*



**زیستگاه طبیعی**

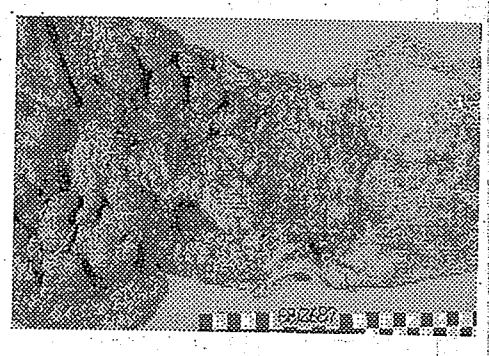
زایگومیست‌های راستهٔ موکورال معمولاً به صورت ساپروفیت در هوا، خاک و گیاهان یافت می‌شوند. این قارچ‌ها نسبت به سیکلوهگزامید حساس‌اند. *مورتیرلّا ولفی* از خاک، سیلو و محوطهٔ گاوداری‌ها جداسازی شده است و به ندرت در طبیعت وجود دارد. بیشتر زایگومیست‌ها در جهان پراکنده‌اند و در این میان، عفونت‌های ناشی از *مورتیرلّا ولفی* در گاو بسیار مهم است. برخی از زایگومیست‌ها فلور طبیعی دستگاه گوارش نشخوارکنندگان‌اند و به صورت طبیعی در مدفوع این حیوانات وجود دارند.

**بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی**

بیشتر زایگومیست‌های بیماری‌زا به دلیل دارابودن آنزیم الاستاز[1] به عروق خونی گرایش دارند و باعث ایجاد خونریزی در بافت‌های درگیر می‌شوند. شایع‌ترین فرم زایگومایکوزیس در حیوانات، درگیری غدد لنفاوی دستگاه تنفس و گوارش است. این غدد در طول بیماری بزرگ و دچار نکروز کازئوز[2] می‌شوند و احتمال درگیری اندام‌های داخلی نیز وجود دارد. این فرم از عفونت در گاو، خوک و سگ شایع‌تر از سایر حیوانات است. حیوانات جوان نسبت به عفونت گوارشی حساسترند و اسهال نشانهٔ اصلی این نوع عفونت است. واکنش گرانولوماتوز، زخم و نکروز کازئوز در دستگاه گوارش پیش می‌آید و زخم‌های نکروزهٔ سیاه‌رنگ با مرکز فرورفته در مخاط‌های گوارشی ظاهر می‌شوند. در عفونت‌های حاد و شدید، قارچ به عروق خونی حمله می‌برد و تورم عروقی نکروزدهنده[3] همراه با ترومبوز و خونریزی ایجاد می‌کند. *مورتیرلّا ولفی*[4] عامل سقط جنین در گاو است و حدوداً ۵ درصد از حیوانات، به یک پنومونی حاد مبتلا می‌شوند و طی ۴۸ ساعت پس از سقط می‌میرند. ضایعات اختصاصی سقط جنین‌های قارچی، مشابه ضایعات جنینی ناشی از *آسپرژیلوس فومیگاتوس* است. جفت ضخیم شده و ظاهری چوبی[5] پیدا می‌کند (تصویر ۱-۱۲). پلاک‌های خاکستری رنگ قارچی مشابه ضایعات کچلی روی پوست جنین دیده می‌شود (تصویر ۱-۱۳). به‌هنگام بروز پنومونی حاد و کشنده، حجم

1- Elastase 2- Caseous necrosis 3- Necrotising vasculitis
*4- Mortierella wolfii* 5- Wooden appearance

ریه‌ها افزایش می‌یابد و بافت ریه به رنگ قرمز تغییر می‌یابد (تصویر ۱- ۱۴). در حفرهٔ سینه، حجم متغیری از مایع وجود خواهد داشت. سایر زایگومیست‌ها نیز از موارد سقط جنین در گاو جداسازی شده‌اند. لیکن، از آنجا که این قارچ‌ها، بسیار بیشتر از *مورتیرلّا ولفی* در طبیعت پراکنده‌اند، نقش آنها در ایجاد سقط باید از طریق بررسی آسیب شناسی ضایعات کوتیلودون‌های جفت و ضایعات جنینی تأیید شود. وجود زایگومایکوزیس در اسب، مینک (یک نوع سموراَبی)، خوکچهٔ هندی، موش، پرندگان نیز گزارش شده است. بیماری‌های اصلی ناشی از قارچ‌های موکوراسه به همراه میزبان‌های مربوط به آن‌ها در جدول ۱-۷ خلاصه شده‌اند.

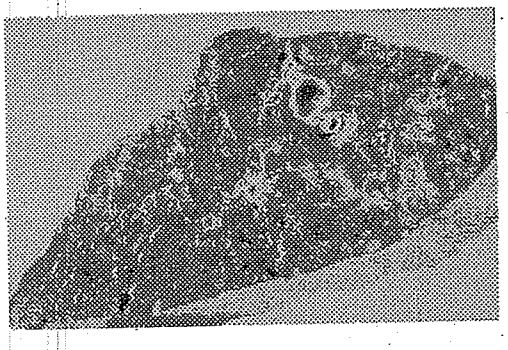


**تصویر ۱-۱۲- تؤرم جفت ناشی از *مورتیرلّا ولفی* در گاو [۲۹].**



**تصویر ۱-۱۳- پلاک‌های خاکستری رنگ قارچی روی پوست جنین گاو در سقط جنین ناشی از *مورتیرلّا ولفی*، این پلاک‌ها اختصاصی سقط جنین‌های قارچی هستند [۲۹].**





**تصویر ۱-۱۴- بافت ریهٔ یک گاو؛ پنومونی حاد منتشر شده ناشی از *مورتیرلّا ولفی* [۲۹].**

**جدول ۱-۷- بیماری‌های ناشی از زایگومیست‌های موکورال در حیوانات [۲۹].**

| میزبان | بیماری (اختلال) |
|---|---|
| گاو | سقط جنین تک گیر(*مورتیرلّا ولفی* و احتمالاً سایر زایگومیست‌ها)<br>پنومونی کشنده (*مورتیرلّاولفی* حدوداً در ۵ درصد گاوهای سقط کرده)<br>ضایعات غدد لنفاوی برونشیال، مزانتریک و مدیاستن<br>زخم‌های بینی و شیردان |
| خوک | ضایعات معده (زخم‌های مخاطی)<br>ضایعات غدد لنفاوی تحت فکّی و مدیاستن<br>ضایعات آمبولیک در کبد وریه |
| سگ | عفونت دستگاه گوارش (ضایعات اولسراتیو ولنفادنیت مزانتریک) |

### تشخیص آزمایشگاهی

#### نمونه‌های بالینی

برحسب مورد می‌توان از نمونه‌های بیوپسی به‌دست آمده از ضایعات و بافت‌های مردهٔ حیوانات، کوتیلودون‌های جفت، محتوای شیردان جنین و ترشحات رحمی به عنوان نمونه استفاده کرد. نمونه، در دو بخش جداگانه در داخل سرم فیزیولوژی استریل (جهت بررسی میکروسکوپی مستقیم و کشت) و فرمالین ۱۰ درصد (برای بررسی آسیب‌شناسی) به آزمایشگاه منتقل می‌شود.

### بررسی میکروسکوپی مستقیم

ریسه‌های زایگومیست‌ها را می‌توان در گسترش‌های مرطوب تهیه شده با پتاس یا مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی شده به روش‌های PAS و یا GMS دید. بررسی آسیب‌شناسی مقاطع بافتی برای تأیید نقش داشتن زایگومیست‌ها در موارد بیماری ضروری است. ریسه‌های زایگومیست‌ها پهن (قطر ۱۰ تا ۱۵ میکرون)، نامنظم، بدون دیوارهٔ عرضی و منشعب و چندشاخه هستند (تصویر ۱-۱۰). ریسه‌های *مورتیرلّا ولفی* باریک‌تر (به قطر ۲ تا ۱۲ میکرون)، نامنظم و بدون دیوارهٔ عرضی هستند.

### جداسازی و شناسایی

محیط‌های کشت سابورو دکستروز اگار بدون سیکلوهگزامید و سابوروی تغییریافتهٔ امونس برای جداسازی زایگومیست‌ها، مناسب هستند. نمونه‌های بالینی به محیط‌های کشت مذکور منتقل و کشت‌ها به مدت ۱۰ روز در شرایط هوازی نگهداری می‌شوند. پرگنهٔ قارچ‌های موکوراسه معمولاً طی ۴۸ ساعت اول کشت، در سطح محیط ظاهر می‌شوند. گونه‌های عامل عفونت‌های سیستمیک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نیز رشد می‌کنند. برخی از گونه‌ها نیز به گرما، گرایش دارند و در درجه حرارت‌های بالا (۵۰ درجه‌سانتی‌گراد و بالاتر) رشد می‌کنند. زایگومیست‌ها در موارد سقط جنین‌های قارچی به صورت ساپروفیت یا عامل عفونت هستند. برای اثبات نقش این گروه از قارچ‌ها در سبب‌شناسی موارد سقط به نشان دادن قارچ در داخل بافت‌های آلوده نیاز است. در حال حاضر، استفاده از کیت‌های شناسایی، شناساگرهای نوکلئیک اسید و روش‌های ایمنی‌شناسی اختصاصی برای شناسایی زایگومیست‌ها معمول نشده است. به همین دلیل، بررسی آسیب‌شناسی بافت‌های درگیر و ویژگی‌های ظاهری ماکرو و میکروسکوپی قارچ جداسازی شده در تشخیص عفونت بسیار مهم است. آزمون‌های سرم شناسی برای تشخیص سقط جنین‌های ناشی از *مورتیرلّا ولفی* مفید و مؤثر هستند. دربارهٔ روش‌های جداسازی و شناسایی زایگومیست‌ها و ویژگی ماکرو و میکروسکوپی جنس‌های با اهمیت این گروه از قارچ‌ها در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفضیل بحث شده است.



### درمان

برداشت ضایعات کانونی سطحی با جراحی و نیز استفادهٔ موضعی از آمفوتریسین B سودمند است. با این‌حال هیچ روش درمانی کاملاً مؤثر در این‌باره شناسایی نشده است.

## انتوموفتورومایکوزیس

انتوموفتورومایکوزیس[1] یک عفونت مخاط بینی و بافت‌های زیر جلدی در اسب و به ندرت در سایر حیوانات است که با قارچ‌های *کونیدیوبولوس کروناتوس*[2] و *بازیدیوبولوس راناروم*[3] ایجاد می‌شود. این بیماری به نام‌های دیگر نظیر بازیدیوبولومایکوزیس[4] و کونیدیوبولومایکوزیس[5] نیز معروف است.

### زیستگاه طبیعی

قارچ‌های عامل بیماری به فراوانی، در طبیعت روی خاک و گیاهان در حال فساد یافت می‌شوند. *کونیدیوبولوس کروناتوس* از جمله ساپروفیت‌های خاک است که در اسب، دولفین، شامپانزه، حشرات و انسان بیماری‌زا است. ضایعات اولیهٔ ناشی از این قارچ عمدتاً مخاط بینی را درگیر می‌سازد. وجود *بازیدیوبولوس راناروم* عموماً در نواحی گرمسیر آفریقا و جنوب‌شرقی آسیا و برزیل گزارش شده است. این قارچ علاوه بر خاک و گیاهان در حال فساد، به‌طور طبیعی در دستگاه گوارش بسیاری از دوزیستان، خزندگان و ماکروپودها نیز وجود دارد.

### بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی

*کونیدیوبولوس کروناتوس* عامل گرانولوم‌های زخم شونده در مخاط‌های بینی و دهان و ضایعات ندولار در مخاط بینی و لب‌هاست . ضایعات بینی باعث انسداد مکانیکی مجاری بینی، تنگی نفس و ترشحات بینی می‌شوند. ضایعات ناشی از *بازیدیوبولوس راناروم* معمولاً بزرگ، تنها، حلقوی و زخم شونده هستند. ندول‌های خارش‌دار در ناحیهٔ پوست قسمت بالای دهان نیز دیده می‌شوند و ترشحات سروزی ـ چرکی در محل ضایعات وجود دارند. گسترش عفونت به

1- Entomophthoromycosis
2- *Conidiobolus coronatus*
3- *Basidiobolus ranarum*
4- Basidiobolomycosis
5- Conidiobolomycosis

غدد لنفاوی منطقه‌ای باعث تورم این غدد و ایجاد کانون‌های نکروزهٔ زردرنگ می‌شود. مرکز ضایعات از بافت نکروزهٔ کرم تا زرد رنگ پوشیده شده است. فرم منتشر شده بازیدیوبولومایکوز به ندرت و آن هم در حیواناتی نظیر سگ و نوعی بوزینه به نام ماندریل[1] گزارش شده است. در آسیب‌شناسی، ریسه‌های قارچی، ائوزینوفیل‌ها و مناطق نکروزه در محل گرانولوم‌ها دیده می‌شوند.

**تشخیص**

از نظر تشخیص کلینیکی، انتوموفتورومایکوزیس ممکن است با بیماری‌هایی نظیر هایرونمیازیس جلدی[2] و اُمایکوزیس[3] اشتباه شود. این بیماری‌ها را می‌توان براساس بررسی میکروسکوپی بافت‌های درگیر از یکدیگر تفکیک و متمایز کرد. قارچ‌های عامل انتوموفتورومایکوزیس در مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی شده به روش هماتوکسیلین ـ ائوزین به صورت کانال‌های دراز دیده می‌شوند و انبوهی از سلول‌های ائوزینوفیل، بسیاری از ریسه‌ها را دربر گرفته‌اند. در مقاطع رنگ‌آمیزی شده به روش‌های پریودیک اسید شیف و گوموری متنامین سیلور، قارچ به صورت ریسه‌های بزرگ منشعب با قطر ۴ تا ۸ میکرون و گاه تعداد اندکی دیوارهٔ عرضی دیده می‌شود. جداسازی قارچ از کشت برای شناسایی آن ضروری است. انتوموفتورومایکوزیس، را می‌توان براساس تفاوت در پراکندگی آناتومیک، توسعه و پیشرفت آهسته‌تر ضایعات و تعداد کمتر و اندازهٔ کوچک‌تر کانون‌های نکروزه، از اُمایکوزیس تفکیک و متمایز کرد. دربارهٔ روش‌های شناسایی و ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی *کونیدیوبولوس کروناتوس* و *بازیدیوبولوس راناروم* کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفضیل بحث شده است.

**درمان**

برداشت ضایعات با جراحی به همراه ایمنی درمانی[4] در درمان بیماری مهم است. ایمنی درمانی شامل تزریق داخل جلدی ۰/۰۲ تا ۰/۱ میلی‌لیتر از فرم دست نخوردهٔ قارچ است. شکل

1- Mandrill
2- Cutaneous habronemiasis
3- Oomycosis
4- Immunotherapy



موضعی بیماری را می‌توان با تجویز موضعی یا عمومی آمفوتریسین B درمان کرد. برداشت اولیهٔ ضایعات از طریق جراحی و به‌دنبال آن تجویز آمفوتریسین B درمان انتخابی این بیماری است. کتوکونازول در شرایط آزمایشگاهی رشد قارچ‌های عامل بیماری را مهار می‌کند.

## اسپوروتریکوزیس

اسپوروتریکوزیس[1] یک عفونت گرانولوماتوز مزمن تک‌گیر و غیرشایع است که عموماً بافت‌های زیرجلدی را در بسیاری از حیوانات اهلی و آزمایشگاهی و همچنین انسان درگیر می‌سازد. بیماری با یک قارچ دوشکلی به نام *اسپوروتریکس شنکئی*[2] ایجاد می‌شود. ضایعات به صورت ندول‌های زیرجلدی همراه با درگیری جلد و غدد لنفاوی مجاور مشخص می‌شوند. انتشار ثانویه عفونت به استخوان‌ها و عضلات، از کانون‌های اولیهٔ زیرجلدی گزارش شده است و به ندرت درگیری سیستم عصبی مرکزی و دستگاه ادراری تناسلی نیز دیده می‌شود.

**زیستگاه طبیعی**

*اسپوروتریکس شنکئی* یک قارچ دوشکلی است که در طبیعت به فرم میسلیومی و در بافت‌های حیوانات و انسان به فرم مخمّری وجود دارد. این قارچ در جهان پراکنده است و به صورت ساپروفیت روی گیاهان (بوتهٔ زرشک، گل رز و کاه)، خاک و ترکیبات دفعی حیوانات به فراوانی یافت می‌شود. این قارچ از خار گیاهانی نظیر سعد کوهی، خزهٔ اسفاگنوم و نیز از کک، مورچه و موی اسب جداسازی شده است. عفونت، در پی تلقیح تروماتیک کونیدیوم‌های قارچ به داخل بافت‌های جلدی و زیرجلدی ایجاد می‌شود. اسپوروتریکوزیس در میان حیوانات بیشتر در اسب و سپس در سگ، گربه و سایر حیوانات گزارش شده است. بیماری ناشی از این قارچ در انسان به بیماری گل فروش‌ها نیز معروف است. یک مورد از همه‌گیری بیماری مزبور به فرم اسپورتریکوز ریوی به‌نام همه‌گیری معدنچیان آفریقا گزارش شده است که طی آن، *اسپوروتریکس شنکئی* را از خزه‌های رشد کرده روی تیرهای چوبی جداسازی کرده‌اند.

1- Sporotrichosis
2- *Sporothrix schenckii*

**بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی**

شایع‌ترین فرم بیماری در حیوانات و انسان، فرم جلدی ـ لنفاوی[1] است. سایر اشکال بیماری شامل انواع جلدی[2]، جلدی تثبیت شده[3] و سیستمیک[4] هستند که نسبت به فرم جلدی ـ لنفاوی کمتر شایع هستند. در فرم جلدی ـ لنفاوی، نواحی مختلف بدن نظیر سر، سینه، گوش، بینی و اندام حرکتی خلفی، سفت و متورم و گاه با دلمه پوشیده می‌شوند. ندول‌های جلدی آلوپسیک در امتداد عروق و غدد لنفاوی موضعی تشکیل می‌شوند که به پوست چسبیده نیستند (تصویر ۱ـ۱۵). این ضایعات در پایان به پوست متصل می‌شوند و سرباز می‌کنند و ترشحات اکسوداتیو قرمز مایل به قهوه‌ای رنگ از آنها خارج خواهد شد . گاه ضایعات به فرم پراکنده در می‌آید و نواحی سینه، شکم، مغز و چشم‌ها را درگیر می‌سازند. در پی برش دادن ندول‌ها، یک اکسودای خامه‌ای زرد رنگ خارج می‌شود. موارد متعددی از بیماری در اسب، الاغ و قاطر گزارش شده است که شکل بالینی شبیه بیماری قارچی لنفانژیت واگیردار (ناشی از *هیستوپلاسما فارسیمینوزوم*) دارد. ندول‌ها در زیر میکروسکوپ در حقیقت ضایعات پیوگرانولوماتوزی هستند که از ماکروفاژها، سلول‌های غول‌پیکر و انواع گوناگونی از سایر سلول‌ها نظیر نوتروفیل‌ها تشکیل شده‌اند. ضایعات ندولار از نوع بالارونده هستند که عموماً در اندام حرکتی ایجاد می‌شوند. پس از ایجاد و بهبودی ضایعهٔ ندولار اولیه که با ایجاد اسکار (داغ‌زخم) در ناحیه درگیر همراه است، ضایعات بعدی به صورت بالارونده در مسیر عروق لمفاوی ایجاد می‌شوند که هر یک سیر طبیعی خود را طی می‌کنند.

**تشخیص آزمایشگاهی**

تشخیص از طریق بررسی میکروسکوپی مستقیم ترشحات و نمونه‌های بیوپسی و همچنین کشت نمونه‌های به‌دست آمده از ندول‌های سربسته صورت می‌گیرد. *اسپوروتریکس شنکئی* به شکل سلول‌های مخمّری سیگاری شکل با یک یا چند جوانه، عموماً به صورت داخل سلولی در داخل ماکروفاژها دیده می‌شود. تعداد ارگانیسم در نمونه (ترشحات و بافت) اندک و به همین

1- Lymphocutaneous sporotrichosis
2- Custaneous sporotrichosis
3- Fixed cutaneous sporotrichosis
4- Systemic sporotrichosis





**تصویر ۱ـ۱۵ـ اسپوروتریکوزیس: ندول‌های جلدی و زیر جلدی / لنفاوی ناشی از قارچ** *اسپوروتریکس شنکئی* **در محل زخم‌های کوچک جلدی در یک اسب** [۲۷].

دلیل دیدن مستقیم قارچ گاه بسیار دشوار است. در این‌باره، از تکنیک فلئورسانس آنتی‌بادی مستقیم برای شناسایی سلول‌های مخمّری در نمونه‌های بافتی استفاده می‌شود. همچنین نمونهٔ بالینی مشکوک، برای افزایش تعداد ارگانیسم به حیوانات آزمایشگاهی حساس تزریق می‌شود. تزریق داخل بیضه‌ای یا داخل صفاقی ترشحات رقیق شدهٔ ندول‌ها به موش پس از گذشت ۲ هفته، در حیوان اورکیت (تورم بافت بیضه) یا پریتونیت ایجاد می‌کند. از بافت بیضه یا ترشحات صفاقی می‌توان لام مستقیم و مقاطع بافتی تهیه کرد و قارچ را به صورت سلول‌های مخمّری سیگاری شکل دید. این نمونه‌ها به محیط‌های کشت مناسب منتقل و اشکال رشته‌ای و مخمّری قارچ جداسازی و شناسایی می‌شوند. *اسپوروتریکس شنکئی* روی محیط‌های معمولی، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رشد و ریسه‌های باریک منشعب و کونیدیوم‌های گلابی شکل، به صورت برگ شبدر روی کونیدیوفورهای مستقیم تولید می‌کند. قارچ به دنبال کشت روی محیط‌های

مغذّی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد از فاز رشته‌ای به فاز مخمّری تبدیل می‌شود و مشاهدهٔ این تبدیل فاز برای تأیید تشخیص ضروری است. در فرم مخمّری، سلول‌های قارچی پلی‌مورفیک با ابعاد ۲ تا ۱۰ در ۱ تا ۳ میکرون وجود دارند که به‌جهت داشتن جوانه به شکل راکت تنیس[1] دیده می‌شوند. دربارهٔ روش‌های جداسازی و شناسایی *اسپوروتریکس شنکئی* و ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی قارچ در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی تفضیل بحث شده است.

**درمان**

برای درمان بیماری، از ترکیباتی نظیر یدید سدیم و پتاسیم به صورت خوراکی استفاده می‌شود که نتیجهٔ درمان به‌طور نسبی موفقیت‌آمیز است. درمان با این ترکیبات باید تا محو کامل علایم بالینی و به مدت چند هفته پس از محو علایم ادامه یابد تا از بازگشت بیماری جلوگیری شود. برای درمان بیماری، تجویز آمفوتریسین B و گریزئوفولوین نیز بویژه همراه با فلوسایتوزین مناسب است. برداشت ضایعات با جراحی به هیچ وجه پیشنهاد نمی‌شود، زیرا این کار رشد قارچ را تحریک و ضایعات را تشدید می‌کند.

## کروموبلاستومایکوزیس

کروموبلاستومایکوزیس[2] یک عفونت مزمن بافت‌های جلدی و زیرجلدی است که با برخی از جنس‌ها و گونه‌های متعلق به قارچ‌های قهوه‌ای یا سیاه‌رنگ از خانوادهٔ قارچ‌های رنگی[3] ایجاد می‌شود. بیماری مزبور با ویژگی وجود اشکال تقسیم‌شونده کروی شکل قارچ به صورت سلول‌های توتی شکل، در ناحیهٔ درم توصیف می‌شود. به این سلول‌ها اصطلاحاً اسکلروتیک بادی[4] گفته می‌شود که ویژهٔ بیماری کروموبلاستومایکوز هستند. بیماری مذکور در میان حیوانات در گاو، گربه، اسب، سگ، قورباغه، لاک پشت، خرچنگ دریایی و گونه‌های مختلف ماهیان شایع است. عفونت از طریق تلقیح قارچ‌های عامل به داخل نواحی آسیب دیدهٔ بافت‌های جلدی آغاز می‌شود.

1- Ping- peng paddle
2- Chromoblastomycosis
3- Dematiaceous fungi
4- Sclerotic body



**زیستگاه طبیعی**

قارچ های مولد بیماری از ساپروفیت‌هایی هستند که در طبیعت به فراوانی پراکنده‌اند و در خاک، آب و نباتات درحال فساد یافت می‌شوند. شایع‌ترین این قارچ‌ها، قارچ‌هایی چون *بای‌پولاریس اسپیسیفرا*[1]، *اگزوفیالا جنسلمئی*[2]، *فیالوفورا وروکوزا*[3] و *کلادوسپوریوم تریکوئیدس*[4] هستند. به‌علاوه، برخی از قارچ‌های دیگر نظیر *فوما هرباروم*[5]، سایرگونه‌های *اگزوفیالا*، *اسکولکوبازیدیوم هومیکولا*[6] و *داکتیلاریا کانستریکتا*[7] نیز از مواردی از بیماری در حیوانات مختلف جداسازی شده‌اند.

**بیماری‌زایی و نشانه‌های بالینی**

قارچ‌هایی نظیر *بای‌پولاریس اسپیسیفرا* (مترادف *درکسلرا اسپیسیفروم*)، *اگزوفیالا جنسلمئی* و *فیالوفورا وروکوزا* از موارد کروموبلاستومایکوزیس در حیواناتی مانند گاو، گربه، اسب و سگ جداسازی شده‌اند. در این حیوانات، ضایعات به صورت توده‌های زیرجلدی گل کلمی یا زگیلی شکل با رشد آهسته در نواحی سر، مخاط بینی، اندام حرکتی خلفی و سینه ظاهر می‌شوند. ندول‌ها در پایان زخم و تخلیه می‌شوند. این ندول‌ها، ریسه‌های دیواره دار رنگی و اشکال مخمّر مانند جوانه‌دار و در برخی از قارچ‌های عامل، کلامیدوسپور دارند. *کلادوسپوریوم تریکوئیدس* (مترادف *زایلوهایفا بانتیانا*[8]) از اشکال عمقی‌تر کروموبلاستومایکوز، نظیر درگیری سیستم عصبی مرکزی و کلیه‌ها در گربه و سگ جداسازی شده است. نوع دیگری از بیماری با عامل‌هایی نظیر گونه‌های *کلادوسپوریوم*، *اگزوفیالا سالمونیس*[9]، *اگزوفیالا پیسیفیلا*[10]، *فوما هرباروم* و *اسکولکوبازیدیوم هومیکولا* در قورباغه، لاک پشت، خرچنگ دریایی و گونه‌های مختلف ماهیان ظاهر می‌شود که ویژگی آن درگیری بافت‌های جلدی و زیر جلدی است. درگیری سیستم عصبی مرکزی در گونه‌های مختلف پرندگان به قارچ *داکتیلاریا کانستریکتا* نسبت داده

1- *Bipolaris spicifera*
2- *Exophiala jeanselmi*
3- *Phialophora verrucosa*
4- *Cladosporium trichoides*
5- *Phoma herbarum*
6- *Scolecobasidium humicola*
7- *Dactylaria constricta*
8- *Xylohypha bantiana*
9- *Exophiala salmonis*
10- *Exophiala pisciphila*

می‌شود.

**تشخیص آزمایشگاهی**

علایم بالینی کروموبلاستومایکوزیس شبیه بیماری‌هایی نظیر نئوپلازی، انواع گرانولوما و کیست اپیدرموئید است. این بیماری، در بررسی مقاطع بافتی با بیماری یوومایکوتیک مایستومای ناشی از قارچ‌های رنگی اشتباه می‌شود. در کروموبلاستومایکوزیس، توده‌هایی از سلول‌های توتی شکل قهوه‌ای رنگ به صورت آزاد یا در داخل سلول‌های غول‌پیکر دیده می‌شوند که به آن‌ها اصطلاحاً اسکلروتیک بادی گفته می‌شود. کروموبلاستومایکوزیس، را می‌توان از طریق بررسی میکروسکوپی نمونه‌های ترشحات و بافت و دیدن ریسه‌های رنگی یا شفاف به قطر ۲ تا ۶ میکرون، کلامیدوسپورهای انتهایی یا بینابینی به قطر ۶ تا ۱۲ میکرون و کونیدیوم‌های قارچی تشخیص داد. منظرهٔ بافتی تمام قارچ‌های عامل بیماری در داخل بافت‌های حیوانات و انسان یکسان‌اند (به شکل اسکلروتیک بادی) و به همین دلیل، شناسایی این عوامل در سطح جنس و گونه به جداسازی و بررسی در کشت نیاز دارد. البته، این قارچ‌ها را می‌توان از طریق بررسی مقاطع بافتی و با روش‌های رنگ‌آمیزی مبتنی بر ایمونوگلوبولین‌های متصل به فلئورسئین ایزوتیوسیانات[1] اختصاصی برای یک عامل قارچی ویژه شناسایی کرد. دربارهٔ روش‌های جداسازی و شناسایی قارچ‌های عامل کروموبلاستومایکوزیس و ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی انواع مهم‌تر این قارچ‌ها در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفضیل بحث شده است.

**درمان**

کروموبلاستومایکوزیس در بیشتر موارد، به بافت‌های جلدی و زیرجلدی محدود می‌شود. بیماری، با برداشت جراحی ضایعات درمان می‌شود. کاربرد موضعی آمفوتریسین B به همراه فرم عمومی فلوسایتوزین (خوراکی) نیز این نوع بیماری را در حیوانات درمان می‌کند. در مواردی که عامل بیماری در برابر آمفوتریسین B، مقاومت می‌کند، از کتوکونازول به‌عنوان

1- Fluorescein-isothiocyanate-conjugated immunoglobulins



داروی جانشین استفاده می‌شود.

## مایستوما

مایستوما[1] عفونت بافت‌های زیرجلدی است که به دو فرم قارچی[2] و اکتینومیستی[3] پیش می‌آید. نام‌های دیگر این بیماری مادورا فوت[4] و مادورامایکوزیس[5] است. بیماری مزبور در آفریقا، آسیا، امریکا و برخی از مناطق معتدل جهان و در میان حیواناتی نظیر گاو، اسب، سگ و گربه شایع است. با این‌حال، موارد تأیید شدهٔ بیماری در حیوانات بسیار اندک و عامل آن در سگ به‌طور مستند کورولاریا جنیکولاتا است.

**زیستگاه طبیعی**

مایستومای قارچی عموماً توسط قارچ‌هایی نظیر گونه‌های *آکرمونیوم*[6]، *کورولاریا جنیکولاتا*[7]، *مادورلّا گریزئا*[8]، *مادورلّا مایستوماتیس*[9]، و *سودآلشریا بویدی*[10] ایجاد می‌شود. این قارچ‌ها ازجمله ساپروفیت‌های خاکزی هستند که از طریق تلقیح مستقیم به بافت جلدی و زیرجلدی وارد می‌شوند و عفونت ایجاد می‌کنند.

**نشانه‌های بالینی**

در طول بیماری، ضایعات تومور مانند گرانولوماتوز در محل بافت‌های زیرجلدی، بویژه در محل اندام حرکتی تشکیل می‌شوند که در پایان سرباز می‌کنند و چرک، ترشحات و گرانول[11] یا همان فرم فشردهٔ عوامل ایجاد بیماری از آنها خارج می‌شود. در این‌باره، معمولاً عفونت از بافت‌های زیرجلدی به استخوان‌های مجاور گسترش می‌یابد.

**تشخیص آزمایشگاهی**

میسلیوم‌های قارچی در محل ضایعات تکثیر می‌شوند و به صورت توده‌های کروی شکل

1- Mycetoma
2- Eumycotic mycetoma
3- Actinomycotic mycetoma
4- Madura foot
5- Maduramycosis
6- *Acremonium*
7- *Curvularia geniculata*
8- *Madurella grisea*
9- *Madurella mycetomatis*
10- *Pseudallescheria boydii*
11- Granule

به‌نام گرانول یا دانه[1] در می‌آیند. در داخل این گرانول‌ها، میسلیوم‌های قارچی به صورت فشرده، و غالباً بدشکل و کج و معوج، دیده می‌شوند. کلامیدوسپورها بویژه در اطراف ضایعات وجود دارند. از نظر بافت‌شناسی ، این گرانول‌ها غالباً با رسوبات ائوزینوفیلی[2] احاطه شده‌اند. در بررسی میکروسکوپی مستقیم و کشت، تنها گرانول‌ها مهم هستند و به همین دلیل، پس از جداسازی از نمونه (شستشوی ترشحات به‌دست آمده از ضایعات و جداسازی گرانول‌ها) باید بررسی شوند. گرانول‌ها برحسب نوع قارچ، رنگ و اندازهٔ متفاوتی دارند و عموماً به قطر ۰/۵ تا ۲ میلی‌متر و به رنگ سفید، زرد و سیاه هستند. این گرانول‌ها هم در مایستومای قارچی و هم درمایستومای ناشی از اکتینومیست‌ها وجود دارند. گرانول‌های اکتینومیستی رشته‌هایی چندشاخه با قطر کمتر از یک ۱ میکرون دارند که در انتها خرد و به اشکال کوکسی و باسیلی تبدیل شده‌اند. دربارهٔ روش‌های جداسازی و شناسایی قارچ‌های عامل مایستوما و ویژگی‌های ظاهری ماکرو ومیکروسکوپی انواع مهم این قارچ‌ها در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی بحث شده است.

**درمان**

درمان درمایستومای قارچی معمولاً بی‌تأثیر است و عضو مبتلا به بیماری باید قطع شود. با این‌حال در برخی موارد، برای درمان، عضو مبتلا به بیماری، جراحی می‌شود. مایستومای اکتینومیستی معمولاً با دارویی به نام داپسون[3] درمان می‌شود.

1- Grain　2- Eosinophilic deposits　3- Dapson



## رینوسپوریدیوزیس

رینوسپوریدیوزیس[1] یک عفونت مزمن پیوگرانولوماتوز است که عامل آن قارچی به نام *رینوسپوریدیوم سیبری*[2] است. این بیماری عموماً مخاط بینی و گاه مخاط‌های چشم و پوست را درگیر می‌سازد. بروز بیماری در حیواناتی نظیر اسب، الاغ، قاطر، گاو، سگ و پرندگان آبزی بویژه از هند، آفریقا و امریکای جنوبی گزارش شده است.

**زیستگاه طبیعی**

*رینوسپوریدیوم سیبری* تاکنون از محیط‌های کشت جداسازی نشده است و زیستگاه طبیعی آن ناشناخته است. با این‌حال، از آنجا که بیماری ناشی از این قارچ عموماً در محیط‌های آبی ظاهر می‌شود، قارچ عامل بیماری، ممکن است یک قارچ آبزی باشد. در این‌باره، برخی از محققان عقیده دارند که *رینوسپوریدیوم سیبری* واریته‌ای از یک قارچ عامل عفونت در آبزیان به نام *ایختیوفانوس هوفری*[3] است. بیماری از میزبانی به میزبان دیگر منتقل نمی‌شود و وارد شدن ضربه از عوامل زمینه‌ساز ابتلا به بیماری است.

**نشانه‌های بالینی**

ایجاد شدن ضایعات پولیپ مانند[4] نرم شکنندهٔ لوبوله در مخاط بینی، ویژگی این نوع عفونت است. این ضایعات معمولاً یک‌طرفه هستند و به علت بزرگی، مجرای بینی را مسدود می‌کنند. ضایعات جلدی اگر وجود داشته باشند به صورت منفرد یا چندتایی و پایه‌دار و یا بدون پایه‌اند. پولیپ‌های بینی و ضایعات جلدی از نوع گرانولوماتوز التهابی و شامل عناصر قارچی هستند. این عناصر قارچی (اسپورانژیوم‌های[5] شامل اسپورانژیوسپور) به صورت دانه‌های ریز سفیدرنگ در ترشحات بینی و در داخل پولیپ‌ها و ضایعات جلدی دیده می‌شوند.

**تشخیص آزمایشگاهی**

رینوسپوریدیوزیس ممکن است با سایر عفونت‌های قارچی ایجاد کنندهٔ ضایعات گرانولوماتوز مخاط بینی و پوست شامل آسپرژیلوزیس، انتوموفتورومایکوزیس، گرانولومای

1- Rhinosporidiosis　2- *Rhinosporidium seeberi*　3- *Ichtyophonus hoferii*
4- Polypoid lesions　5- Sporangium

بینی و کریپتوکوکوزیس اشتباه شود. این نوع عفونت در آزمایشگاه با دیدن اسپورانژیوم‌های قارچ *رینوسپوریدیوم سیبری* در نمونه‌های بیوپسی به‌دست آمده از ضایعات تشخیص داده می‌شود. اسپورانژیوم‌های یاد شده اندوسپورهایی به قطر ۴ تا ۱۹ میکرون و اندازهٔ متغیر (حداکثر تا ۳۰۰ میکرون) و دیوارهٔ ضخیم PAS مثبت دارند. اسپورانژیوم‌های جوان بدون اندوسپور هستند و گاه یک هستهٔ بازوفیل مرکزی دارند. در تمام ضایعات اسپورانژیوم‌های جوان و بالغ همراه یک‌دیگر وجود دارند. دربارهٔ روش‌های شناسایی و ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی *رینوسپوریدیوم سیبری* در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفصیل بحث شده است.

**درمان**

برداشت ضایعات با جراحی تنها روش درمانی مناسب است. با این‌حال، در مواردی بیماری بازگشت خواهد کرد.

## لوبومایکوزیس

لوبومایکوزیس[1] عفونت بافت‌های زیرجلدی و عامل آن قارچی به نام *لوبوآ لوبوئی*[2] است. این بیماری در حیوانات، تنها از گونه‌های خاصی از دولفین‌ها، در نواحی ساحلی فلوریدا و سورینام، گزارش شده است. ضایعات ناشی از این عفونت از نوع ندولار و کلوئیدی است. این ضایعات در ابتدا به صورت ندول‌های متحرک زیرجلدی ظاهر می‌شوند و به تدریج به اطراف گسترش می‌یابند. در محل ضایعات، سلول‌های مخمّری کروی با دیوارهٔ ضخیم و قطر ۵ تا ۱۲ میکرون حضور دارند. جوانه زدن متوالی معمولاً به تولید زنجیره‌هایی از سلول‌های مخمّری می‌انجامد که با اتصالات لوله‌ای شکل به یک‌دیگر متصل‌اند. برای تشخیص بیماری مشاهدهٔ این زنجیره‌های سلولی در نمونه‌های بیوپسی ضایعات رنگ‌آمیزی شده به روش گوموری متنامین سیلور و یا پریودیک اسید شیف کافی است. ظاهر بافتی *لوبوآ لوبوئی* در بخش مربوط به آن، در

1- Lobomycosis  2- *Loboa loboi*



کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی تشریح شده است.

## لنفانژیت واگیردار

لنفانژیت واگیردار[1] یا بیماری فارسی[2] یک عفونت گرانولوماتوز مزمن است که پوست، عروق لنفاوی و غدد لنفاوی نواحی اندام حرکتی و گردن را در اسب و قاطر درگیر می‌سازد. این بیماری با یک قارچ دوشکلی به نام *هیستوپلاسما فارسیمینوزوم*[3] ایجاد می‌شود. حدود ۹۰ درصد از موارد بیماری در اسب و سایر موارد در قاطر و میمون گزارش شده است. اندام حرکتی خلفی و گردن بیش از سایر نقاط بدن درگیر می‌شوند و ضایعات ندولار، گرانولوماتوز و زخم شونده در پوست، بافت‌های زیرجلدی و عروق لنفاوی ایجاد می‌شوند. بیماری، در پی گسترش از کانون اولیه، نواحی مختلف شامل ریه‌ها، ملتحمه و قرنیهٔ چشم، مخاط بینی و سایر ارگان‌ها را درگیر می‌سازد. ندول‌ها کپسول ضخیمی دارند و حاوی چرک و قارچ عامل بیماری هستند.

**زیستگاه طبیعی**

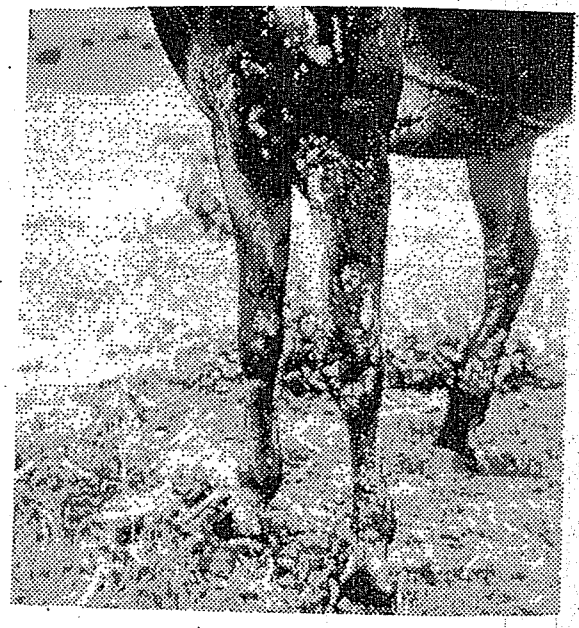
*هیستوپلاسما فارسیمینوزوم* از نظر ریخت‌شناسی و چرخهٔ زندگی شبیه *هیستوپلاسما کپسولاتوم* است. با این‌حال، بدن حیوانات آلوده تنها زیستگاه طبیعی شناخته شدهٔ قارچ است. قارچ، احتمالاً از طریق زخم‌های پوستی یا گزش حشرات به حیوانات منتقل می‌شود.

**نشانه‌های بالینی**

بیماری لنفانژیت واگیردار عموماً در اسب و گاه در قاطر و میمون ظاهر می‌شود. همان‌طور که ذکر شد، پاها و گردن اندام‌هایی هستند که بیشتر با عفونت درگیر می‌شوند، با این‌حال گسترش عفونت از این مناطق به ریه‌ها، چشم و بینی گزارش شده است. ضایعات ندولار گرانولوماتوز زخم شونده در پوست، بافت‌های زیرجلدی و عروق لنفاوی ایجاد می‌شوند (تصویر ۱-۱۶) و بدین ترتیب، حالت کلینیکی بیماری به عفونت ناشی از *اسپوروتریکس شنکئی*

1- Epizootic lymphangitis  2- African farcy  3- *Histoplasma farciminosum*

در اسب شباهت خواهد داشت. تفاوت این دو بیماری، از طریق بررسی آزمایشگاهی نمونه‌های بالینی و جداسازی دیدن قارچ‌های عامل مشخص می‌شود.



**تصویر ۱-۱۶: هیستوپلاسموزیس (لنفانژیت واگیردار) ناشی از** *هیستوپلاسما فارسیمینوزوم*: **ضایعات ندولار در نواحی اندام حرکتی و سینهٔ یک اسب.** [۲۷].

### تشخیص آزمایشگاهی

جداسازی *هیستوپلاسما فارسیمینوزوم* دشوار است و به زمان طولانی نیاز دارد. در این خصوص، محتویات ندول‌ها در دو پلیت حاوی محیط سابورو دکستروز اگار و مایکوبیوتیک اگار تلقیح و کشت‌ها به مدت ۲ تا ۸ هفته در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند. برای تبدیل فاز رشته‌ای به مخمّری، از محیط هارتلی دایجست اگار[1] حاوی ۱۰ درصد متریم اسب استفاده می‌شود. نمونه در این محیط تلقیح می‌شود و کشت‌ها به مدت ۲ تا ۸ هفته در

1- Hartley digest agar



انکوباتور دارای ۲۰ درصد دی‌اکسیدکربن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند. تصویر کلینیکی بیماری بسیار مشخص است و تشخیص بیماری از طریق بررسی میکروسکوپی نمونه‌های ترشحات و بیوپسی بافت تأیید می‌شود. پرگنه‌های قارچ دردمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در ابتدا به شکل دانه‌های کوچک‌اند و در ادامه خشک و شدیداً چین خورده می‌شوند. پرگنه‌ها بیشتر از ریسه‌های استریل و به‌ندرت از کلامیدوسپور (قطر ۵ تا ۱۰ میکرون)، آرتروسپور و بلاستوسپور تشکیل شده‌اند. در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پرگنه‌های کوچک خاکستری رنگ تولید می‌شوند که از سلول‌های مخمّری و تعداد اندکی ریسه تشکیل شده‌اند. در آسیب‌شناسی، فرم مخمّری ارگانیسم به صورت سلول‌های کروی تا بیضی شکل با یک مرکز بازوفیل در داخل سلول‌های ماکروفاژ در بافت‌های رنگ‌آمیزی شده به روش هماتوکسیلین ـ ائوزین حضور دارد. در آزمون اگزوآنتی‌ژن، دو خط رسوبی H و M دیده می‌شوند. آزمون جلدی حتی در مواردی که نشانه‌های بالینی موجود نباشند، نیز مثبت است. آزمون‌های الایزا و فلئورسانس آنتی‌بادی غیرمستقیم برای شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد قارچ در سرم حیوانات مبتلا طراحی و به‌کار گرفته شده‌اند. یکی دیگر از روش‌های تشخیص عفونت، تزریق داخل صفاقی نمونه‌های بالینی مشکوک به موش است. ۲ تا ۴ هفته پس از تزریق، فرم مخمّری قارچ در گسترش‌های فشاری[1] تهیه شده از کبد و طحال حیوان دیده می‌شود.

## پسیلومایکوزیس

پسیلومایکوزیس عفونت قارچی ناشی از گونه‌های *پسیلومایسس*[2] و وجود آن در انسان و گروه متنوعی از حیوانات گزارش شده است. این عفونت عمدتاً ریوی و در خزندگان و دوزیستان بسیار شایع است. عفونت در حیوانات دیگر نظیر سگ، اسب، گربه، (گرانولومای بینی) و بز (ورم پستان) نیز گزارش شده است. عوامل زمینه‌ساز نظیر سرکوب سیستم ایمنی یا تغییر فلور میکروبی نرمال در پی مصرف دراز مدت آنتی‌بیوتیک‌ها، عفونت قارچی ناشی از

1- Impression smear

2- *Paecilomyces* spp.

پسیلومایکوزیس را ایجاد می‌کنند.

**زیستگاه طبیعی**

قارچ *پسیلومایسس* عامل عفونت است. شایع‌ترین گونه‌های بیماری‌زای این قارچ، *پسیلومایسس لیلاسینوس*[1] و *پسیلومایسس واریوتی*[2] هستند. این قارچ‌ها، معمولاً بیماری‌زا نیستند و به صورت ساپروفیت در خاک و مواد آلی در حال فساد یافت می‌شوند. عفونت از طریق استنشاق کونیدیوم‌های قارچ ایجاد می‌شود و به طور معمول از کانون اولیهٔ ریوی به ارگان‌های مختلف گسترش می‌یابد. در فرم ورم پستان، قارچ از طریق کارتیه‌های پستانی وارد می‌شود.

**نشانه‌های بالینی**

علایم بالینی عموماً متغیر و غیراختصاصی هستند و به نوع بافت درگیر بستگی دارند. ارگان‌های درگیر از حدّ طبیعی بزرگ‌تر و حاوی ندول‌های خاکستری مایل به سفید رنگ هستند. در عفونت‌های پراکنده شده، ضایعات گرانولوماتوز حاوی ریسه‌های تقسیم‌شونده، به قطر ۲ تا ۳ میکرون، به صورت کانون‌های پراکندهٔ رنگ‌پریده به همراه کونیدیوم‌های بیضی شکل در بسیاری از بافت‌ها بویژه بافت ریه‌ها وجود دارند. این ضایعات ارتباط نزدیکی با مویرگ‌های کوچک و متوسط دارند.

**تشخیص آزمایشگاهی**

در بررسی میکروسکوپی مستقیم نمونه‌های بالینی، ریسه‌های با دیوارهٔ عرضی و کونیدیوم‌های بیضی شکل مشاهده خواهد شد. قارچ را می‌توان از کشت نمونه‌ها نیز جداسازی نمود. ریسه‌ها در مقاطع بافتی تهیه شده از ضایعات نیز حضور خواهند داشت. روش‌های جداسازی و شناسایی و ویژگی‌های ظاهری اختصاصی قارچ در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفضیل مورد بررسی قرار گرفته است.

*1- Paecilomyces lilacinus* *2- Paecilomyces variotii*



**درمان**

هیچ‌گونه روش درمانی مناسبی در این رابطه ارائه نشده است. گونه‌های *پسیلومایسس* حساسیت بسیار متغییری نسبت به عوامل ضدقارچی دارند. گونهٔ *لیلاسینوس* نسبت به آمفوتریسین B و فلوسایتوزین کاملاً مقاوم و درمقابل کتوکونازول حساس می‌باشد، در حالی که گونهٔ *واریوتی* نسبت به آمفوتریسین B و فلوسایتوزین حساس است.

## پنی سیلیوزیس

عفونت‌های ناشی از *پنی‌سیلیوم*[1] در حیوانات اهلی نادر می‌باشند. با این‌حال، قارچ *پنی‌سیلیوم* از موارد عفونت‌های جلدی در گربه، سلولیت چشمی و سینوزیت همراه با پنومونی در گربه، عفونت مهاجم بافت بینی در سگ و عفونت سیستمیک در موش خیزران[2] جداسازی شده است. گونه‌های *پنی‌سیلیوم* به فراوانی در طبیعت پراکنده بوده و در خاک، دانه‌ها و طیف وسیعی از اغذیهٔ حیوانی و انسانی حضور دارند. مهمترین عامل بیماری *پنی‌سیلیوم مارنفئی*[3] می‌باشد.

**نشانه‌های بالینی**

در سگ‌های مبتلا به پنی‌سیلیوز بینی، نشانه‌هایی نظیر عطسهٔ مزمن و ترشحات خونریزی دهنده و یا موکوسی چرکی از بینی حضور دارد. ریسه‌های قارچی در ناحیهٔ مخاط بینی در اطراف کانون‌های نکروزه قابل مشاهده می‌باشند.

**تشخیص آزمایشگاهی**

تشخیص براساس کشت قارچ، ویژگی‌های ضایعات و حضور ریسه‌های قارچی و یک آزمون انتشار دوگانه در ژل انجام می‌شود. جداسازی یک گونه از *پنی‌سیلیوم* از کشت نمونه‌های بالینی باید با دیدن ریسه‌های قارچی در نمونه‌های بیوپسی بافت‌های آلوده تأیید شود. *پنی‌سیلیوم مارنفئی* از قارچ‌های دوشکلی است که در داخل بافت به صورت مخمّری دیده می‌شود و در این حالت بسیار شبیه فرم مخمّری هیستوپلاسما کپسولاتوم است. دربارهٔ

*1- Penicillium* spp. 2- Bamboo rat *3- Penicillium marneffei*

مورفولوژی ماکرو و میکروسکوپی گونه‌های مختلف *پنی‌سیلیوم* بویژه گونهٔ *مارنفئی* در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی بحث شده است.

**درمان**

برداشت ضایعات با جراحی به همراه کورتاژ و شستشوی حفرهٔ بینی با ترکیبات یددار و مصرف خوراکی تیابندازول برای درمان عفونت مؤثر هستند. مصرف ترکیبی از تیابندازول و فلوسایتوزین نیز نتیجه درمانی مناسبی در پی خواهد داشت.

## پیتیوزیس

پیتیوزیس[1] یک عفونت گرانولوماتوز جلدی است که عامل آن قارچی به نام *پیتیوم اینسیدیوزوم*[2] یا همان *هایفومایسس دسترونس*[3] است. نام‌های دیگر این بیماری سرطان باتلاق[4]، بورساتی[5] و بیماری زالو[6] است. قارچ عامل بیماری، علاوه بر عفونت‌های جلدی در اسب، از عفونت‌های جلدی، دهانی و گوارشی در سگ و ضایعات ریوی در اسب نیز جداسازی شده است. گاو (فرم جلدی)، انسان و احتمالاً گربه و گوسفند نیز به عفونت طبیعی مبتلا می‌شوند. پیتیوزیس یکی از عفونت‌های شایع حیوانات اهلی در برخی از مناطق گرمسیری جهان است.

**زیستگاه طبیعی**

*پیتیوم اینسیدیوزوم* و سایر گونه‌های پیتیوم از جمله قارچ‌های آبزی هستند که در ردهٔ اُامیست‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. این قارچ‌ها در دیوارهٔ سلولی خود سلولز دارند. قارچ‌های مزبور از طریق پیوند اندام‌های جنس نر (آنتریدیوم) به اندام‌های جنس ماده (اُگونیوم) تولیدمثل می‌کنند. ریسه‌ها پهن و دیوارهٔ عرضی دارند.

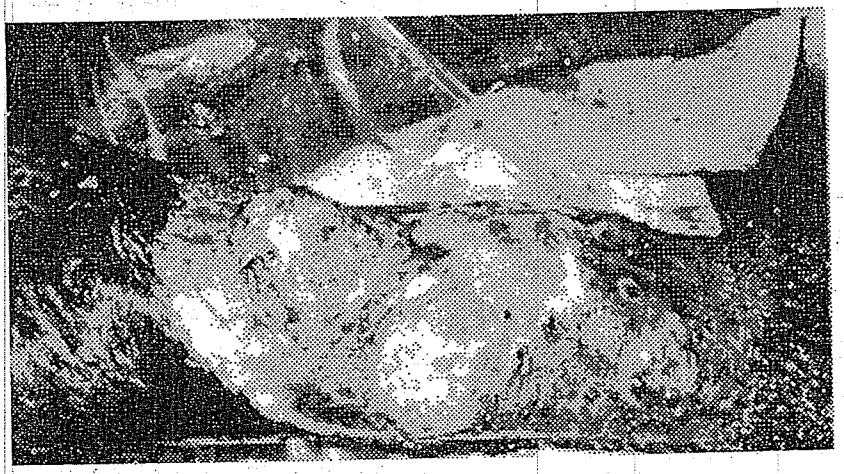
**نشانه‌های بالینی**

ضایعات در اسب به صورت ندول‌های گرانولوماتوز زخم شوندهٔ گرد و نکروز زرد -

1- Pythiosis
2- *Pythium insidiosum*
3- *Hyphomyces destruens*
4- Swamp cancer
5- Bursatti
6- Leeches



خاکستری رنگ بافت‌های زیرجلدی بویژه در ناحیهٔ مفصل قلمی - بندانگشتی ظاهر می‌شوند (تصویر ۱-۱۷). ضایعات همراه با خارش‌اند و ترشحات موکوسی از سطح آنها خارج می‌شود. مجاری ترشحی (سینوس‌ها) حاوی ترکیبات موکوسی - چرکی هستند. ضایعات عموماً در پاها بویژه نواحی انتهایی اندام حرکتی خلفی (مفصل قلمی - بندانگشتی)، شکم، سینه و دستگاه تناسلی دیده می‌شوند. پراکندگی ضایعات به ماهیت زیستی ارگانیسم عامل وابسته است. در بافت‌های درگیر، فیبروز و مناطق نکروز کانونی با رنگ و وسعت متغیر وجود دارد. در زیر میکروسکوپ، کانون‌های التهابی حاد، حاوی ائوزینوفیل یا یک واکنش گرانولوماتوز نکروزدهنده به همراه شبکه‌ای از ریسه‌های چندشاخه با پهنای متغیر دیده می‌شود.



**تصویر ۱-۱۷- لنفانژیت مشخص به همراه تورم و التهاب پا در ناحیهٔ مفصل قلمی - بند انگشتی در یک اسب [۲۷].**

**تشخیص**

ضایعات بیماری در اسب به ضایعات انتوموفتورومایکوزیس و هابرونمیازیس جلدی

شباهت دارد. در پیتیوزیس، مراکز نکروزه از بافت‌های اطراف جدا است و ترشحات سروزی چرکی غالباً از مجاری سینوسی سطح ضایعات خارج می‌شوند. ریسه‌های تقسیم شونده، منشعب و چندشاخه نامنظم به قطر حدود ۴ تا ۸ میکرون در محل ضایعات دیده می‌شوند. دربارهٔ روش‌های تشخیص آزمایشگاهی و ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی گونه‌های پیتیوم در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفضیل بحث شده است.

درمان

برداشت ضایعات با جراحی، ایمونوتراپی یا تلفیقی از این دو روش برای درمان بیماری مؤثراند. ایمونوتراپی، تزریق داخل جلدی ۰/۰۲ تا ۰/۱ میلی‌لیتر از فرم کامل قارچ عامل به محل عفونت است. چنین روش درمانی، ممکن است درگیری استخوان و لنگش حیوان مبتلا را در پی داشته باشد. در فرم موضعی عفونت، برداشت ضایعات با جراحی به همراه تجویز موضعی یا عمومی آمفوتریسین B بسیار مؤثر خواهد بود.

## ژئوتریکوزیس

ژئوتریکوزیس یک عفونت قارچی کمیاب و عامل آن *ژئوتریکوم کاندیدوم*[1] است. این قارچ یک ساپروفیت همه‌جایی است که در خاک و مواد آلی در حال فساد یافت می‌شود. ژئوتریکوزیس به صورت عفونت سیستمیک در سگ، سقط جنین و ورم پستان در گاو و ضایعات کازئوز غدد لنفاوی در خوک ظاهر می‌شود. همچنین، قارچ عامل بیماری از نمونه‌های مدفوع حیوانات مبتلا به آنتریت، و ضایعات پوستی در حیوانات مختلف و پرندگان و دستگاه تنفس اسب، پنگوئن، جوجه و انسان جداسازی شده است.

نشانه‌های بالینی

نشانه‌های بالینی عموماً غیراختصاصی و برحسب اندام درگیر متفاوت است. فرم پراکنده شدهٔ عفونت در سگ با علایمی نظیر تب، سرفه، اشکال در تنفس، بی اشتهایی و استفراغ همراه

1- *Geotrichum candidum*



است. در رادیوگرافی ناحیهٔ سینه، ضایعات ندولار در برخی از مناطق ریه دیده می‌شود. در فرم پراکنده شدهٔ بیماری، ضایعات به صورت گرانولوم‌های مشخص زرد ـ خاکستری رنگ دیده می‌شوند.

تشخیص آزمایشگاهی

قارچ عامل بیماری، باتوجه به ویژگی‌های کشت و ظاهر میکروسکوپی آن به‌طور قطعی تشخیص داده می‌شود. عناصر قارچی، به صورت سلول‌های مخمّر مانند بیضی شکل تنها با قطر ۳ تا ۷ میکرون و زنجیره‌هایی از سلول‌های گرد مخمّری (ریسه کاذب) به صورت آزاد و در داخل ماکروفاژها و سلول‌های غول‌پیکر هستند. ژئوتریکوم *کاندیدوم* در مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی شده به روش هماتوکسیلین ـ ائوزین به *کاندیدا آلبیکنس* و هیستوپلاسما کپسولاتوم شباهت دارد. دربارهٔ روش‌های جداسازی و شناسایی این قارچ به همراه ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی آن در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی به تفصیل بررسی شده است.

درمان

فرم خوراکی نیستاتین در درمان ژئوتریکوزیس گوارشی با علایم اسهال آبکی مؤثر است. برای درمان ورم پستان ناشی از ژئوتریکوم *کاندیدوم*، از پمادهای پستانی ضد قارچی استفاده می‌شود.

## آدیاسپیرومایکوزیس

آدیاسپیرومایکوزیس[1] یک عفونت تنفسی در انسان و حیوانات مختلف بویژه جوندگان، سگ و گروه متنوعی از حیوانات وحشی است که عامل آن جنس قارچی *امونسیا*[2] است. وجود این بیماری در آفریقا، آسیا، اروپا، نیوزلند و امریکای شمالی و جنوبی گزارش شده است. آدیاسپیرومایکوزیس، از این نظر که اسپورهای قارچی استنشاق شده به‌نام آدیاسپور[3]، در داخل بافت‌های میزبان منحصراً بزرگ می‌شوند و به هیچ وجه تکثیر نمی‌شوند، بسیار منحصر

1- Adiaspiromycosis 2- *Emmonsia* 3- Adiaspore

به فرد است. نام این بیماری از کلمهٔ آدیاسپور اقتباس شده که در یونانی به معنای افزایش اندازه بدون هر گونه تکثیر است. نام‌های دیگر بیماری هاپلومایکوزیس[1] و آدیاسپیروزیس[2] است. هریک از کونیدیوم‌های استنشاق شده در محل استقرار در ریه‌های میزبان رشد می‌کنند و به یک اسپور عظیم الجثهٔ با دیوارهٔ ضخیم به‌نام آدیاسپور تبدیل می‌شوند. در شرایط آزمایشگاهی نیز آدیاسپور از کونیدیوم تولید می‌شود. اسپورها در پایان توان زنده ماندن خود را از دست می‌دهند و دچار کلسیفیکاسیون می‌شوند. آدیاسپیرومایکوزیس یک بیماری معمولاً خود محدودگر، خوش‌خیم و موضعی است که علایم بالینی بسیارکمی دارد. البته در این‌باره، مواردی از عفونت‌های ریوی چند کانونی کشنده نیز گزارش شده است.

### زیستگاه طبیعی

آدیاسپیرومایکوزیس با یک قارچ خاکزی به نام *امونسیا پاروا*[3] یا همان *کرایزوسپوریوم پاروووم*[4] ایجاد می‌شود. این قارچ دو واریته به نام‌های *واریتهٔ پاروا*[5] و *واریتهٔ کرسنس*[6] دارد. *امونسیا پاروا* در خانوادهٔ مونیلیاسه[7] از ردهٔ هایفومیست‌ها و شاخهٔ دوترومایکوتا طبقه‌بندی شده است. هر دو واریتهٔ این قارچ برای حیوانات بیماری‌زا هستند، در حالی که موارد بیماری در انسان منحصراً با *واریتهٔ کرسنس* ایجاد می‌شود. مشخصات هر دو نوع واریته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد یکسان است، لیکن در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، اندازهٔ آدیاسپورهای *واریتهٔ کرسنس* در شرایط طبیعی و آزمایشگاهی، ۵ تا ۱۰ برابر اندازهٔ آدیاسپورهای *واریتهٔ پاروا* است. به‌علاوه، آدیاسپورهای *واریتهٔ کرسنس* برخلاف آدیاسپورهای *واریتهٔ پاروا*، چندهسته‌ای هستند. لازم به ذکر است که یک قارچ به نام *اسپوروتریکوم پروئینوزوم*[8] در بافت مغز موش‌های آلوده آدیاسپور ایجاد می‌کند.

### همه‌گیرشناسی و اکولوژی

1- Haplomycosis
2- Adiaspirosis
3- *Emmonsia parva*
4- *Chrysosporium parvum*
5- *Emmonsia parva var. parva*
6- *Emmonsia parva var. crescens*
7- Moniliaceae
8- *Sporotrichum pruinosum*



*امونسیا پاروا واریتهٔ کرسنس* در جهان گسترده و عامل اصلی آدیاسپیرومایکوزیس در حیوانات و تنها عامل بیماری در انسان است. این قارچ حداقل در ۹۰ گونه از پستانداران متعلق به ۵ راستهٔ مختلف شناسایی شده است. بیشتر حیوانات حساس، در تونل و سوراخ‌های زیرزمینی زندگی می‌کنند که در این‌باره می‌توان به راسو، سمور، مینک، سمورآبی، موش کور، سنجاب زمینی، خرگوش، موش باغی، موش آبی امریکای شمالی[1] و موش صحرایی اشاره کرد. وجود آدیاسپیرومایکوزیس ناشی از *واریتهٔ پاروا* در ۲۱ گونه از جوندگان و همچنین تعداد اندکی از سایر گونه‌های حیوانی در امریکای‌شمالی، آسیا و جمهوری چک گزارش شده است. دو گونهٔ دیگر جنس *امونسیا* یعنی *امونسیا برازیلینسیس*[2] و *امونسیا سیفرینا*[3] امروزه به یک نام مشترک: یعنی، *کرایزوسپوریوم پروئینوزوم*[4] خوانده می‌شوند. خاک، زیستگاه طبیعی *امونسیا پاروا* است که به‌عنوان منبع عفونت نیز محسوب می‌شود. به عقیده متخصصان؛ آدیاسپورهای موجود در بدن حیوان مبتلا به بیماری، (جوندگان) از دستگاه گوارش پستانداران شکارچی (پس از بلعیدن حیوان مبتلا) عبور و پس از ورود به خاک و رشد ساپروفیتی، میسلیوم و کونیدیوم تولید می‌کنند. در ادامه، جوندگان حقّار از طریق استنشاق این کونیدیوم‌ها آلوده می‌شوند. سایر حیوانات نیز به همین روش مبتلا می‌شوند. آدیاسپورها در عفونت تجربی (تزریق داخل رگی یا زیرجلدی سوسپانسیون کونیدیوم قارچ به موش) در تمام بافت‌های نرم بدن بویژه ریه‌ها، کبد و طحال، تشکیل می‌شوند. علایم بیماری شامل تب، کاهش وزن، ضعف و تنگی‌نفس است.

### تشخیص آزمایشگاهی

آدیاسپیرومایکوزیس معمولاً از طریق بررسی نمونه‌های بیوپسی ریه، تشخیص داده می‌شود. در مواردی که آلودگی شدید باشد، ندول‌های سفید تا خاکستری رنگ ماکروسکوپی در بافت ریهٔ حیوانات مبتلا به بیماری دیده می‌شوند. دیدن آدیاسپور در داخل ندول‌ها، در گسترش‌های فشاری تهیه شده از قطعات کوچکی از بافت ریه، تشخیص بیماری را قطعی می‌کند. در مواردی که تعداد آدیاسپور اندک باشد، بررسی مقاطع بافت شناسی برای دیدن این

1- Muskrat
2- *Emmonsia braziliensis*
3- *Emmonsia ciferrina*
4- *Chrysosporium pruinosum*

اسپورهای اختصاصی ضروری است. فرم میسلیومی قارچ از طریق تلقیح بخش کوچکی از بافت‌های آلوده روی محیط‌های سابورو دکستروز اگار و سایر محیط‌های قارچ شناسی و انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۳ هفته جداسازی می‌شود. هر دو واریتهٔ *اِمونسیا پاروا* به بهترین وجه در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد رشد می‌کنند. دربارهٔ روش‌های شناسایی و ویژگی‌های ماکرو ومیکروسکوپی واریته‌های *امونسیا پاروا* در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی بحث شده است.

درمان

داروهای کتوکونازول، تیابندازول و ترکیب دارویی آمفوتریسین B و فلوسایتوزین اثر درمانی مناسبی دارند. رشد ریسه‌ها و احتمالاً جوانه‌زدن آدیاسپورها در شرایط آزمایشگاهی با ایمیدازول‌ها مهار می‌شود. آمفوتریسین B می‌تواند تبدیل شدن کونیدیوم و ریسهٔ *واریتهٔ* کرسنس به آدیاسپور را در موش‌های مبتلا به عفونت تجربی مهار کند.

## ساپرولگنیازیس

ساپرولگنیازیس [1] یکی از بیماری‌های ماهیان آب‌های شیرین و ماهیان خلیجی است. این بیماری به نام‌های دیگر نظیر عفونت قارچی آب [2]، مایکوز اولسراتیو [3] و بیماری دهان پنبه‌ای [4] نیز خوانده می‌شود. عامل بیماری مزبور یک قارچ آبزی از طبقه اُمیست‌ها به نام *ساپرولگنیا* [5] است که معروف‌ترین گونهٔ آن *ساپرولگنیا پارازیتیکا* [6] نام دارد.

زیستگاه طبیعی

اُمیست‌ها عامل‌های بیماری‌زای مهم در ماهیان خلیجی هستند. این گروه از قارچ‌ها در جهان پراکنده‌اند و درواقع هر یک از ماهیان آب شیرین احتمالاً حداقل به یکی از گونه‌های اُمیستی حساس هستند. اُمیست‌ها دارای ۴ راسته هستند که در این میان، گونه‌های متعلق به سه راستهٔ

1- Saprolegniasis
2- Water mould infection
3- Ulcerative mycosis
4- Cotton mouth disease
5- *Saprolegnia*
6- *Saprolegnia parasitica*



ساپرولگنیال [1]، لپتومیتال [2] و پرونوسپورال [3] ماهیان زنده را آلوده می‌کنند. برخی از این گونه‌ها، سایر مهره‌داران آبزی نظیر دوزیستان و حتی بی‌مهرگان آبزی را نیز مبتلا می‌سازند.

همه‌گیرشناسی و بیماری‌زایی

قارچ‌های آبزی برای رشد و اسپورزایی به آب نیاز دارند و نمی‌توانند اسپورهای هوایی [4] تولید کنند. زئوسپورهای متحرک [5] تولید شده به وسیلهٔ ریسه‌های رویشی قارچ‌های آبزی، عامل گسترش و پراکندگی قارچ از مکانی به مکان دیگر و احتمالاً عامل اصلی آلوده‌سازی ماهیان هستند. هرچند ضایعات فرم تیپیک ساپرولگنیازیس به سرعت در سطح پوست گسترش می‌یابند، اما این ضایعات معمولاً بخش‌های عمقی عضلات را درگیر نمی‌سازند. با این‌حال، صدمات ناشی از ضایعات سطحی به پوست و آبشش‌ها سبب مرگ حیوان می‌شود. شدت بیماری عموماً به وسعت ناحیهٔ درگیر در پوست و آبشش‌ها وابسته است. در این‌باره، هرچه وسعت ناحیهٔ درگیر بیشتر باشد، استرس اسمزی و عدم تعادل الکترولیتی شدیدتر خواهد بود. زخم‌های جلدی ناشی از صدمات مکانیکی و سایر عوامل بیماری‌زا، زمینه ابتلای به عفونت را افزایش خواهد داد. شیوع بسیاری از اُمیست‌ها فصلی است. برای مثال، تعدادی از گونه‌های *ساپرولگنیا* حداکثر فعالیت خود را در فصول سردتر سال نشان می‌دهند. بسیاری از اُمیست‌های ساپرولگنیال حتی در مقابل مقدار متوسط نمک نیز حساس‌اند و شاید یکی از دلایل اصلی ناتوانی این قارچ‌ها در آلوده‌سازی ماهیان دریایی همین مسئله باشد. درمیان اُمیست‌ها، تنها قارچ *پتیوم اینسیدیوزوم* [6] اهمیت زئونوتیک دارد. این قارچ عامل عفونت گرانولوماتوز نواحی انتهایی بدن در اسب و برخی از حیوانات دیگر و گاه نیز عامل عفونت جلدی در انسان است. ناتوانی رشد اُمیست‌ها در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، توانایی این قارچ‌ها را در ایجاد عفونت در پستانداران بسیار محدود کرده است.

نشانه‌های بالینی

شایع‌ترین نشانهٔ بالینی ساپرولگنیازیس، رشد پنبه‌ای شکل نسبتاً سطحی قارچ روی

1- Saprolegniales
2- Leptomitales
3- Peronosporales
4- Aerial spores
5- Motile zoospores
6- *Pythium insidiosum*

پوست و آبشش‌ها است. این ضایعات معمولاً به صورت آلودگی‌های کانونی کوچک آغاز و به سرعت (گاه در عرض ۲۴ ساعت) در سطح بدن پخش می‌شوند. ضایعات تازه تشکیل شده به علت وجود میسلیوم‌های قارچ، سفیدرنگ هستند. با گذشت زمان، به دام افتادن جلبک‌ها و ترکیبات زاید موجود در آب در داخل تودهٔ میسلیومی باعث ایجاد رنگ قرمز، قهوه‌ای و یا سبز در محل ضایعات می‌شود. علاوه بر فرم تیپیک فوق‌الذکر، یک فرم مهاجم از ساپرولگنیازیس به نام مایکوز اولسراتیو وجود دارد که عمدتاً ماهیان منهادن اقیانوس اطلس[1] را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این فرم، ضایعات به شکل لکه‌های قرمز رنگ کوچک به قطر ۵ میلی متر در سطح پوست تشکیل می‌شوند و هر کدام به سرعت به یک زخم نکروزه به قطر ۲۵ میلی‌متر تبدیل می‌شوند. ریسه‌های قارچ به همراه بافت نکروزه در محل ضایعات وجود دارند. این ضایعات اغلب عمقی می‌شوند و اندام‌های داخلی را نیز متأثر می‌کنند. فرم مهاجم عمدتاً با گونه‌های *آفانومایسس*[2] و گاه با گونه‌های *ساپرولگنیا* ایجاد می‌شود. اُمیست‌ها از عامل‌های بیماری‌زای مهم برای تخم ماهیان هستند. عفونت در این موارد از تخم‌های نابارور و مرده آغاز می‌شود و به سرعت به تخم‌های سالم مجاور گسترش می‌یابد و در پایان تمام تخم‌ها را به طور کامل نابود می‌کند.

### تشخیص آزمایشگاهی

برای تشخیص عفونت‌های اُمیستی، ماهی بیمار در زمان بررسی باید زنده باشد؛ زیرا قارچ‌های آبزی از ساپروفیت‌های شایع خاک، آب‌های آزاد و محیط‌های خلیجی بوده و ماهیان مرده بستر مناسبی برای کلنیزه شدن و استقرار این قارچ‌ها هستند. به‌علاوه، اُمیست‌ها عموماً به طور ثانویه روی ضایعاتی که سایر ارگانیزم‌های بیماری‌زا ایجاد کرده‌اند، مستقر می‌شوند. دیدن یک رشد پیش‌رونده پنبه‌ای شکل روی پوست و آبشش‌ها، احتمال تشخیص فرم تیپیک ساپرولگنیازیس را فراهم می‌آورد. از آنجا که برخی از باکتری‌ها مانند *سایتوفاگا*[3] و تک یاخته‌هایی نظیر *هتروپولاریا*[4] نیز ضایعات بالینی مشابه ایجاد می‌کنند، تشخیص قطعی

1- Atlantic menhaden
2- *Aphanomyces* spp.
3- *Cytophaga*
4- *Heteropolaria*



ساپرولگنیازیس و یا هر عفونت اُمیستی دیگر با دیدن ریسه‌های پهن بدون دیوارهٔ عرضی با قطر ۷ تا ۴۰ میکرون در گسترش‌های مرطوب تهیه شده از ضایعات عملی خواهد بود. از نظر بافت شناسی، تشخیص فرضی فرم تیپیک ساپرولگنیازیس بر دیدن ضایعات نسبتاً سطحی دارای ریسه‌های پهن بدون دیوارهٔ عرضی استوار است. این ریسه‌ها را، با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین می‌توان دید. در مقاطع بافتی، التهاب ناچیزی دیده می‌شود و قارچ معمولاً از لایه‌های عضلانی سطحی عبور نکرده است. تشخیص مایکوز اولسراتیو بر وجود اولسرهای پوستی عمیق با ریسه‌های پهن (با قطر دست‌کم ۷ میکرون) بی‌رنگ بدون دیوارهٔ عرضی به همراه یک پاسخ التهابی مزمن استوار است. این ریسه‌ها را با استفاده از رنگ‌آمیزی GMS به آسانی می‌توان دید. ریسه‌های برخی از قارچ‌ها، مشابه ریسه‌های عوامل مایکوز اولسراتیو است. برای مثال، می‌توان به قارچ *ایختیوفانوس*[1] اشاره کرد. البته، این قارچ علاوه بر ریسه، کیست نیز تولید می‌کند. اُمیست‌ها را می‌توان براساس تاج‌های لوله‌ای میتوکندریایی[2] در زیر میکروسکوپ الکترونی از سایر قارچ‌های با ریسه‌های پهن بدون دیوارهٔ عرضی (دارای تاج‌های میتوکندریایی صفحه‌ای شکل) تفکیک و متمایز کرد. در تشخیص قطعی یک عفونت اُمیستی به دیدن اسپورانژیوم‌های غیرجنسی نیاز است. از آنجا که این ساختمان‌ها تنها در برخی از موارد درگسترش مستقیم تهیه شده از ضایعات سطح بدن ماهی دیده می‌شوند، کشت معمولاً لازم است. کشت به بهترین وجه با استفاده از محیط‌های غیرمغذّی نظیر آرد ذرت اگار انجام می‌شود. در موارد آلودگی شدید ضایعات به باکتری‌ها، افزودن پنی‌سیلین (حدود ۵۰۰ واحد در میلی‌لیتر) و استرپتومایسین (حدود ۰/۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) به محیط کشت، شانس جداسازی قارچ را افزایش می‌دهد. البته برخی از اُمیست‌ها، بویژه *آفانومایسس*، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها شدیداً حساس‌اند. دو جنس اصلی عامل بیماری‌های قارچی در آبزیان یعنی *ساپرولگنیا* و *آچلیا*[3] در این خصوص، معمولاً حساسیت ندارند. بخش کوچکی از بافت‌های آلوده به عنوان نمونه روی پلیت‌های دارای محیط کشت مناسب تلقیح می‌شود و کشت‌ها در دمای

1- *Ichthyophonus*
2- Tubular mitochondrial cristae
3- *Achlya*

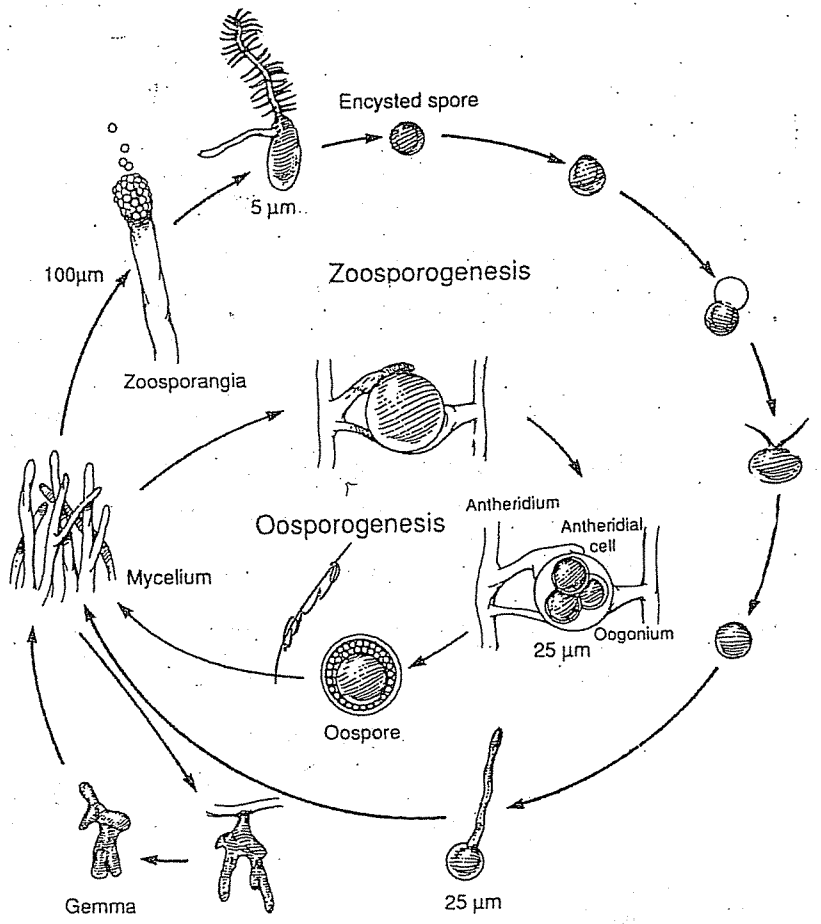
آزمایشگاه نگهداری می‌شوند. به محض دیدن پرگنه قارچ (معمولاً پس از ۴۸ ساعت)، حاشیهٔ فعال میسلیوم با برش دادن بخش کوچکی از اگار دارای پرگنه قارچ به یک پلیت دیگر منتقل می‌شود. این عمل شانس آلودگی باکتریایی را به کمترین میزان ممکن کاهش خواهد داد. احتمال جداسازی بیش از یک نوع قارچ بیماری‌زا از ضایعات وجود دارد. شناسایی جنس و گونهٔ قارچ به ترتیب نیازمند القای اسپورزایی غیرجنسی و جنسی است (شکل ۱-۱). متأسفانه بسیاری از جدایه‌های *ساپرولگنیا* نمی‌توانند در محیط‌های کشت تولید مثل جنسی کنند. محققان، جزئیات روش‌های کشت و القای مراحل تولید مثلی را بررسی کرده‌اند که در کتاب قارچ‌شناسی و بیماری‌های قارچی آبزیان به تفصیل مطرح گردیده است. *ساپرولگنیا پارازیتیکا*[1] و *ساپرولگنیا دیکلینا*[2] احتمالاً شایع‌ترین اُمیست‌های جداسازی شده از ماهیان هستند. این دو قارچ بسیار به یک‌دیگر شبیه‌اند و اغلب به‌نام کمپلکس *ساپرولگنیا دیکلینا - ساپرولگنیا پارازیتیکا* خوانده می‌شوند.

**کنترل و درمان**

بیماری‌های ناشی از قارچ‌های آبزی نسبت به درمان بسیار مقاوم هستند. پرمنگنات پتاسیم و غوطه‌ور سازی در محلول‌های نمکی حتی با غلظت کمتر از ۱۰ قسمت در ترلیون (ppt) می‌تواند مؤثر واقع شود. با این‌حال، هیچ‌کدام از روش‌های درمانی نمی‌توانند رشد اُمیست‌های بیماری‌زا را به‌طور کامل مهار کنند. فرمالین تنها ترکیبی است که در حال حاضر برای استفاده در غذای ماهی پیشنهاد می‌شود. با این‌حال، این ترکیب در بیشتر موارد تأثیر چندانی ندارد. مالاشیت سبز[3] یک عامل موثر در درمان عفونت‌های قارچی ماهیان است، لیکن به دلیل داشتن خواص جهش‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی نمی‌توان از آن در غذای ماهیان استفاده کرد. به همین دلیل، ماهیان بیمار را می‌توان به طور جداگانه در طی یک دورهٔ زمانی حداکثر یک ساعته در داخل غلظت‌های ۰/۱ تا ۵ قسمت در میلیون (ppm) در آب از ملاشیت سبز بدون عنصر روی قرار داد.

1- *Saprolegnia parasitica* 2- *Saprolegnia diclina* 3- Malachite green






**شکل ۱-۱- چرخهٔ زندگی** *ساپرولگنیا* [۷].

## برانشیومایکوزیس

برانشیومایکوزیس[1] عفونت قارچی بافت آبشش و علایم ویژهٔ آن اختلالات تنفسی و نکروز آبشش‌ها است. *برانشیومایسس سانگوئینس*[2] و *برانشیومایسس دمیگرانس*[3] عامل‌های انتقال بیماری هستند. این قارچ‌ها جزو عامل‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب حاضر در مواد آلی در حال فساد در محیط‌های آبی‌اند. بیماری در انواع ماهیان باس[4] گزارش شده است. بیماری با دیده شدن قارچ در گسترش‌های مستقیم یا مقاطع بافتی به‌دست آمده از آبشش تشخیص داده می‌شود. برانشیومایکوزیس در ماهیان پرورشی به دلیل مرگ و میر بالا، بسیار مهم است. مالاشیت سبز بدون روی[5] در درمان بیماری برانشیومایکوزیس استفاده می‌شود.

## اگزوفیالیوزیس

اگزوفیالیوزیس[6] عفونت مخصوص ماهیان گرم آبی دریایی[7] است که با گونه‌های قارچ *اگزوفیالا*[8] ایجاد می‌شود. این بیماری به بیماری اسب آبی[9] نیز معروف است. گونه‌های *اگزوفیالا* از آب‌های شور و شیرین جداسازی شده‌اند. گونه‌ای از *اگزوفیالا* مشابه *اگزوفیالا جنسلمئی*[10] در اسب دریایی شمالی *وترایگرفیش سارگاسوم*[11] گزارش شده است که احتمالاً سایر انواع آبزیان دریاهای گرمسیری را نیز تحت تأثیر قرار دهد. *اگزوفیالا سالمونیس*[12] عامل اگزوفیالیوزیس در ماهیان آزاد است.

### نشانه‌های بالینی و بیماری‌زایی

اولین نشانهٔ بالینی در اسب‌های دریایی مبتلا به اگزوفیالیوزیس، سستی[13] است که با بروز توده‌های بدون زخم در ناحیهٔ درم همراه است. این بیماری گاه با ناتوانی در جهت‌یابی[14] و

1- Branchiomycosis
2- *Branchiomyces sanguines*
3- *Branchiomyces demigrans*
4- Bass
5- Zinc-free malachite green
6- Exophialiosis
7- Marine tropical fishes
8- *Exophiala* spp.
9- Sea horse disease
10- *Exophiala jeanselmei*
11- Sargassum triggerfish
12- *Exophiala salmonis*
13- Lethargy
14- Disorientation



شنای غیرطبیعی[1] نیز همراه است. ضایعات ناشی از *اگزوفیالا* در ماهیان دریاهای گرمسیری به صورت نواحی برآمدهٔ سفید مایل به زرد رنگ دیده می‌شود. این ضایعات در اندام‌های مختلف بویژه کبد ایجاد می‌شوند. از نظر بافت‌شناسی، واکنش التهابی ممکن است به صورت حاد غیرپرولیفراتیو دیده شود. پاسخ حاد اولیه شامل نکروز و تهاجم هتروفیل‌ها و ماکروفاژها است. ریسه‌ها را می‌توان در مقاطع بافتی شناسایی کرد. پاسخ مزمن با تشکیل گرانولوما همراه است که این گرانولوم‌ها نکروزه و مینرالیزه‌اند. این ضایعات به ضایعات سلی شباهت دارند.

### تشخیص آزمایشگاهی

با دیدن ساختمان‌های قارچی تیپیک در مقاطع بافتی تهیه شده از محل ضایعات عفونت تشخیص داده می‌شود. این ساختمان‌ها، ریسه‌ها و کونیدیوم‌های اختصاصی *اگزوفیالا* دارند. گونه‌های *اگزوفیالا* جزو قارچ‌های ناقص هستند و در رده هایفومیست‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. کونیدیوم‌های این گونه‌ها، نسبتاً گرد تا بیضی شکل‌اند و به رنگ زرد ـ قهوه‌ای روی انشعاب‌های هایفی به‌نام آنلید[2] تولید می‌شوند. انتهای این آنلوکونیدیوم‌ها[3] گرد است. ریسه‌ها دیوارهٔ عرضی و ابعادی برابر ۲ در ۳ تا ۵ میکرون دارند. *اگزوفیالا پیسی‌فیلا*[4] روی محیط‌های سیب‌زمینی‌دکستروز اگار، اگارغلّات و اگار عصارهٔ سبزیجات در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کند. در این شرایط، پرگنه‌های سیاه یا خاکستری رنگ با قطر ۲۵ تا ۲۸ میلی‌متر در طی ۲ هفته در سطح محیط کشت ظاهر می‌شوند. گونه‌های *اگزوفیالا* روی محیط سابورو دکستروز اگار رشد مطلوبی ندارند. دربارهٔ روش‌های شناسایی و ویژگی‌های ماکرو و میکروسکوپی *اگزوفیالا* در کتاب قارچ‌شناسی عمومی دامپزشکی بحث شده است.

### درمان

تاکنون هیچ‌گونه روش درمانی مؤثری برای درمان عفونت‌های ناشی از *اگزوفیالا* پیشنهاد نشده است.

1- Abnormal swimming
2- Annellide
3- Annelloconidia
4- *Exophiala pisciphila*

## ایختیوفونیازیس

ایختیوفونیازیس[1] یکی از بیماری‌های ماهیان دریایی گرمسیری است که با یک قارچ آبزی به نام *ایختیوفانوس هوفری*[2] ایجاد می‌شود. این بیماری به نام‌های دیگری چون ایختیوفونوزیس[3]، ترامل کرانخیت[4]، بیماری گیجی[5] و بیماری کاغذ سمباده[6] نیز خوانده می‌شود. *ایختیوفانوس هوفری* شایع‌ترین عامل قارچی بیماری‌زا در ماهیان دریایی است. با این‌حال، سایر انواع قارچ‌ها نظیر *ساپرولگنیا* و *آفانومایسس* نیز از ماهیان دریایی و خلیجی جداسازی شده‌اند. عفونت، به احتمال قریب به یقین از طریق بلعیدن غذاهای آلوده به اسپورهای عفونت‌زای قارچ، منتقل می‌شود. اندوسپورها، به محض آزاد شدن در سراسر بدن پخش و به اسپورهای چند هسته‌ای بزرگ یا اسپورهای در حال استراحت تبدیل می‌شوند.

### بیماری زایی و نشانه‌های بالینی

ندول‌های سفید رنگ در اندام‌های درگیر و بافت همبند ماهیان آلوده ایجاد می‌شود. معمولاً یک پاسخ گرانولوماتوز کانونی حاد در محل ضایعات وجود دارد. اندام‌های دارای خون‌رسانی مناسب مانند قلب، کلیه، کبد، عضلات و پوست، غالباً تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در زیر میکروسکوپ، اسپورهای قارچ، معمولاً با سلولهای تک هسته‌ای، ماکروفاژها، و فیبروبلاست‌ها احاطه شده‌اند. ماکروفاژها دارای اندوسپورهای بلع شده هستند. در برخی از گونه‌های ماهیان، سلول‌های غول پیکر چند هسته‌ای، هتروفیل‌ها، سلول‌های ائوزینوفیلیک و ملانین در محل ضایعات دیده می‌شود. نشانه‌های بالینی، شامل شنای مارپیچی[7] و سایر انواع شنای غیر طبیعی است. این نشانه، بویژه در ماهیان آزاد به چشم می خورد. گرانولوم‌های کوچک زیر جلدی نیز ممکن است به‌وجود آیند. اشتها معمولاً تا مراحل آخر بیماری طبیعی باقی می‌ماند. در برخی از ماهیان، رنگ خطوط جانبی بدن تیره می‌شود که این تیرگی به تدریج به سراسر بدن سرایت می‌کند. تنوع نشانه‌های بالینی به مکان‌های تهاجم قارچ وابسته است.

1- Ichthyophoniasis
2- *Ichthyophonus hoferi*
3- Ichthyophonosis
4- Traummelkrankheit
5- Reeling disease
6- Sandpaper disease
7- Corkscrew swimming



### تشخیص آزمایشگاهی

*ایختیوفانوس هوفری* یک قارچ بیماری‌زا در ماهیان دریایی است که در ردهٔ مشخصی طبقه‌بندی نشده است.این قارچ، از نظر طبقه‌بندی، بحث زیادی را برانگیخته است. *ایختیوفانوس‌هوفری* یک مرحلهٔ مشخص از تولید اسپورهای در حال استراحت[1] دارد. اسپورهای یاد شده در حقیقت سلول‌هایی چندهسته‌ای کروی با دیوارهٔ ضخیم و قطر ۱۰ تا ۲۵۰ میکرومتر هستند. هسته‌ها قطری برابر ۲ تا ۴ میکرون دارند. سیتوپلاسم سلولی گلیکوژن دارد و PAS مثبت است. دیوارهٔ سلولی اسپور نیز پلی ساکاریدها دارد و به شدت PAS مثبت است. *ایختیوفانوس هوفری* روی محیط سابورو دکستروز غنی شده با ۱ درصد سرم گوساله، در دمای ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد، به‌خوبی رشد می‌کند. بیشتر محققان عقیده دارند که این قارچ یک چرخهٔ زندگی سادهٔ بدون مرحلهٔ تولیدمثل جنسی دارد. اسپورهای چندهسته‌ای از طریق تشکیل ریسه یا در اثر شکاف خوردن، به اندوسپورهای کوچکتر تبدیل می‌شود. جوانه‌زدن اسپورها با تولید ریسه همراه است. در طول مرحلهٔ شکاف خوردن اندوژن، سیتوپلاسم اسپور به داخل ریسه راه می‌یابد و بدین ترتیب، اسپورهای دختر با اندازه و تعداد هستهٔ متغیر تولید می‌شوند. البته، تشکیل اسپورهای دختر از طریق شکاف‌خوردن اسپور در حال استراحت نیز گزارش شده است. تقسیم در رأس لوله‌های سیتوپلاسمی داخل بافت‌های آلوده یا در شرایط آزمایشگاهی با تولید اجزای میسلیومی متعدد به‌نام اندوسپور همراه است. این اندوسپورها حرکت آمیبی شکل دارند.

### درمان

هیچ‌گونه درمان دارویی تأیید شده‌ای برای ایختیوفونیازیس، وجود ندارد. به همین دلیل، به‌کار برد روش‌های پیشگیری از بروز بیماری، بسیار مهم است. در این‌باره، رعایت بهداشت و پاستوریزاسیون موادغذایی مستعد آلودگی پیشنهاد می‌شود. حذف ماهیان مرده یا در حال مرگ از محیط‌های آبی از بلیعده شدن بیشتر اسپورهای عفونی جلوگیری خواهد کرد. ماهیان

1- Resting spore

آلوده را می‌توان پس از انجماد به مصرف غذایی سایر ماهیان رسانید.

## بیماری لاروگچی

بیماری لارو گچی[1] عفونت لاروهای زنبور عسل است که با قارچی به نام *آسکوسفرا آپیس*[2] ایجاد می‌شود. این بیماری به‌نام مایکوز پری‌کیستیک[3] نیز معروف است. بیماری لاروگچی بیشتر در شرایط آب و هوایی سرد و مرطوب شایع است و بدین لحاظ غالباً در فصل‌های بهار و اوایل تابستان بروز می‌کند. عواملی نظیر سقوط درجه حرارت کندو از ۳۵ درجه سانتی‌گراد به ۳۰ درجه و کمتر، سوءتغذیه، ضعف پرگنه‌ها، ژنتیک، تهویهٔ نامناسب کندو، مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و آلودگی‌های همزمان به بیماری‌های باکتریایی نظیر لوک اروپایی و امریکایی[4]، انگلی مانند نوزما[5] و ویروسی زمینه را برای ابتلا به بیماری فراهم می‌کند. بیماری لاروگچی معمولاً کندوها را ضعیف می‌کند و گاه خسارات اقتصادی زیادی به جا می‌گذارد.

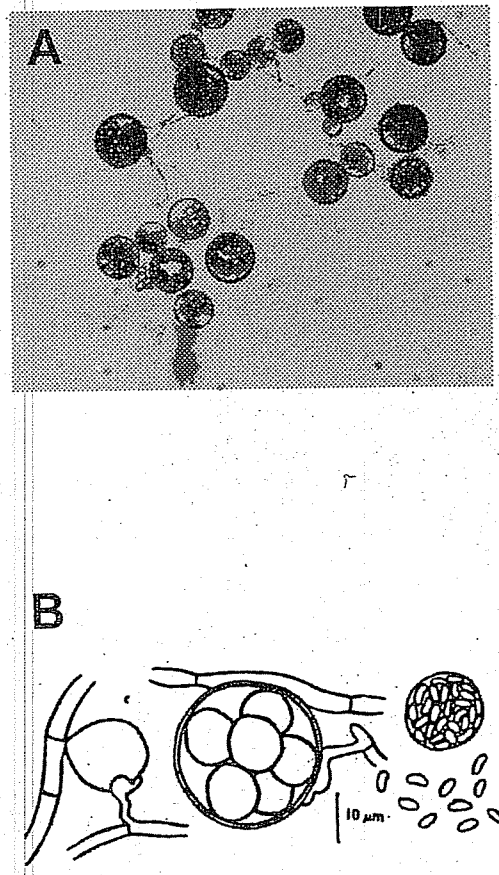
### سبب شناسی و همه‌گیرشناسی

*آسکوسفرا آپیس* دو نوع واریته شامل *واریتهٔ مینور*[6] و *واریتهٔ ماجور*[7] دارد. *واریتهٔ مینور* در بیشتر نقاط دنیا و *واریتهٔ ماجور* در مناطق کمی از جهان، عامل بیماری است. *واریتهٔ ماجور* غالباً از کندوهای آلوده به لوک اروپایی جداسازی می‌شود. *آسکوسفرا آپیس* یک قارچ هتروتالیک[8] است و به همین دلیل تنها درپی جفت شدن انواع آمیزشی سازگار میسلیومی، می‌تواند تولید مثل جنسی کند. در این شرایط، اسپورهای جنسی در داخل محفظه‌ای گرد به نام اسپور بال[9] ایجاد می‌شوند و مجموعهٔ این محفظه‌ها در داخل اندامی به نام اسپوروسیست[10] قرار می‌گیرند (تصویر ۱-۱۸). اسپور و میسلیوم قارچ هر دو برای لارو زنبور عسل عفونت‌زا هستند. تفاوت ظاهری دو نوع واریتهٔ قارچ در قطر اسپوروسیست آنها است که به ترتیب در واریته‌های مینور و ماجور ۳۲ تا ۹۹ (بطور متوسط ۶۵/۸ میکرون) و ۸۸/۴ تا ۱۶۸ (به‌طور متوسط ۱۲۸/۴ میکرون) میکرون گزارش شده است.

1- Chalkbrood disease
2- *Ascosphaera apis*
3- Pericystis mycosis
4- Foulbrood disease
5- Nosema
6- *Ascosphaera apis var. minor*
7- *Ascosphaera apis var.major*
8- Heterothallic
9- Spore ball
10- Sporocyst



تغذیهٔ مواد غذایی آلوده به اسپور و آلودگی سطحی از جمله راه‌های اصلی انتقال آلودگی به لاروهای زنبور عسل است. اسپورهای قارچ می‌توانند تا مدت‌ها (حتی تا ۱۵ سال) در خاک به صورت عفونت‌زا و فعال باقی بمانند و پس از راه‌یابی به زنجیرهٔ غذایی زنبوران از طریق ظروف و وسایل آلوده یا عسل آلودهٔ موجود در عسلدان زنبورهای کارگر و ملکه، لاروها را آلوده و نابود کنند. اسپورها، پس از ورود به لولهٔ گوارش لارو، رشد و میسلیوم تولید می‌کنند. میسلیوم‌های قارچ،انتهای بدن لارو را پاره و پس از خروج، سراسر سطح بدن لارو را دربر می‌گیرند. در صورتی که انواع آمیزشی سازگار میسلیومی وجود داشته باشند، تولید اسپورهای جنسی، لاروها را به رنگ‌های خاکستری یا سیاه در می‌آورد؛ در غیر این‌صورت، لاروها به رنگ سفید دیده می‌شوند (تصویر ۱-۱۹). بیماری مزبور در ایران اولین بار در




**تصویر ۱-۱۸: منظرهٔ میکروسکوپی *آسکوسفرا آپیس*: تولید مثل جنسی در این قارچ با ویژگی تولید اسپور، اسپوربال و اسپوروسیست توصیف می‌شود که مجموعاً به شکل توده‌های کروی تیره رنگ هستند. میسلیوم‌ها نیز وجود دارند *(A)*. تصویر شماتیک قارچ نیز نشان داده شده است *(B)[1]*.**

سال‌های ۱۳۶۸ و ۱۳۶۹ از زنبورستان‌های اطراف دماوند و تهران گزارش و *واریتهٔ مینور* قارچ جداسازی شد. بیماری احتمالاً در استان‌های جنوبی و شمالی ایران نیز، به علت رطوبت نسبی بالا، وجود دارد؛ اما احتمالاً به دلیل ایجاد خسارات اقتصادی ناچیز و شیوع نسبتاً کم، توجهی به آن نشده است.



**تصویر ۱-۱۹: لاروهای آلوده شده با *آسکوسفرا آپیس*: لارو آلوده شده به یک میسلیوم (سمت چپ) و لارو آلوده شده به دو نوع میسلیوم آمیزشی سازگار (سمت راست). علت سیاه‌رنگ شدن لارو سمت راست، تولید اسپورهای سیاه‌رنگ جنسی در پی مرحلهٔ تولید مثل جنسی است [۱].**

### نشانه‌های بالینی

لاروهای ۳ تا ۴ روزه نسبت به بیماری بسیار حساس‌اند. لاروهای آلوده معمولاً تا دو روز پس از بسته شدن درپوش حفره‌ها می‌میرند، در غیر این صورت، در مرحلهٔ پیش شفیره‌ای خواهند مرد. لارو ابتدا متورم می‌شود و تمام فضای حفره را اشغال می‌کند و در این شرایط شکل شش گوش [1] حفره را به خود می‌گیرد. در این زمان، لارو حالت اسفنجی دارد که در ادامه سفت و خشک می‌شود. زنبوران بالغ برای آوردن لاروهای مرده، درپوش حفره‌ها را باز

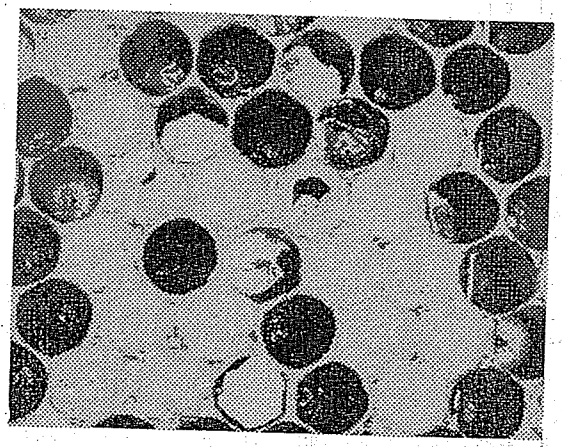
1- Hexagon



می‌کنند. رنگ لارو مرده به علت آلودگی به میسلیوم (یک نوع میسلیوم معمولاً وجود دارد) غالباً سفیدرنگ است و به همین دلیل، برای توصیف بیماری، از اصطلاح لاروگچی استفاده می‌شود (تصاویر ۴-۱۹ و ۴-۲۰).ظاهرشان در این بیماری تقریباً شبیه بیماری‌های لوک اروپایی و امریکایی است. بدین صورت که درپوش حفره‌ها تغییررنگ می‌دهند و اغلب سوراخ شده هستند. وجود حفره‌های درباز و دربسته، منظرهٔ خاصی‌به شان می‌دهد (تصویر ۱-۲۰). لاروهای سفید و خاکستری رنگ موجود در داخل حفره‌ها با تکان دادن‌شان به آسانی از داخل حفره‌ها خارج می‌شوند. این لاروها بوی طبیعی دارند. لاروهایی که در کناره‌های خارجی‌شان مستقر هستند، بویژه لاروهای نر، بیشتر به بیماری مبتلا می‌شوند. سابقاً تصور می‌شد که لاروهای نر حساسیت بیشتری نسبت به بیماری دارند، لیکن اکنون معلوم شده است که درگیری بیشتر لاروهای کناری با بیماری، به علت پایین‌تر بودن دمای نواحی کناری شان در مقایسه با نواحی مرکزی است.

### تشخیص آزمایشگاهی

نمونه‌های مشکوک را می‌توان روی محیط‌های سیب‌زمینی دکستروز اگار غنی شده با ۰/۴ درصد عصارهٔ مخمّر، سابورو دکستروز اگار غنی شده با ۰/۲ درصد عصارهٔ مخمّر یا عصارهٔ مالت اگار کشت داد. قارچ *آسکوسفرا آپیس* روی محیط اوّل به خوبی رشد واسپور و میسلیوم‌های هوایی تولید می‌کند. برای بررسی میکروسکوپی مستقیم، چند عدد لارو گچی تیره‌رنگ را، پس از خرد کردن، در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور می‌کنند و یک قطره از سوسپانسیون به‌دست آمده را روی لام قرار می‌دهند و آن‌را از نظر وجود داشتن اسپور، اسپوربال و اسپوروسیست در زیر میکروسکوپ بررسی می‌کنند (تصویر ۱-۱۸). در کشت نیز چند قطره سوسپانسیون تهیه شده به روش فوق را به محیط کشت داخل پلیت می‌افزایند و به مدت ۵ تا ۷ روز در دمای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار می‌دهند. پرگنه‌های قارچ حالت کرکی دارند و به رنگ خاکستری مایل به سیاه هستند.



**تصویر ۱-۲۰- منظرهٔ شان زنبور عسل در بیماری لاروکچی؛ لاروهای سفید و خاکستری رنگ مرده در داخل حفره‌های‌شان دیده می‌شود. برخی از این لاروها شکل شش گوش حفره را به خود گرفته‌اند[۱].**

## بیماری‌های ناشی از جلبک‌ها

در این بخش، عفونت‌های جلبکی آبزیان و عفونت ناشی از *پروتوتکا*[1] در حیوانات، به‌دلیل اهمیت ویژه بررسی می‌شوند.

## پروتوتکوزیس

پروتوتکوزیس[2] یک بیماری مزمن غیرشایع است که با یک جلبک به‌نام *پروتوتکا* ایجاد می‌شود. شایع‌ترین علایم بیماری، شامل ضایعات جلدی، بورسیت ناحیهٔ آرنج[3] و ورم پستان است. دو گونه از *پروتوتکا*، شامل *پروتوتکا زوپفی*[4] و *پروتوتکا ویکرهامی*[5] عامل‌های ایجاد کنندهٔ پروتوتکوزیس در حیوانات و انسان‌اند. هر دو گونهٔ مذکور، از ضایعات جلدی پوسته‌دار در انسان، بافت پستان در گاو و ضایعات جلدی و بافت‌های مختلف در فرم پراکنده شدهٔ بیماری در سگ جداسازی شده‌اند. گونهٔ *ویکرهامی* نیز از بافت‌های زیرجلدی در گربه و ضایعات جلدی و

1- *Prototheca*
2- Prototheca cosis
3- Olecranon bursitis
4- *Prototheca zopfii*
5- *Prototheca wickerhamii*



لنفاوی در گوزن جداسازی شده است. تاکنون، موارد متعددی از پروتوتکوزیس، در حیوانات و انسان گزارش شده است.

### همه‌گیرشناسی و اکولوژی

موارد ابتلا به بیماری پروتوتکوزیس از سراسر جهان گزارش شده است. بیماری مزبور از نوع اگزوژن (با منشأ محیطی) است و از یک میزبان به میزبان دیگر منتقل نمی‌شود. گونه‌های *پروتوتکا* از منابع محیطی وسیعی جداسازی شده‌اند. هرچند این گونه‌ها تاکنون به‌عنوان عامل‌های بیماری‌زا در گیاهان معرفی نشده‌اند؛ اما دو گونهٔ *زوپفی* و *ویکرهامی* بارها از شیرهٔ آوندی برخی از گونه‌های گیاهی جداسازی شده‌اند. تنهٔ موز و پرندهٔ پارادایز[1] زیستگاه‌های طبیعی *پروتوتکا* هستند. *پروتوتکا زوپفی* و *پروتوتکا ویکرهامی* از فاضلاب‌های شهری و صنعتی در کشورهای مختلف جداسازی شده است. وجود این گونه‌ها از آب‌های شور و شیرین نیز گزارش شده‌اند، با این‌حال، آب به تنهایی نمی‌تواند ارگانیسم را حفظ کند. خاک یکی دیگر از منابع اصلی گونه‌های *پروتوتکا* است. *پروتوتکا زوپفی*[2] از مدفوع حیواناتی نظیر خوک، سگ و موش صحرایی نیز به دفعات جداسازی شده است. موادغذایی در تماس با خاک، آب آلوده و مدفوع حیوانات به گونه‌های *پروتوتکا* آلوده می‌شوند. در موارد ورم پستان ناشی از *پروتوتکا* در گاو، ارگانیسم در شیر غیرپاستوریزه وجود دارد. با این‌حال هیچ‌گونه عفونت انسانی ناشی از مصرف شیرهای آلوده به *پروتوتکا* گزارش نشده است.

### نشانه‌های بالینی

پروتوتکوزیس، در گاو، سگ و گربه شایع‌تر از سایر حیوانات است. عفونت در گاو به صورت ورم پستان ظاهر می‌شود. فرم پراکنده شدهٔ این بیماری در سگ با درگیری چشم، قلب، کبد، ریه، کلیه، غدد لنفاوی موضعی و دستگاه گوارش همراه است. ضایعات جلدی و زیرجلدی به ندرت، آن‌هم به صورت پاپول یا پلاک، دیده می‌شود. بیماری بسیار مزمن است و روند بسیار آهسته‌ای دارد؛ به‌طوری که طی ماه‌ها یا سال‌ها بدون بروز نشانه‌ای از بهبود خود به خود پیشرفت می‌کند. مواردی از اپیدمی ورم پستان با درگیری ۲۳ رأس از ۹۰ رأس گاو شیری

1- *Heliconia* sp.

گزارش شده است.

**تشخیص آزمایشگاهی**

گونه‌های *پروتوتکا* روی محیط‌های کشت قارچ‌شناسی، نظیر محیط سابورو دکستروز اگار به آسانی رشد می‌کنند. این جلبک‌ها نسبت به سیکلوهگزامید حساس‌اند. پرگنه‌های ارگانیسم طی ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ تا ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد روی محیط کشت ظاهر می‌شوند. این پرگنه‌ها روی محیط‌های جامد، شبیه پرگنه‌های *کاندیدا*، *کریپتوکوکوس* و سایر قارچ‌های مخمّرمانند هستند. با این‌حال، گونه‌های *پروتوتکا* را به علت اندازهٔ بزرگ آنها در مقاطع بافتی و تراشه‌های جلدی به‌دست آمده از ضایعات به آسانی می‌توان شناسایی کرد. از آنجا که این گونه‌ها به فراوانی در محیط پراکنده‌اند، برای تشخیص قطعی آنها، ارگانیزم باید از نمونه‌های بافتی استریل جداسازی یا در مقاطع بافتی تهیه شده از نمونهٔ بیوپسی دیده شود.

**عفونت جلبکی آبزیان**

یک گونه از *کلادوفورا*[1]، از عفونت استخوان فکّ بالا در ماهی باس دهان گشاد[2] جزیرهٔ تکسوما واقع در ناحیهٔ اوکلاهاما گزارش شده است. وجود یک گونه از جلبک *کلرلّا*[3]، در حدقهٔ چشم یک نوع خورشید ماهی، در غرب ویرجینیا نیز تأیید شده است.

1- *Cladophora* sp. 2- Largemouth bass 3- *Chlorella* sp.



# آزمون فصل اول

**۱ـ ایجاد شدن ضایعات پوسته‌دار، گردبرآمده، سفید تا خاکستری رنگ، بویژه در نواحی سروگردن حیوانات، از مشخصات کدام‌یک از بیماری‌های زیر است؟**

الف) اسپورتریکوزیس ب) کروموبلاستومایکوزیس

ج) پیتروسپوروزیس د) درماتوفیتوزیس

**۲ـ عامل بیماری موسکاردین در کرم ابریشم کدام‌یک از قارچ‌های زیر است؟**

الف) *بوریا باسیانا* ب) *پروتوتکا زوپفی*

ج) *آسکوسفرا آپیس* د) *اگزوفیالا ورنکئی*

**۳ـ عامل اتیولوژیک اصلی کچلی در گاو، گوسفند و بز کدام است؟**

الف) *ترایکوفیتون آجلویی* ب) *میکروسپوروم کانیس*

ج) *ترایکوفیتون وروکوزوم* د) *میکروسپوروم جیپسئوم*

**۴ـ در کدام‌یک از اشکال آلودگی موها در درماتوفیتوزیس، منحصراً میسلیوم در داخل ساقهٔ مو وجود دارد؟**

الف) اندوتریکس ب) فاووس

ج) اکتوتریکس د) اندو ـ اکتوتریکس

**۵ـ کدام‌یک از داروهای زیر در درمان موارد کچلی در حیوانات و انسان کاربرد دارد؟**

الف) گریزئوفولوین ب) آمفوتریسین B

ج) نیستاتین د) یدور پتاسیم

**۶ـ مهم‌ترین موارد آسپرژیلوزیس برای کدام‌یک از گروه‌های حیوانی زیر پیش می‌آید؟**

الف) جوندگان ب) گاو، گوسفند و بز

ج) اسب و قاطر د) پرندگان

۷ـ مهم‌ترین گونهٔ *آسپرژیلوس* از نظر بیماری‌زایی در حیوانات کدام است؟

الف) *آسپرژیلوس ترئوس*
ب) *آسپرژیلوس فومیگاتوس*
ج) *آسپرژیلوس کلاواتوس*
د) *آسپرژیلوس نایجر*

۸ـ کدام‌یک از قارچ‌های زیر جزو فلور طبیعی بدن بیشتر حیوانات است؟

الف) *کریپتوکوکوس نئوفورمنس*
ب) *اسپوروتریکس شنکئی*
ج) *کاندیدا آلبیکنس*
د) *فوزاریوم گرامیناروم*

۹ـ عامل عفونت سیستم عصبی مرکزی در حیوانات بویژه سگ و گربه کدام است؟

الف) *ژئوتریکوم کاندیدوم*
ب) *کاندیدا تروپیکالس*
ج) *لوبوآ لوبوئی*
د) *کریپتوکوکوس نئوفورمنس*

۱۰ـ قارچ *مالاسزیا پاکی‌درماتیس* عامل کدام‌یک از بیماری‌های زیر است؟

الف) عفونت گوش خارجی
ب) عفونت دستگاه گوارش
ج) ورم پستان
د) کراتیت‌های قارچی

۱۱ـ کدام‌یک از قارچ‌های زیر عامل اتیولوژیک عفونت چینه‌دان پرندگان است؟

الف) *نوروسپورا کراسا*
ب) *هیستوپلاسما کپسولاتوم*
ج) *کاندیدا آلبیکنس*
د) *آسپرژیلوس نایجر*

۱۲ـ دیدن ریسه‌های کوتاه خمیده و دسته‌های سلول مخمّری از مشخصات کدام‌یک از بیماریهای زیر است؟

الف) ترایکوسپورونوزیس
ب) کاندیدیازیس
ج) کریپتوکوکوزیس
د) پیتروسپوروزیس

۱۳ـ کدام‌یک از داروهای زیر بیشترین کاربرد را در درمان عفونت‌های سیستمیک ناشی از قارچ‌های پاتوژن دوشکلی دارد؟

الف) کتوکونازول
ب) تربینافین
ج) آمفوتریسین B
د) فلوسایتوزین



۱۴ـ بروز کدام‌یک از عفونت‌های قارچی زیر، با درگیری عروقی و خونریزی‌های بافتی همراه است؟

الف) مایستوما
ب) زایگومایکوزیس
ج) کوکسیدیوئیدومایکوزیس
د) رینوسپوریدیوزیس

۱۵ـ کدام‌یک از قارچ‌های زیر عامل سقط جنین‌در حیوانات بویژه گاو است؟

الف) *بلاستومایسس درماتیتیدیس*
ب) *پنی سیلیوم مارنفئی*
ج) *اسکوپولاریوپسیس برویکالیس*
د) *مورتیرلّا ولفی*

۱۶ـ کدام‌یک از قارچ‌های زیر عامل انتوموفتوورومایکوزیس در حیوانات است؟

الف) *کونیدیوبولوس کروناتوس*
ب) *آرئوبازیدیوم پولولانس*
ج) *لوبوآ لوبوئی*
د) *کریپتوکوکوس نئوفورمنس*

۱۷ـ ایجاد شدن ندول‌های زیرجلدی در مسیر عروق لنفاوی در اسب، از مشخصات بالینی کدام‌یک از عفونت‌های قارچی زیر است؟

الف) اسپوروتریکوزیس
ب) پیتیوزیس
ج) کروموبلاستومایکوزیس
د) آسپرژیلوزیس

۱۸ـ کدام‌یک از قارچ‌های زیر عامل کروموبلاستومایکوزیس در حیوانات است؟

الف) *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*
ب) *بای‌پولاریس اسپیسیفرا*
ج) *کانینگهاملّا الگانس*
د) *سودآلشریا بویدی*

۱۹ـ ایجاد شدن گرانول در داخل بافت‌های درگیراز مشخصات کدام‌یک از بیماری‌های قارچی زیر است؟

الف) بلاستومایکوزیس
ب) کروموبلاستومایکوزیس
ج) مایستوما
د) رینوسپوریدیوزیس

۲۰ـ تهیهٔ نمونه با بیوپسی در کدامیک از عفونت‌های قارچی زیر به تحریک رشد قارچ عامل منجر می‌شود؟

الف) درماتوفیتوزیس
ب) لوبومایکوزیس
ج) پاراکوکسیدیوئیدومایکوزیس
د) اسپوروتریکوزیس

**۲۱ـکدام‌یک از قارچ‌های زیر عامل بیماری لنفانژیت واگیردار در اسب است؟**

الف) *هیستوپلاسما فارسیمینوزوم*
ب) *پیتیوم اینسیدیوزوم*
ج) *اسپوروتریکس شنکئی*
د) *بازیدیوبولوس راناروم*

**۲۲ـدر کدام‌یک از عفونت‌های قارچی‌زیر، نقش اصلی در دفاع اولیه علیه بیماری برعهدهٔ ایمنی سلولی است؟**

الف) آسپرژیلوزیس
ب) کریپتوکوکوزیس
ج) کاندیدیازیس
د) زایگومایکوزیس

**۲۳ـکدام‌یک از قارچ‌های زیر عامل بیماری بورساتی در اسب است؟**

الف) *هایفومایسس دسترونس*
ب) *هیستوپلاسما کپسولاتوم*
ج) *ساپرولگنیا دیکلینا*
د) *آسپرژیلوس فومیگاتوس*

**۲۴ـتولید زئوسپورهای متحرک و ضایعات پنبه‌ای شکل نسبتاً سطحی روی پوست و آبشش ماهیان از مشخصات کدام‌یک از قارچ‌های زیر است؟**

الف) *ایختیوفانوس هوفری*
ب) *اگزوفیالا ورنکئی*
ج) *ساپرولگنیا پارازیتیکا*
د) *برانشیومایسس سانگوئینس*

**۲۵ـکدام‌یک از قارچ‌های زیر عامل بیماری لارو گچی در زنبور عسل است؟**

الف) *آسکوسفرا آپیس*
ب) *بازیدیوبولوس راناروم*
ج) *ایختیوفانوس هوفری*
د) *پسیلومایسس واریوتی*

**۲۶ـکدام‌یک از قارچ‌های زیر عامل بیماری اگزمای صورت در نشخوارکنندگان است؟**

الف) *پروتوتکا زوپفی*
ب) *رایزوپوس اریزا*
ج) *کاندیدا آلبیکنس*
د) *پیتومایسس چارتاروم*

# فصل دوم

# بیماری‌های ناشی از اکتینومیست‌ها در دامپزشکی

**هدف‌های رفتاری**

**پس از خواندن این فصل فراگیرنده باید:**

۱. ویژگی‌های عمومی اکتینومیست‌ها را بیان کند؛
۲. اکتینومایکوزیس در حیوانات را شرح دهد؛
۳. اهمیت درماتوفیلوزیس واپیدمی‌های مربوطه در حیوانات مختلف را بیان کند؛
۴. نوکاردیوزیس در حیوانات را توضیح دهد.

اکتینومیست‌ها[1] گروه ناهمگونی از پروکاریوت‌ها[2] هستند که رشته‌های منشعب و چندشاخهٔ گرم مثبت با قطر کمتر از ۱ میکرون تولید می‌کنند. همهٔ قارچ‌ها یوکاریوت هستند و قطر رشته‌های آنها همواره بیش از ۱ میکرون است. عامل‌های بیماری‌زای اصلی در میان اکتینومیست‌ها در جنس‌های *اکتینومایسس*، *نوکاردیا* و *درماتوفیلوس* قرار دارند. جنس‌های *نوکاردیا* و *اکتینومایسس* از نظر نسبت گوانین به سیتوزین در ساختمان DNA[3] و ترکیب شیمیایی دیوارهٔ سلولی متفاوت‌اند. برخی از گونه‌های متعلق به دو جنس دیگر اکتینومیستی شامل *استرپتومایسس*[4] و *اکتینومادورا*[5] عامل ایجاد مایستوما در انسان بوده و به ندرت در حیوانات بیماری‌زا هستند. گونه‌های متعلق به جنس‌های *میکروپلی‌سپورا*[6] و *ترموااکتینومایسس*[7] مهاجم نیستند، با این‌حال، استنشاق اسپورهای آنها، آلرژی‌های ریوی در انسان، اسب و احتمالاً سایر حیوانات اهلی که ممکن است علوفه کپک‌زده مصرف کرده باشند، ایجاد می‌کند. ویژگی‌های عمومی اکتینومیست‌ها و بیماری‌های ناشی از اکتینومیست‌های بیماری‌زا به همراه عامل‌های انتقال بیماری و میزبان‌های مربوط به آنها در جدول‌های ۲-۱ و ۲-۲ خلاصه شده است. در این بخش، برخی از این بیماری‌های مهم، بررسی می‌شوند.

## اکتینومایکوزیس

اکتینومایکوزیس یک بیماری گرانولوماتوز چرکی مزمن است که به اشکال مختلف صورتی ـ گردنی[8]، سینه‌ای[9] و شکمی[10] بروز می‌کند و گروه وسیعی از حیوانات اهلی و به ندرت حیوانات وحشی را درگیر می‌سازد. عامل‌های اتیولوژیک بیماری شامل *اکتینومایسس بوویس*[11]، *اکتینومایسس ویسکوزوس*[12]، *اکتینومایسس هوردئولنریس*[13] و *اکتینومایسس سوئیس*[14] هستند. *اکتینومایسس بوویس* تنها از موارد عفونت درگاو جداسازی شده است. گونهٔ اصلی بیماری‌زا در

1- Actinomycetes
2- Procaryotes
3- DNA guanine/cytosine ratio
4- *Streptomyces*
5- Actinomadura
6- *Micropolyspora*
7- *Thermoactinomyces*
8- Cervico-facial
9- Thoracic
10- Abdominal
11- *Actinomyces bovis*
12- *Actinomyces viscosus*
13- *Actinomyces hordeovulneris*
14- *Actinomyces suis*



انسان یعنی *اکتینومایسس اسرائیلی*[1] نیز در مواردی از ضایعات بیماری در حیوانات جداسازی گردیده است. گونه‌های دیگر شامل *اکتینومایسس دنتیکولنس*[2]، *اکتینومایسس هوولی*[3] و *اکتینومایسس اسلاکی*[4] از پلاک‌های دندانی در گاو جداسازی شده‌اند، لیکن اهمیت بیماری‌زایی آنها مشخص نشده است.

### زیستگاه طبیعی

*اکتینومایسس بوویس* عامل اصلی اکتینومایکوزیس در گاو است. این ارگانیسم تاکنون از محیط زیست جداسازی نشده و فلور طبیعی دهان گاو است. *اکتینومایسس اسرائیلی* و سایر گونه‌های *اکتینومایسس* نیز تنها به صورت همزیست با میزبان‌های اصلی خود همراه هستند. گونه‌های *اکتینومایسس*، بی‌هوازی یا کاپنوفیلیک‌اند و متابولیسم تخمیری دارند. این گونه‌ها عامل عفونت‌های موضعی یا عمومی هستند که با ویژگی‌هایی چون ایجاد گرانولوم‌های جلدی و زیرجلدی و گرانولوم‌های ارگان‌های داخلی توصیف می‌شوند.

### نشانه‌های بالینی

شایع‌ترین فرم اکتینومایکوزیس در حیوانات و انسان، فرم صورتی ـ گردنی است. در این فرم از عفونت درگاو، فکّ پایین[5]، فکّ بالا[6] و سایر بافت‌های استخوانی سر و به ندرت بافت‌های نرم بدن درگیر می‌شوند. این بیماری به‌نام فکّ ناهنجار[7] نیز معروف است.درگیری نواحی فک پایین و بالا عمدتاً در زاویهٔ بین فکّ‌ها و گردن پیش می‌آید و با علایمی نظیر تورم، آبسه، مجاری فیستولی، فیبروز گسترده، عفونت استخوان و گرانولوما توصیف می‌شود. بد شکل شدن استخوان‌های درگیر بسیار مشخص است. دندان‌ها سست و عمل جویدن غذا[8] دچار اختلال می‌شود. تورم حفرهٔ بینی در تنفس اختلال ایجاد می‌کند و حیوان به تدریج لاغر می‌شود. آبسه‌های موجود در محل ضایعات حاوی چرک موکوئید زرد رنگ و دانه‌هایی[9] به قطر ۲ تا ۵ میلی‌متر به نام سولفور گرانول[10] هستند. این آبسه‌ها در پایان سر باز می‌کنند و پس از خروج

1- *Actinomyces israelii*
2- *Actinomyces denticolens*
3- *Actinomyces howellii*
4- *Actinomyces slackii*
5- Mandible
6- Maxilla
7- Lumpy jaw
8- Mastication
9- Granules
10- Sulfur granule

چرک و ترشحات، یک اسکار فیبروزه در محل آبسه‌ها تشکیل می‌شود. سابقهٔ تورم با پیشرفت آرام و کند[1] در نواحی فکّ پایین و بالا به همراه تشکیل آبسه و خروج چرک و ترشحات از علایم بالینی اصلی اکتینومایکوزیس صورتی ـ گردنی در گاو است. یک ارگانیسم بی‌هوازی شبیه *اکتینومایسس بوویس* عامل اکتینومایکوزیس در اسب است. این ارگانیسم با *بروسلّا آبورتوس*[2] اثر هم‌افزایی دارد. بیماری در اسب با ایجاد شدن آبسه‌های سینوس‌دار در نواحی تحت فکّی، حلقی و گردنی مشخص می‌شود. غدد لنفاوی نواحی مبتلا به بیماری، حاوی ندول،[1] آبسه و مجاری ترشح‌کننده هستند. بیماری در سگ با *اکتینومایسس ویسکوزوس* ایجاد می‌شود و ویژگی و نشانهٔ آن التهاب پردهٔ جنب[3] است. ضایعات زیر جلدی شامل آبسه و مجاری ترشح‌کننده نیز غالباً وجود دارند. پیشگویی دربارهٔ بیماری کمتر با واقعیت مطابقت پیدا می‌کند و گرانول و فرم رشته‌ای و باسیلی ارگانیسم که بدون زایده‌های جانبی هستند، در محل ضایعات دیده می‌شوند. *اکتینومایسس هوردئولنریس* نیز از عفونت‌های راجعه یا متناوب شکمی، سینه‌ای و موضعی در سگ جداسازی شده است. بیماری در خوک با *اکتینومایسس سوئیس* و احتمالاً *اکتینومایسس بوویس* ایجاد و به صورت ورم پستان چرکی و گرانولوماتوز مزمن ظاهر می‌شود. آبسه‌های کوچک حاوی چرک زرد رنگ که با ناحیهٔ وسیعی از بافت همبند متراکم احاطه شده‌اند، در محل بافت پستان دیده می‌شوند. گرانول‌های زرد رنگ در محل ضایعات وجود دارند. عفونت‌های پراکنده شده ناشی از *اکتینومایسس سوئیس* کمیاب‌اند و با نشانه‌ها و ویژگی‌هایی چون ایجاد ندول‌های پیوگرانولوماتوز در ریه، طحال، کلیه و سایر اندام‌های احشایی توصیف می‌شود.

1- Slow-developing swelling  2- *Brucella abortus*  3- Pleuritis



**جدول ۲-۱- ویژگی‌های عمومی اکتینومیست‌ها [۲۹].**

| ویژگی | *اکتینومایسس* | *نوکاردیا* | *استرپتومایسس* | *درماتوفیلوس* |
|---|---|---|---|---|
| نحوهٔ تنفس | بی‌هوازی یا کاپنوفیلیک* | شدیداً هوازی | هوازی | هوازی - کاپنوفیلیک* |
| کاتالاز | (+)- | + | + | + |
| اسیدفست نسبی (MZN مثبت) | - | + | - | - |
| حرکت | - | - | - | + (با زئوسپور) |
| رشدروی محیط سابورو اگار | - | + | + | - |
| تولید رشته‌های هوایی | - | + | + | - |
| تولید اسپور | - | + (کونیدیوم) | + (کونیدیوم) | + (زئوسپور) |
| تکه‌تکه شدن رشته‌ها | - | + | + | + |
| بوی پرگنه | - | - | تند و خاکی | - |
| متابولیسم | تخمیری | اکسیداتیو | اکسیداتیو | تخمیری ضعیف |
| مخزن | مخاط دهان و نازو فارنکس | خاک | خاک و محیط‌های آزمایشگاهی | کانون‌های سطح بدن در حیوانات حامل یا پوسته‌های ریخته شده روی زمین |
| اهمیت دامپزشکی | ایجادشدن‌عفونت موضعی‌یا عمومی (گرانولوماتوز پوست، بافت‌های‌زیرجلدی و اندام‌های‌داخلی) | مانند *اکتینومایسس* | غیربیماری‌زا (برخی گونه‌ها مولد آنتی‌بیوتیک هستند) | عفونت جلدی |

* کاپنوفیلیک : این ویژگی به معنای نیاز به وجود دی‌اکسیدکربن برای حداکثر رشد است.

(+)- : اکثر گونه‌ها منفی هستند.

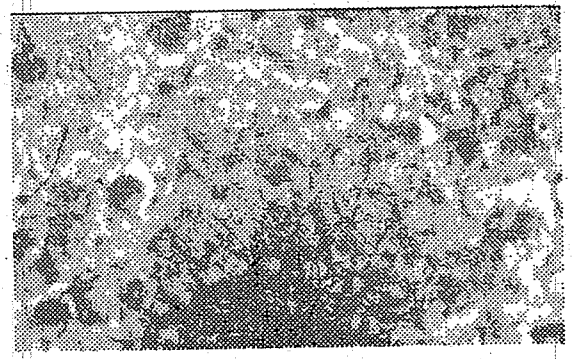
**جدول ۲-۲- عفونت‌های ناشی از اکتینومیست‌های بیماری‌زا در حیوانات [۲۹].**

| اکتینومیست | میزبان(ها) | بیماری |
|---|---|---|
| *اکتینومایسس بوویس* | گاو<br>اسب | اکتینومایکوزیس (فکّ ناهنجار)<br>تورم مفاصل(بورسیت) |
| *اکتینومایسس سوئیس* | خوک | ورم پستان پیوگرانولوماتوز |
| *اکتینومایسس ویسکوزوس* | سگ | اکتینومایکوزیس (آبسه‌های جلدی، پیوتراکس و گرانولومای حفرهٔ سینه) |
| *اکتینومایسس پیوژنز* | عموماً گاو، گوسفند و خوک | ورم پستان چرکی مزمن یا حاد، پنومونی چرکی، آرتریت سپتیک، اندوکاردیت وجتاتیو(گاو)، تورم آندومتر، عفونت‌های زخم، تورم غدهٔ وزیکول ـ سمینال. عفونت عمدتاً به همراه فوزو باکتریوم نکروفوروم دیده می شود. |
| *اکتینومایسس هوردئولنریس* | سگ | آبسه‌های جلدی و عفونت‌های سیستمیک نظیر تورم پردهٔ جنب، پریتونیت، آبسه‌های احشایی و آرتریت سپتیک |
| *اکتینومایسس اسرائیلی* | انسان و به‌ندرت گاو و خوک | اکتینومایکوزیس |
| *نوکاردیا آستروئیدس* | سگ (گربه)<br>گاو<br>خوک، گوسفند و بز<br>نهنگ، دولفین و پرندگان | نوکاردیوز(آبسه‌های جلدی موضعی، پیوتراکس و گرانولومای حفرهٔ سینه)<br>ورم پستان گرانولوماتوز مزمن<br>عفونت‌های غیرشایع نظیر پنومونی، ورم پستان و لنفادنیت<br>عفونت‌های غیرشایع نظیر درگیری دستگاه تنفس همراه با گسترش به سایر بافت‌ها |
| *نوکاردیا فارسینیکا* | گاو | بیماری فارسی در نواحی معتدل |
| *نوکاردیا برازیلینسیس و نوکاردیا کاوئی* | انسان و برخی از حیوانات | عفونت‌های کمیاب در حیوانات |
| *درماتوفیلوس کونگولنسیس* | عمدتاً درگاو، اسب، گوسفند، بز و گاهاً انسان و سایر حیوانات | عفونت جلدی موضعی یا پراکنده‌شده بویژه درمناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری |



**تشخیص آزمایشگاهی**

اکتینومایکوزیس از طریق بررسی میکروسکوپی گرانول‌های موجود در محتویات آبسه‌ها تشخیص داده می‌شود. بدین منظور، آبسه‌های مسدود به صورت دستی شکاف داده می‌شوند و چرک و ترشحات در یک لولهٔ حاوی سرم فیزیولوژی استریل جمع‌آوری می‌شود. در این شرایط، موکوس در سرم فیزیولوژی حل می‌شود. در ادامه، محتویات لوله در داخل یک پلیت ریخته می‌شود و گرانول‌ها پس از جداسازی، روی یک لام میکروسکوپی تمیز له و به روش گرم رنگ‌آمیزی می‌شوند. در این حالت، توده‌ای از باکتری‌های گرم مثبت که زایده‌های چنگک مانند[1] گرم منفی محیطی آنها را دربر گرفته‌اند دیده می‌شوند. *اکتینومایسس بوویس*، در زیر عدسی ۱۰۰ میکروسکوپ به صورت رشته‌های گرم مثبت با قطر کمتر از ۱ میکرون که در انتها خرد شده و به اشکال باسیلی و کوکسی تبدیل شده‌اند، دیده می‌شود (تصویر ۲-۱). ارگانیسم، در محیط‌های مایع غالباً به صورت میله‌های منشعب و چند شاخه کوتاه[2] دیده می‌شود. وجود این ساختمان‌ها، *اکتینومایسس بوویس* را از عامل‌های انتقال اکتینوباسیلوزیس و استافیلوکوکوزیس (در هر دو بیماری، گرانول‌های زرد رنگ در محل ضایعات ایجاد می‌شود) تفکیک و متمایز خواهد کرد. از آزمون‌های باکتری‌شناسی و بافت‌شناسی نیز در تأیید تشخیص اکتینومایکوزیس استفاده می‌شود.



**تصویر ۲-۱- رشته‌های منشعب چندشاخه گرم مثبت *اکتینومایسس بوویس* در بافت (رنگ‌آمیزی ، ۱۰۰۰×) [۲۹].**

1- Clubs

2- Diphtheroid-type morphology

**درمان**

ضایعات اکتینومایکوتیک همواره مزمن‌اند و طی ماه‌ها ایجاد می‌شوند. برداشت ضایعات با جراحی در مراحل اولیه بیماری مفید و ضروری است. *اکتینومایسس بوویس* نسبت به پنی‌سیلین حساس است و درمان درازمدت با این آنتی‌بیوتیک نیز پیشنهاد می‌شود. در صورت بروز عفونت توأم اکتینومایکوزیس و اکتینوباسیلوزیس در فرم عفونت مزمن دهانی، استفاده از آمینوگلیکوزیدها[1] سودمند و لازم است.

## درماتوفیلوزیس

درماتوفیلوزیس[2] عفونت ناحیهٔ اپیدرم در حیوانات است که با یک باکتری به نام *درماتوفیلوس کونگولنسیس*[3] ایجاد می‌شود. بیماری در جهان گسترده است و با ایجاد شدن ضایعات جلدی اکسوداتیو[4] همراه با تشکیل دلمه[5] مشخص می‌شود. عامل بیماری از نظر میزبان بسیار وسیع و گسترده است. در میان حیوانات اهلی، غالباً گاو، گوسفند و بز تحت تأثیر قرار می‌گیرند. شیوع این عفونت در اسب بیشتر و در خوک، سگ و گربه بسیار کم است. به درماتوفیلوزیس در اسب، گاو و بز، استرپتوتریکوز جلدی[6] گفته می‌شود، در حالی که در گوسفند، در موارد درگیری نواحی انتهایی اندام حرکتی خلفی و نیز درگیری پشم‌ها، به ترتیب به بیماری گندیدگی سم توت فرنگی شکل[7] و پشم درهم پیچیده[8] معروف است. در انسان درپی تماس مستقیم با حیوانات آلوده موارد بسیار نادری از بیماری گزارش شده است.

**زیستگاه طبیعی**

زیستگاه طبیعی *درماتوفیلوس کونگولنسیس* ناشناخته است و ارگانیسم تاکنون از محیط جداسازی نشده است. با این‌حال، به نظر محققان *درماتوفیلوس* یک ساپروفیت خاکزی است؛ اما تلاش‌های انجام شده برای جداسازی آن از خاک بی‌نتیجه بوده است. *درماتوفیلوس کونگولنسیس* منحصراً از لایه‌های زندهٔ اپیدرم پوست در حیوانات مختلف بویژه گوسفند

1- Aminoglycosides
2- Dermatophylosis
3- *Dermatophylus congolensis*
4- Exudative dermatitis
5- Scab formation
6- Cutaneous streptothricosis
7- Strawberry foot rot
8- Lumpy wool



جداسازی شده است. حیوانات مبتلا به عفونت‌های مزمن بدون علامت به‌عنوان مخازن بیماری عمل می‌کنند.

**سبب‌شناسی و همه‌گیرشناسی**

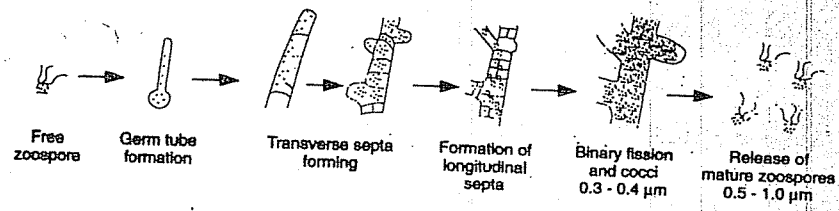
*درماتوفیلوس کونگولنسیس* یک اکتینومیست گرم مثبت غیر اسید فست بی‌هوازی اختیاری[1] است. این ارگانیسم دو شکل ظاهری مختلف شامل ریسه‌های رشته‌ای[2] و زئوسپورهای متحرک[3] دارد. ریسه‌ها، در حقیقت، رشته‌های منشعب و چندشاخه با قطر ۱ تا ۵ میکرون‌اند که در پایان به روش طولی و عرضی خرد و به مجموعه‌ای از سلول‌های کوکسی تبدیل می‌شوند. این سلول‌ها پس از رشد و بلوغ به زئوسپورهای بیضی شکل تاژک‌دار[4] با قطر ۰/۶ تا ۱ میکرون تبدیل می‌شوند (شکل ۲-۱). عواملی نظیر رطوبت پایدار در فصل‌های بارانی، رطوبت نسبی محیطی بالا، دمای بالا و اکتوپارازیت‌های مختلف با آسیب‌رساندن به لایه‌های محافظ طبیعی پوست، شرایط را جهت وقوع و گسترش درماتوفیلوزیس آماده می‌کنند. ارگانیسم می‌تواند تا آماده شدن شرایط محیطی به صورت نهفته در داخل اپیدرم در محل ضایعات روی بدن حیوانات مبتلا زنده بماند. بیماری در فصل‌های بارانی همه‌گیر می‌شود. رطوبت به رها شدن زئوسپورها از ضایعات اولیه و به‌دنبال آن، نفوذ زئوسپورها در نواحی اپیدرمی سالم و ایجاد کانون‌های جدید بیماری در سطح بدن حیوان مبتلا و سایر حیواناتی که در معرض بیمار شدن هستند، کمک می‌کند. رطوبت زیاد، همچنین شرایط را برای گزش انتقال دهندگان مکانیکی بیماری بویژه مگس‌ها و کنه‌ها آماده می‌کند. عفونت، از طریق پشم‌چینی[5]، شستشو یا غوطه‌ورسازی[6] و ورود حیوانات مبتلا به گله، در سطح گله گسترش می‌یابد. درماتوفیلوزیس تنها هنگامی که دفاع طبیعی پوست کاهش یابد، یک بیماری واگیردار خواهد بود.

**بیماری‌زایی**

بیماری از طریق استقرار زئوسپورهای عفونت‌زای ارگانیسم در مناطق آسیب‌دیدهٔ پوست تثبیت می‌شود. دفع شدن غلظت‌های پایین دی‌اکسید کربن از سطح پوست باعث جذب

1- Facultative anaerobe
2- Filamentous hyphae
3- Motile zoospores
4- Flagellated ovid zoospores
5- Shearing
6- Dipping

زئوسپورهای متحرک به سمت نواحی حساس سطح پوست می‌شود. زئوسپورها پس از جوانه‌زدن و رشد، ریسه تولید می‌کنند ریسه‌های مزبور به نواحی زندهٔ اپیدرم نفوذ می‌کنند و در تمام جهات پخش می‌شوند. ورود ریسه به اپیدرم، التهاب حاد ایجاد می‌کند. در بیشتر عفونت‌های حاد، تهاجم به ناحیه اپیدرم پس از ۲ تا ۳ هفته متوقف می‌شود و ضایعات به خودی خود بهبود می‌یابند. در موارد مزمن، فولیکول‌های آلودهٔ موها و دلمه‌های آلوده، مکان مناسبی برای گسترش یافتن به فولیکول‌ها و اپیدرم سالم هستند. وجود رطوبت در محل دلمه‌ها، رشد و آزادسازی زئوسپور از ریسه را شدیداً تحریک می‌کند.




**شکل ۲-۱- چرخهٔ حیاتی** در *ماتوفیلوس کونگولنسیس* [۲۹].

**یافته‌های بالینی**

درماتوفیلوزیس در تمام سنین اتفاق می‌افتد، اما در حیوانات جوان شایع‌تر است. ضایعات به اشکال حاد و مزمن در سطح بدن یک حیوان دیده می‌شوند. خارش در تعداد اندکی از حیوانات دیده می‌شود و بیشتر مبتلایان پس از گذشت ۳ هفته از بیماری به خودی خود بهبود می‌یابند. حیوانات مبتلا به عفونت‌های حاد فراگیر اغلب حالت غیرطبیعی دارند و در صورت درگیری پا،



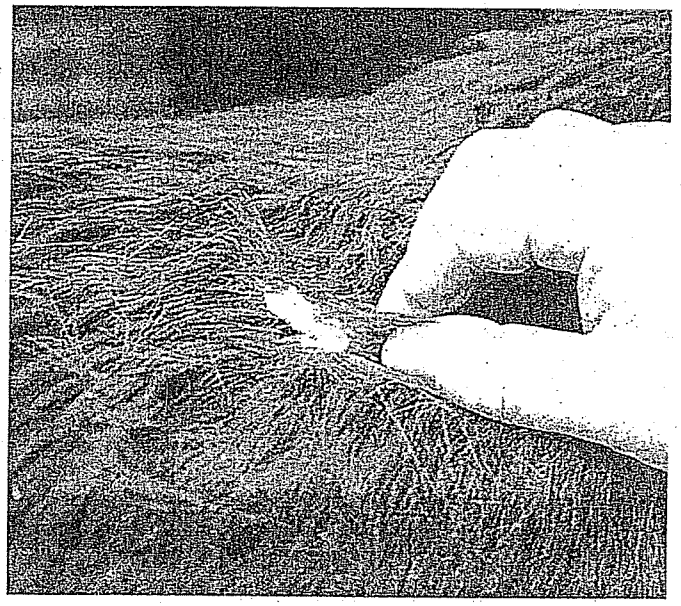
لب و پوزه دچار اختلالات حرکتی و ادراک می‌شوند. در این موارد، حیوان مبتلا به بیماری را نمی‌توان علاج و درمان کرد و باید به کشتارگاه فرستاد. اشکال فراگیر بیماری درگوساله‌ها و بره‌ها با مرگ و میر همراه است. اهمیت اقتصادی بیماری در گاو و گوسفند به ترتیب به خسارات وارده به پوست و پشم حیوانات مذکور مربوط می‌شود. ضایعات در گاو در سه مرحله، شامل چسبیدن موها به هم و ایجاد ضایعات قلم مویی شکل[1]، تشکیل کروت یا دلمه[2] و جمع‌شدن ترکیبات کراتینهٔ پوست برای تشکیل ضایعات زگیل مانند به قطر ۰/۵ تا ۲ سانتی‌متر ظاهر می‌شوند. ضایعات تیپیک شامل دلمه‌های حلقوی گنبدی شکل[3] به قطر ۲ تا ۸ میلی‌متراند. این ضایعات بیشتر در نواحی سر، سطوح پشتی گردن و بدن و سطوح بالایی و جانبی گردن و سینه ایجاد می‌شوند. ضایعات ناشی از گزش حشرات عمدتاً در ناحیهٔ پشت و ضایعات ناشی از گزش کنه‌ها عموماً روی سر، گوش، زیربغل، کشالهٔ ران و اسکروتوم دیده می‌شوند. عفونت مزمن پشم با ایجاد توده‌های هرمی شکل از ترکیبات دلمه مانند، که به رشته‌های پشم متصل‌اند، آشکار می‌شود. دلمه اغلب در سطوح پشتی بدن ایجاد و سبب اختلال در عمل پشم چینی می‌شود. گندیدگی سُم توت فرنگی شکل یک درماتیت پیش‌رونده است که غالباً در بره‌ها دیده می‌شود و پوست نواحی استخوان مچ، تاج سُم و سُم را درگیر می‌سازد. در بررسی آسیب‌شناسی ضایعات، ریسه‌های منشعب و چندشاخه به همراه سلول‌های کوکوئید و زئوسپور در داخل اپیدرم دیده می‌شوند. ارگانیسم به فراوانی در ضایعات فعال وجود دارد، در حالی که در ضایعات مزمن به صورت پراکنده دیده می‌شوند.

**تشخیص آزمایشگاهی**

تشخیص اولیه با دیدن ضایعات در حیوانات مبتلا و همچنین دیدن *درماتوفیلوس کونگولنسیس* در گسترش‌های مرطوب رنگ‌آمیزی شده یا مقاطع بافتی به‌دست آمده از دلمه‌ها انجام می‌شود. تشخیص قطعی عفونت، به کشت و شناسایی ارگانیسم نیاز دارد. بیماری باید از درماتوفیتوزیس در انواع حیوانات، زگیل و بیماری پوستی ناهنجار در گاو و اکتیمای واگیردار[4]

1- Paintbrush lesions
2- Crust or scab formation
3- Circular dome-shaped scabs
4- Contagious ecthyma

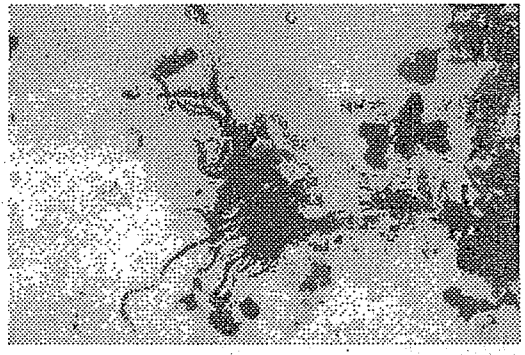
و درماتوز اولسراتیو[1] در گوسفند تفکیک و متمایز شود. برای تهیهٔ نمونه بالینی می‌توان مقداری از موها را از محل ضایعات جدا و از آن استفاده کرد. در این حالت، دلمه‌ها نیز معمولاً به علت چسبیده بودن به موها جداسازی خواهند شد (تصویر۲-۲). برای بررسی میکروسکوپی مستقیم، بخش کوچکی از نمونه را روی یک لام میکروسکوپی قرار می‌دهند و با چندقطره آب مقطر با اسکالپل به قطعات کوچک‌تر تبدیل می‌کنند. در ادامه، گسترشی از نمونه تهیه شده و به روش گرم یا گیمسا رنگ‌آمیزی می‌شود. رنگ‌آمیزی گیمسا برای بررسی ظاهر اختصاصی ارگانیسم مناسب‌تر است (تصویر ۲-۳). در لام مستقیم، رشته‌های منشعب و چندشاخه و زئوسپورهای متحرک به خوبی دیده می‌شوند و اختصاصی ارگانیسم هستند (تصویر ۲-۳).



**تصویر ۲-۲- دسته‌ای از موها به‌عنوان نمونه از یک اسب مبتلا به استرپتوتریکوزیس** (*درماتوفیلوس کونگولنسیس*) **تهیه می‌شود. ظاهر ناهموار و نامتوازن پوشش خارجی به پراکندگی ضایعات بستگی دارند** [۲۹].

1- Ulcerative dermatosis





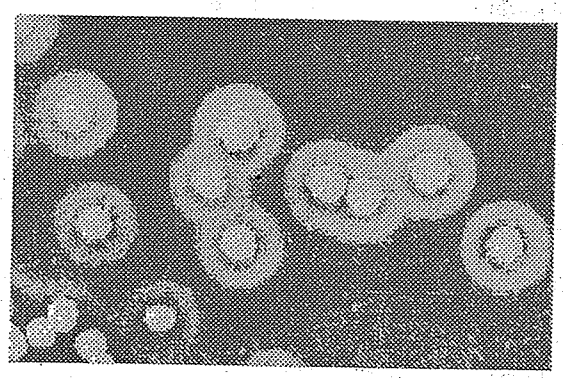
**تصویر ۲-۳- رشته‌های منشعب و چندشاخه و زئوسپورهای** در *ماتوفیلوس کونگولنسیس* **در گسترش تهیه شده از ضایعات استرپتوتریکوزیس در گاو (رنگ‌آمیزی گیمسا، ۱۰۰۰ ×)** [۲۹].

رشته‌های بالغ از ردیف‌های موازی از زئوسپورهای کوکوئید متحرک (حداقل در دو ردیف) تشکیل شده‌اند که این حالت یک ظاهر شبیه ریل راه آهن[1] ایجاد می‌کند. زئوسپورها، قطری حدود ۱ میکرون دارند و در زمان بلوغ، به دلیل داشتن دو تاژک قطبی، متحرک و عفونت‌زا هستند. جداسازی *درماتوفیلوس کونگولنسیس* برای تشخیص درماتوفیلوزیس ضروری نیست. ارگانیسم روی محیط‌های اگار حاوی خون گوسفند یا گاو نر به آسانی رشد می‌کند. وجود مقدار ۵ تا ۱۰ درصد دی‌اکسیدکربن، بویژه در جداسازی اولیه، رشد ارگانیسم را تسریع و تحریک خواهد کرد. محیط‌های کشت پس از تلقیح به مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند. در عین حال، پرگنه‌ها اغلب طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت اول روی محیط کشت ظاهر خواهند شد. از آنجا که دلمه‌ها معمولاً حاوی ارگانیسم‌های مزاحم هستند، جداسازی اولیهٔ *درماتوفیلوس کونگولنسیس* با روش هالسترا[2] بسیار مفید و مؤثر خواهد بود. در این روش، بخش کوچکی از دلمه‌های خرد شده به مدت ۳ تا ۵ ساعت همراه با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل یک لولهٔ آزمایش در دمای محیط قرار داده می‌شوند و سپس برای ۱۵ دقیقه در یک جار قرار می‌گیرد. در این شرایط، زئوسپورهای متحرک به علت تمایل به دی‌اکسید کربن موجود در فضای جار به سمت سطح لوله حرکت می‌کنند و در ناحیهٔ رأسی لوله قرار می‌گیرند. یک لوپ از

1- Tram-track

2- Haalstra's method

آب مقطر، سطح لوله رابه پلیت‌های حاوی محیط اگار خون‌دار انتقال می‌دهند و کشت‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور واجد ۵ تا ۱۰ درصد دی‌اکسیدکربن قرار داده می‌شوند. پرگنه‌های *درماتوفیلوس کونگولنسیس* کوچک‌اند (به قطر حدود ۱ میلی‌متر) و پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت به رنگ زرد مایل به خاکستری در سطح محیط اگار خون‌دار ظاهر می‌شوند. این پرگنه‌ها به سختی به محیط کشت چسبیده و درعمق اگار فرو رفته‌اند. پس از ۳ تا ۴ روز، پرگنه‌ها ۳ میلی‌متر قطر خواهند داشت و به رنگ زرد ـ طلایی در می‌آیند (تصویر ۲ـ۴).



**تصویر ۲ـ۴ـ پرگنه‌های ۳ روزهٔ *درماتوفیلوس کونگولنسیس* روی محیط اگار حاوی خون گوسفند، این پرگنه‌ها ظاهری خشن و خشک دارند و به رنگ زرد ـ طلایی دیده می‌شوند. پرگنه‌ها به شدت در عمق اگار فرو رفته‌اند [۲۹].**

در گسترش‌های رنگ‌آمیزی شده به روش گرم، رشته‌های منشعب گرم مثبت و گاه سلول‌های کوکوئید دیده می‌شوند. غالباً، به‌علت ظاهر ماکرو ومیکروسکوپی اختصاصی *درماتوفیلوس کونگولنسیس*، برای تشخیص، به آزمون‌های بیوشیمیایی نیازی نیست. با این‌حال، این ارگانیسم کاتالاز مثبت، اوره‌آز و ژلاتیناز مثبت است و می‌تواند از گلوکز، فروکتوز و مالتوز، اسید تولید کند. همچنین، ارگانیسم اندول منفی است، و نمی‌تواند نیترات را احیا و سوکروز، سالیسین، زایلوز، لاکتوز، سوربیتول، مانیتول و دولسیتول را مصرف کند.



## نوکاردیوزیس

نوکاردیوزیس[1] یک عفونت مزمن است که با گونه‌های خاکزی جنس *نوکاردیا*[2] ایجاد می‌شود. این گونه‌ها شامل *نوکاردیا آستروئیدس*[3]، *نوکاردیا برازیلینسیس*[4] و *نوکاردیا کاوئی*[5] هستند. بیماری مزبور غالباً در گاو دیده می‌شود، اما در حیوانات دیگر نظیر سگ، اسب، گربه، گوسفند، بز، پرندگان، ماهی و انواع حیوانات وحشی و دست‌آموز از جمله پستانداران دریایی نیز گزارش شده است. *نوکاردیا آستروئیدس* گونهٔ اصلی عامل بیماری، و عامل بیشترین موارد عفونت‌های حیوانی است. گونه‌های بیماری‌زای *نوکاردیا*؛ پس از ورود به بدن حیوان در داخل واکوئل‌های فاگوسیتیک قرار می‌گیرند و به‌علت جلوگیری از تشکیل فاگولیزوزوم[6] در آنجا باقی می‌مانند.

### نشانه‌های بالینی

نوکاردیوزیس در گاو غالباً به صورت ورم پستان ظاهر می‌شود. اما در مواردی، علایمی نظیر ناتوانی عمومی، تب طولانی، بی‌اشتهایی، اختلال در وضعیت عمومی حیوان و افزایش ترشحات چشم و دهان نیز دیده می‌شوند. غدد پستانی درگیر، بزرگ و سفت می‌شوند. ترشحات چسبناک سفیدرنگ حاوی اجزای خونی و زواید انگشتی شکل کوچک به قطر ۱ میکرون (میکروپرگنه‌های ارگانیسم) هستند. سولفور گرانول هرگز در محل ضایعات تشکیل نمی‌شود. در سطح ضایعات، سینوس‌های ترشح‌کننده کوچک تشکیل و در موارد حاد، ممکن است پستان پاره شود. گاه عفونت از غدد پستانی به ریه‌ها و غدد لنفاوی فوق‌پستانی گسترش می‌یابد. برای حیوان، احتمال سقط جنین و عفونت‌های ریوی و سیستمیک نیز وجود دارد. بیماری فارسی در گاو[7] که یک نوع لنفادنیت و لنفانژیت چرکی است نیز می‌تواند با گونه‌های *نوکاردیا* ایجاد شود. بیماری در سگ با علایمی نظیر تب، درد، لنگش، تنگی نفس، افزایش حجم محوطهٔ شکمی، لنفادنیت و آبسه‌های زیرجلدی و غدد بزاقی ظاهر می‌شود. تورم گرانولوماتوز

1- Nocardiosis
2- *Nocardia*
3- *Nocardia asteroides*
4- *Nocardia brasiliensis*
5- *Nocardia caviae*
6- Phagolysosome
7- Bovine farcy

مشابه ضایعات اکتینومایکوزیس، غالباً در نواحی انتهایی بدن ایجاد می‌شود. آبسه‌های سطحی سرباز می‌کنند و چرک و ترشحات از آنها خارج می‌شود. ضایعات گرانولوماتوز چرکی تقریباً همیشه در ریه‌ها و غدد لنفاوی برونشی ایجاد می‌شوند. عفونت *نوکاردیا* در ترشحات جنب نیز وجود دارد.

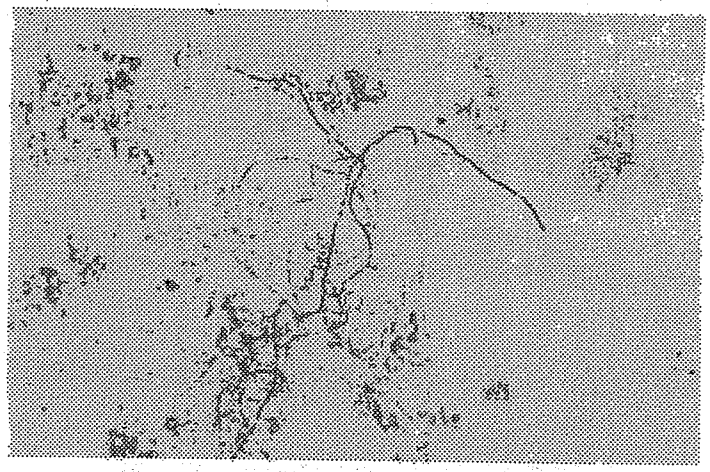
**تشخیص آزمایشگاهی**

نمونه برحسب مورد شامل ترشحات، مایعات آسپیره، نمونه‌های شیر ورم پستانی، و بافت به‌دست آمده از گرانولوم‌ها است. نمونه‌های بافتی در دو بخش جداگانه یکی در سرم فیزیولوژی استریل (برای بررسی میکروسکوپی و کشت) و دیگری در فرمالین ۱۰ درصد (برای بررسی آسیب‌شناسی) به آزمایشگاه ارسال می‌شود. گرانول‌های نرم عموماً در ترشحات به‌دست آمده از ضایعات ناشی از *نوکاردیا آستروئیدس* وجود ندارند. در مورد نمونه‌های ترشحات، مایعات آسپیره، بافت گرانولوماتوز و رسوب حاصل از سانتریفوژ نمونهٔ شیر بررسی گسترش‌های رنگ‌آمیزی شده به روش گرم و یا زیل نیلسون تغییریافته پیشنهاد می‌شود. در رنگ آمیزی گرم، رشته‌های منشعب و چندشاخه گرم مثبت، که اغلب تکه تکه شده و به اشکال کوکوباسیل تبدیل شده‌اند، دیده می‌شوند. در گسترش‌های رنگ‌آمیزی شده به روش زیل نیلسون تغییریافته، رشته‌های *نوکاردیا* رنگ کربول فوشین به خود می‌گیرند و به رنگ قرمز دیده می‌شوند (تصویر ۲-۵). *نوکاردیا آستروئیدس* را نیز می‌توان در مقاطع بافتی رنگ‌آمیزی شده دید (تصویر ۲-۶). برای جداسازی گونه‌های *نوکاردیا*، نمونه‌های به‌دست آمده از ضایعات را روی محیط اگار خون‌دار تلقیح و حداکثر ۷ روز در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند. در این حالت، پرگنه‌های *نوکاردیا* معمولاً به فاصلهٔ ۴ تا ۵ روز در سطح محیط کشت ظاهر می‌شوند.

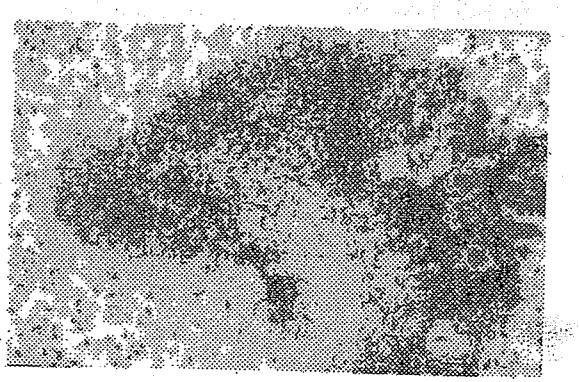
هر پرگنه مشکوک باید در یک پلیت حاوی محیط سابورو دکستروز اگار تلقیح و تا ۱۰ روز در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شود. پرگنه‌های *نوکاردیاآستروئیدس* روی محیط اگار



مغذّی[1] اغلب به حالت پودری و به رنگ سفید روشن مشاهده می‌شود(تصویر ۲-۷).



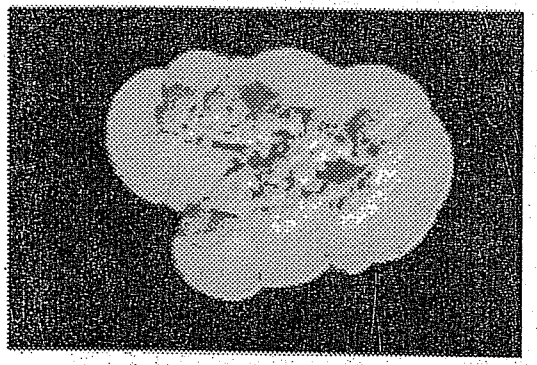
**تصویر ۲-۵- گسترش نمونهٔ ترشحات سینهٔ یک سگ مبتلا به نوکاردیوزیس ناشی از *نوکاردیا آستروئیدس*؛ رشته‌های منشعب و چندشاخه قرمز رنگ در روش رنگ‌آمیزی زیل نیلسون تغییر یافته دیده می‌شوند (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰×) [۲۹].**



**تصویر ۲-۶- پرگنهٔ فشرده (رشته‌های گرم مثبت منشعب و چندشاخه) *نوکاردیا آستروئیدس* در مقطع گرانولومای سینهٔ یک سگ مبتلا به نوکاردیوزیس (رنگ‌آمیزی گرم، بزرگ‌نمایی ۴۰۰×) [۲۹].**

1- Nutrient agar

البته، این در صورتی است که رشته‌های هوایی و اسپور تولید شده باشد. پرگنه‌ها گاه صاف و به رنگ متغیر هستند. این پرگنه‌ها روی محیط سابورو دکستروز اگار، خشک، پیچ خورده و زرد رنگ هستند که با گذشت زمان به رنگ نارنجی پررنگ در می‌آیند. درگسترش‌های تهیه شده از کشت‌های جوان *نوکاردیا آستروئیدس*، رشته‌های منشعب و چندشاخه قرمز رنگ در رنگ‌آمیزی زیل نیلسون تغییر یافته دیده می‌شود (تصویر ۲-۸). رشته‌های *استرپتومایسس* و *اکتینومایسس*، زیل نیلسون منفی هستند و به رنگ آبی در می‌آیند. از آزمون‌های بیوشیمیایی نظیر هیدرولیز کازئین، گزانتین، هیپوگزانتین،تیروزین و اوره نیز در شناسایی و تفکیک گونه‌های *نوکاردیا* استفاده می‌شود.



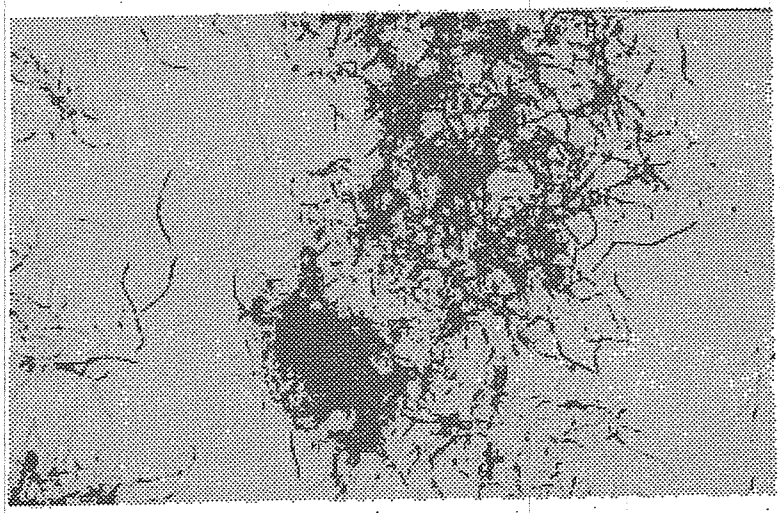
**تصویر ۲-۷- پرگنه‌های ۱۹ روزهٔ *نوکاردیا آستروئیدس* روی محیط اکار مغذی [۱۵].**

درمان

نوکاردیوزیس عفونتی غالباً کشنده است. گونه‌های *نوکاردیا* که به اشکال بدون دیوارهٔ سلولی تبدیل می‌شوند یا خود بدون دیوار سلولی هستند، فاکتوری بیماری‌زا در برخی از عفونت‌ها به‌حساب می‌آیند. برای سگ بهترین روش درمان عفونت مذکور، استفاده از کوتریموکسازول در یک دورهٔ زمانی ۶ تا ۱۲ هفته است. ورم پستان نوکاردیایی در گاو را می‌توان با استفاده از تجویز داخل پستانی ۵۰۰ میلی‌گرم نوبیوسین همراه با ۲۵ تا ۴۰ میلی‌لیتر



نیتروفورازون ۲ درصد (دوبار در روز به مدت ۳ تا ۵ روز) به‌طور کامل درمان کرد. با این همه، درمان انتخابی برای گاو نیز مانند سگ، مصرف کوتریموکسازول است.



**تصویر ۲-۸- رشته‌های قرمز رنگ *نوکاردیا آستروئیدس* در گسترش‌های رنگ‌آمیزی شده به روش زیل نیلسون تغییر یافته (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰×) [۲۹].**

# آزمون فصل دوم

**۱ـ کدام‌یک از اجزای زیر به‌عنوان پروپاگول در درماتوفیلوزیس در حیوانات عمل می‌کند؟**

الف) کونیدیوم — ب) قطعات ریسه

ج) آرتروکونیدیوم — د) زئوسپور

**۲ـ شایع‌ترین فرم اکتینومایکوزیس در حیوانات کدام است؟**

الف) سینه‌ای — ب) شکمی

ج) صورتی ـ گردنی — د) جلدی ـ لنفاوی

**۳ـ اکتینومایکوزیس در اسب به چه فرمی دیده می‌شود؟**

الف) ورم پستان — ب) تورم مفاصل

ج) پنومونیت چرکی — د) آبسه‌های جلدی موضعی

**۴ـ از تکنیک هالسترا[1] برای جداسازی کدام‌یک از عوامل بیماری‌زای زیر استفاده می‌شود؟**

الف) *ایختیوفانوس هوقری* — ب) *اکتینومایسس بوویس*

ج) *درماتوفیلوس کونگولنسیس* — د) *میکروپلی‌سپورا فائنی*

**۵ـ عامل اصلی نوکاردیوزیس در حیوانات کدام است؟**

الف) *نوکاردیا آستروئیدس* — ب) *نوکاردیا برازیلینسیس*

ج) *نوکاردیا کاوه‌ای* — د) *نوکاردیا فارسینیکا*

**۶ـ «فک ناهنجار» نام دیگر کدام یک از عفونت‌های زیر است؟**

الف) درماتوفیلوزیس — ب) درماتوفیتوزیس

ج) اکتینومایکوزیس — د) نوکاردیوزیس

1- Haalstra's method



**۷ـ کدام‌یک از عوامل اکتینومیستی زیر اسید فست مثبت است؟**

الف) *اکتینومایسس* — ب) *درماتوفیلوس*

ج) *استرپتومایسس* — د) *نوکاردیا*

**۸ـ عامل اصلی اکتینومایکوزیس در سگ کدام است؟**

الف) *اکتینومایسس ویسکوزوس* — ب) *اکتینومایسس بوویس*

ج) *اکتینومایسس سوئیس* — د) *اکتینومایسس پیوژنز*

**۹ـ عامل اصلی بیماری فارسی در گاو کدام است؟**

الف) *نوکاردیا آستروئیدس* — ب) *نوکاردیا فارسینیکا*

ج) *نوکاردیا کاوئی* — د) *نوکاردیا برازیلینسیس*

**۱۰ـ کدام‌یک از اکتینومیست‌های زیر جزو فلور اجباری پوست حیوانات بویژه گوسفند است؟**

الف) *نوکاردیا آستروئیدس* — ب) *میکروپلی‌سپورا فائنی*

ج) *درماتوفیلوس کونگولنسیس* — د) *اکتینومایسس بوویس*

# فصل سوم

# مایکوتوکسین‌ها و انواع مایکوتوکسیکوز در حیوانات

**هدف‌های رفتاری**

**پس از خواندن این فصل فراگیرنده باید:**

۱. ویژگی‌های عمومی مایکوتوکسین‌ها را شرح دهد؛

۲. اهمیت حضور مایکوتوکسین‌ها در طبیعت را توضیح دهد؛

۳. انواع مایکوتوکسیکوز در حیوانات را بیان کند.

مایکوتوکسیکوزها[1]، مسمومیت‌های حاد یا مزمن ناشی از مصرف غذاهای آلوده به سموم قارچی (مایکوتوکسین‌ها) هستند. مایکوتوکسین‌ها[2] متابولیت‌های ثانویه قارچ‌های رشته‌ای هستند که در شرایط مناسب، در پی رشد قارچ‌های مولّد سّم روی غلّات، یونجه، کاه، علوفهٔ چراگاهی و سایر محصولات کشاورزی و غذایی ایجاد می‌شوند. برای این متابولیت‌های قارچی، در چرخهٔ حیاتی قارچ‌های مولد هیچ‌گونه نقش اختصاصی به‌نظر نمی‌رسد. این احتمال وجود دارد که بیش از یک گونه قارچ در تولید یک مایکوتوکسین نقش داشته باشد. به‌علاوه، گاه یک قارچ مولد سّم چند نوع مایکوتوکسین تولید می‌کند. تولید مایکوتوکسین به شدت تحت تأثیر فاکتورهایی نظیر رطوبت، درجه حرارت، ترکیب، نوع قارچ مولد ومیزان فشار اکسیژن قرار دارد. تنها برخی از استرین‌های یک گونهٔ قارچی مثلاً *آسپرژیلوس فلاووس* سّم تولید می‌کنند. فاکتورهای مؤثر در تولید مایکوتوکسین‌ها در فرآورده‌های کشاورزی و موادغذایی انباری در شکل ۴ـ۳ خلاصه شده است.

**ویژگی‌های عمومی مایکوتوکسین‌ها**

مایکوتوکسین‌ها ویژگی‌هایی عمومی به شرح زیر دارند:

۱ـ گروه متنوعی از ترکیبات دارای ساختمان شیمیایی پیچیده هستند که با جنس‌ها و گونه‌های گوناگون قارچ‌ها تولید می‌شوند. این متابولیت‌ها غالباً ئیدروکربن‌های حلقوی و به ندرت ئیدروکربن‌های خطی هستند.

۲ـ وزن ملکولی پایینی دارند و به همین دلیل، به تنهایی نمی‌توانند سیستم ایمنی میزبان را تحریک کنند.

۳ـ غیرقابل انتقال از حیوانی به حیوان دیگراند.

۴ـ بافت هدف اختصاصی دارند و برحسب مورد به نام‌های کاردیوتوکسین، هپاتوتوکسین، نفروتوکسین، ژنیتوتوکسین و غیره خوانده می‌شوند.

۵ـ نشانه‌های بالینی وسیعی را ایجاد می‌کنند و بعضی از آنها سرطان‌زا، جهش‌زا و سرکوبگر سیستم ایمنی هستند.

1- Mycotoxicoses 2- Mycotoxins



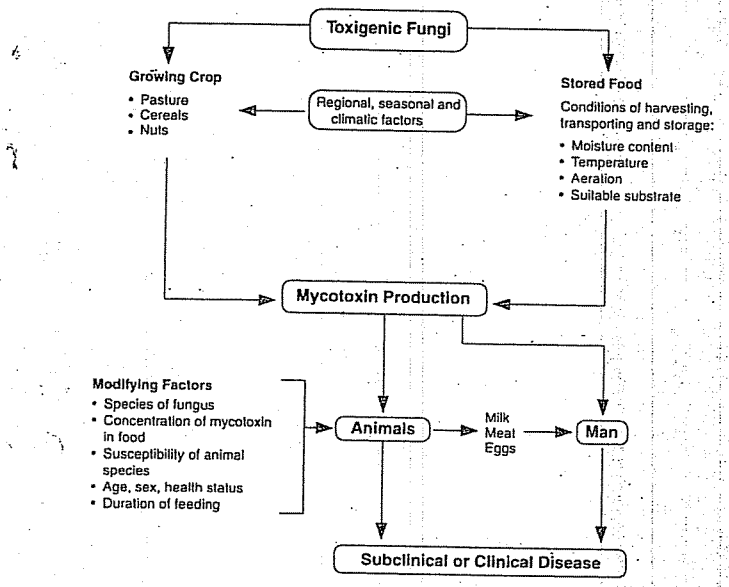
۶ـ غالباً نسبت به حرارت مقاوم و در غلظت‌های پایین فعال هستند.

۷ـ بیشتر با گونه‌های *آسپرژیلوس*، *فوزاریوم* و *پنی‌سیلیوم* تولید می‌شوند.

**ویژگی‌های عمومی انواع مایکوتوکسیکوز**

بروز و شدت انواع مایکوتوکسیکوز در حیوانات و تشخیص بالینی آنها به فاکتورهای گوناگون از جمله نوع قارچ مولّد سّم، غلظت مایکوتوکسین در مواد غذایی، سن، جنس و وضعیت عمومی حیوان در معرض بیماری، بافت هدف و مدت زمان تماس با موادغذایی آلوده بستگی دارد. فصلی و انفرادی بودن موارد بیماری، مسری نبودن بیماری در میان حیوانات، ایجاد نشدن ایمنی پایدار در پی ابتلا به بیماری، ارتباط بیماری با بخش‌های محدودی از موادغذایی انباری یا علوفهٔ چراگاهی، تأیید مسمومیت براساس جداسازی و شناسایی مایکوتوکسین در موادغذایی مشکوک یا در نمونه‌های بافت، ترشحات و مدفوع حیوانات در معرض بیماری، وجود ضایعات اختصاصی در ارگان هدف و پاسخ ندادن مسمومیت به درمان‌های رایج آنتی‌بیوتیکی از ویژگی‌های عمومی انواع مایکوتوکسیکوز هستند. اغذیهٔ آلوده به مقدار بالاتر از حد مجاز مایکوتوکسین باید حذف شود. البته، در صورت اقتصادی نبودن می‌توان این موادغذایی را برای کاهش غلظت سّم با مقدار زیادی از موادغذایی سالم مخلوط کرد و سریعاً به دام خوراند یا از آن در تغذیهٔ حیوانات غیرحساس یا با حساسیت کمتر استفاده کرد.

در صورتی که میزان رطوبت موادغذایی در زمان انبارداری، به بالاتر از ۱۲درصد( حداکثر ۱۴ درصد) برسد، شرایط محیطی برای رشد قارچ‌های مولد سّم و تولید مایکوتوکسین آماده خواهد شد. از آنجا که شرایط رشد قارچ‌های مولد سّم با شرایط تولید مایکوتوکسین متفاوت است، نبودن قارچ دلیل بر آلوده نبودن موادغذایی به مایکوتوکسین نخواهد بود و این در حالی است که عکس این مسئله نیز صادق است. به همین دلیل، بررسی اغذیه از نظر حضور قارچ و مایکوتوکسین به صورت توأم بایستی انجام گیرد. مایکوتوکسیکوزهای مهم حیوانات اهلی در جدول ۳ـ۱ خلاصه شده است. در این میان، دو بیماری ارگوتیسم و اگزمای صورت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند که تصویر بالینی آنها در تصاویر ۳ـ۱ و ۳ـ۲ مشخص گردیده است.



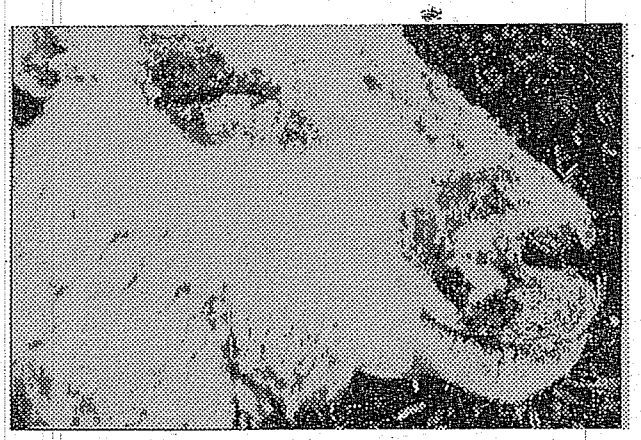

**شکل ۳-۱- فاکتورهای مؤثر در تولید مایکوتوکسین‌ها روی محصولات کشاورزی و موادغذایی انباری. بروز انواع مایکوتوکسیکوزهای حیوانی به بسیاری از فاکتورها، از جمله، گستردگی منطقه‌ای قارچ‌های مولد سم، ترکیب در دسترس قارچ و نوع و سن حیواناتی که در آستانهٔ ابتلا به بیماری هستند، بستگی دارد. [۲۹].**





**تصویر ۳-۱- ارگوتیسم دریک گاو: قانقاریای انتهایی با حاشیهٔ مشخص و تفکیک شده از بافت سالم در پای راست حیوان مشاهده می‌گردد. پای چپ تحت تأثیر قرار نگرفته است [۲۹].**

**تصویر ۳-۲- اگزمای صورت ناشی از توکسین پیتومایسس چاتاروم[1] در گوسفند؛ ضایعات ازدیاد حساسیت به نور در نواحی بدون موی صورت مشاهده می‌شوند [۲۹].**



1- *Pitomyces chartarum*

**ادامهٔ جدول ۳-۱-**

| بیماری | مایکوتوکسین | قارچ(های) مولد | غذیهٔ آلوده به سم | حیوانات درگیر | نشانه‌های بالینی |
|---|---|---|---|---|---|
| مسمومیت ذرت کپک‌زده | زرالنون ، آفلاتوکسین، اخراتوکسین، ترایکوتسن‌ها وفومونیسین $B_1$ | ـــــ | ـــــ | ـــــ | ـــــ |
| نفروز قارچی | اوخراتوکسین ها | ـــــ | ـــــ | ـــــ | ـــــ |
| لوینوزیس | فومزپسین‌ها(A & B) | *فوموپسیس لپتواسترومیفرمیس* | باقلای درحال رشد | گوسفند و گاه گاو،اسب و خوک | آسیب‌های شدید کبدی و مرگ |
| اُخراتوکسیکوزیس | اُخراتوکسین، سیترینین | *آسپرژیلوس اُخراسئوس* پنی‌سیلیوم و پرید یکاتوم پنی‌سیلیوم سیترینوم | جو، ذرت و گندم کپک‌زده | خوک و پرندگان | ادم کلیوی، فیبروز و دژنره‌شدن لوله‌های کلیوی |
| گیجی چراگاهی پایدار | لولی‌ترم‌ها | *آکرمونیوم لولیه* | علوفهٔ چراگاهی ری‌آلوده | گوسفند، گاو، اسب و گوزن | لرزش‌های عضلانی، عدم تعادل و اسپاسم‌های تشنجی |
| سندرم هموراژیک پرندگان | احتمالاً انواع آفلاتوکسین و روبراتوکسین | احتمالاً *آسپرژیلوس فلاووس*، گونه‌های *آلترناریا*، *آسپرژیلوس کلاواتوس* و پنی سیلیوم بورپوروژنوم | دانه‌های کپک زده | جوجه‌های در حال رشد | بی‌اشتهایی، عدم افزایش وزن، خونریزی گستردهٔ داخلی و گاه مرگ و کم خونی آپلاستیک |
| ادم و آمفی‌زم ریوی | ۴-آپومینول | *فوزاریوم سولانی* | سیب‌زمینی شیرین کپک‌زده | گاو | ادم ریوی، پنومونی و آمفی‌زم |
| مسمومیت با سالفرانین (اسلوبرز) | سالفرانین | *رایزوکتونیا لگومینیکولا* | لگومینه‌ها(بویژه شبدر قرمز) | گوسفند و گاو | افزایش ترشح بزاق، اسهال و گاه مرگ |
| مسمومیت شبدر شیرین | دی‌کومارول | گونه‌های *آسپرژیلوس*، موکور و پنی‌سیلیوم | شبدر شیرین | گاو، اسب و گوسفند | خونریزی، دشواری حرکت، لنگش،خونریزی‌عضلانی‌ومنصلی |



**جدول ۳-۱- عوارض ناشی از مایکوتوکسین‌ها در حیوانات اهلی [۳،۲۹].**

| بیماری | مایکوتوکسین | قارچ(های) مولد | موادغذایی آلوده به سم | جیوانات درگیر | نشانه‌های بالینی |
|---|---|---|---|---|---|
| آفلاتوکسیکوزیس | انواع آفلاتوکسین | *آسپرژیلوس فلاووس* *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* | بادام زمینی، پنبه‌دانه، برنج، ذرت، ذرت خوشه‌ای و سایر غلات کپک زده | تمامی‌پرندگان،خوک، گاو، گوسفند وسگ | ضعف، بی اشتهایی و مرگ ناگهانی،تشنج،کاهش‌رشد، کاهش تولید تخم مرغ و جوجه درآوری در پرندگان |
| دیپلودیوزیس | ناشناخته | دیپلودیا زئا | ذرت کپک زده | گاو وگوسفند | اختلالات‌عصبی‌نظیرفلج شدن، عدم تعادل و ترشحات چشمی و بزاقی |
| ارگوتیسم | آلکالوئیدهای ارگوت | *کلاوی‌سپس پورپورا* | دانه‌های (بذر) بسیاری از علوفه و غلات | گاو، اسب، خوک و پرندگان | لنگش، تورم مفصل قلمی ـ بند انگشتی |
| | پاسپالینین، پاسپالی‌ترم‌ها ومایکروتوکسین‌های رعشه‌آور | *کلاوی‌سپس پاسپالی* *کلاوی‌سپس سینرئا* | دانه‌های علوفهٔ چراگاهی | گاو، اسب و گوسفند | اختلالات عصبی |
| استروژنیسم وولوواژینیت | زرالنون | *فوزاریوم گرامینارم* (جیبرلاّ زئا) | ذرت، غلات فشرده، سیلوی ذرت و سایر دانه‌های کپک‌زده | خوک، گاو، گوسفند و پرندگان | ولوواژینیت در خوک، استروژنیسم درگاو و گوسفند و کاهش‌تولید تخم‌مرغ در پرندگان |
| اگزمای صورت (پیتومایکوتوکسیکوزیس) | اسپوری‌دسمین‌ها | *پیتومایسس چارتاروم* (اسپوری‌دسمیوم باکری) | پس ماندهٔ چراگاه | گوسفند، گاو، و گوزن اهلی | درماتیت (التهاب و سرخی) صورت به‌دنبال قرارگرفتن در نور آفتاب |
| لوکوانسفالومالاسی | فومونیسین $B_1$ | *فوزاریوم مونیلی‌فرم* | ذرت کپک زده | اسب، قاطر، الاغ و خوک | ضایعات مغزی (نکروز آبکی نیمکره‌های مغز که باعث عدم تعادل، تومور و مرگ می‌شود) |

جدول ۲-۲۰ ادامه

| بیماری | مایکوپلاسما | گاو(گاو) مولد | اختلالات تولید مثلی | سلامتی دام | گاو | تنفس ها، دستگاه تنفسی |
|---|---|---|---|---|---|---|
| سندرم تناسل ضعیف: | پنی‌سیلین، آلانتوئین، نیومی کاسین، تتراسایکلین | گونه‌های بدن سیستم‌ها، تیمارهای نگهدارنده، درمان‌های حمایتی | مواد غذایی کم‌کننده | تیم حیوانات | لرزش عضلانی، تعادل ناشتی، اختلالات تنفسی، کلاپس و تشنج | |
| فوق‌العاده‌گسترش | ترایکوموناس، هیستومونیاز، کریپتوسپوریدیوز | گونه‌های فرعی‌تر و سایر | غلات و علوفه خشبی کم‌کنند | بزرگان | استخوان، بی‌اشتهایی و کاهش تولید شیر، اسهال، گیجی و ضایعات جلدی | |
| استاکی‌بوتریوتوکسیکوزیس | ترایکوموناس، ماکروسیکلیک (ساراتوکسین، دوراتین، دوراکین) | استاکی‌بوتریس آتری | چاودار کپک زده، سایر مواد غذایی آلوده | گاو، اسب، گوسفند | نوع و زخم دهان، بی اشتهایی، لوکوپنی، خونریزی داخلی، نکروز گوارشی | |
| بیوتیپ‌بوتوکسیکوزیس (دیفتری‌بوتوکسیکوزیس) | ترایکوموناس، ماکروسیکلیک (باکارتیک‌دیتیل) | میوزیت‌سپتیک درگاه، میوزیت‌سپتیک درگاه | گیاه با کاربرد آلوده | گاو، دام‌پرور، خانم‌خانه‌داران | اسهال، انحلال در نشخوار، گاستروانتریت و مرگ دوره، خاموشی‌سم‌های گوارشی، دوره‌سم‌های عصبی، نکروز ایتیلیم دستگاه گوارش | |
| بیماری‌های قسمی | — | — | — | — | لنگش، کاهش وزن، افزایش درجه‌حرارت بدن، گانگرن بخش‌های انتهایی بدن | |



## آزمون فصل سوم

۱- کدام‌یک از گروه‌های قارچی زیر از نظر تولید مایکوتوکسین اهمیت ندارد.
الف) آسپرژیلوس‌ها
ب) فوزاریوم‌ها
ج) درماتوفیت‌ها
د) پنی‌سیلیوم‌ها

۲- کدام‌یک از مایکوتوکسین‌های زیر در ایجاد بیماری لوکوانسفالومالاسی در اسب نقش دارد؟
الف) دوبرانوکسین A
ب) فومونیسین $B_1$
ج) آلترناریول
د) آفلاتوکسین $B_1$

۳- کدام‌یک از قارچ‌های زیر در ایجاد بیماری استروژنیسم ناشی از زرالنون در حیوانات نقش دارد؟
الف) پنی‌سیلیوم روبریوم
ب) فوزاریوم گرامیناروم
ج) تریکودرما هارزیانوم
د) آسپرژیلوس فلاووس

۴- کدام‌یک از ویژگی‌های زیر در مورد مایکوتوکسین‌ها صادق نیست؟
الف) وزن ملکولی بالا
ب) دارا بودن بافت هدف
ج) تولید توسط قارچ‌های رشته‌ای
د) ایجاد مایکوتوکسیکوز در حیوانات

۵- تورم مفصلی قلمی - بند انگشتی در حیوانات ناشی از کدام یک از مایکوتوکسین‌های زیر است؟
الف) آفلاتوکسین $B_1$
ب) اسپوری دسمین‌ها
ج) آلکالوئیدهای ارگوت
د) اخراتوکسین A

۶- کدام یک از مایکوتوکسین‌های زیر در اتیولوژی بیماری اگزمای صورت در نشخوارکنندگان نقش دارد؟
الف) پاتولین
ب) سیترینین
ج) زرالنون
د) اسپوری دسمین‌ها

# فصل چهارم

## اصول نمونه‌برداری و تشخیص بیماری‌های قارچی

**هدف‌های رفتاری**

**پس از خواندن این فصل فراگیرنده باید:**

۱. ویژگی‌های عمومی نمونه‌های بالینی را شرح دهد؛

۲. روش‌های تهیه و آماده سازی نمونه‌های بالینی را بیان کند؛

۳. روش‌های بررسی میکروسکوپی مستقیم نمونه‌های بالینی با هدف تشخیص اولیه بیماری‌های قارچی را توضیح دهد.

## نمونه‌های بالینی

### اطلاعات عمومی

در آزمایشگاه قارچ‌شناسی بالینی، اصل کلی بر جداسازی مناسب و شناسایی صحیح و دقیق عامل اتیولوژیک احتمالی یک عفونت قارچی استوار است. موفقیت در این‌باره منوط به کیفیت نمونهٔ بالینی است که برای بررسی به آزمایشگاه قارچ‌شناسی ارسال می‌شود. جمع‌آوری مناسب، انتقال سریع و عمل آوری صحیح نمونه بسیار مهم است. تمام نمونه‌هایی که به آزمایشگاه ارسال می‌شوند باید دارای مشخصاتی نظیر نوع حیوان، تاریخ و زمان جمع‌آوری نمونه، منشأ نمونه و نام دامپزشک مربوطه باشد. انواع اصلی نمونه‌هایی که به‌طور معمول برای بررسی‌های قارچ شناسی ارسال می‌گردند به همراه جنس‌های اصلی قارچ‌های عامل بیماری در جداول ۴-۱ و ۴-۲ خلاصه شده است. به‌طور معمول تقریباً، از ۳۰ نوع محیط کشت متفاوت در آزمایشگاه‌های بالینی برای کشت و جداسازی قارچ‌های دارای اهمیت دامپزشکی و پزشکی استفاده می‌شود. مهم‌ترین و معمول‌ترین این محیط‌ها در جدول‌های ۴-۳ و ۴-۴ فهرست شده‌اند. انتخاب نوع محیط کشت مورد استفاده، به تجربهٔ متخصص قارچ شناس و قارچ‌های موجود در آن منطقه جغرافیایی، وابسته است. در صورتی که از یک محیط کشت دارای ترکیبات ضد میکروبی استفاده شود، محیط دیگری که بدون این ترکیبات باشد، نیز باید به طور همزمان به کار گرفته شود؛ زیرا نمی‌توان از مقاومت قارچ موجود در یک نمونهٔ بالینی نسبت به ترکیبات ضد میکروبی موجود در محیط کشت به طور کامل اطمینان حاصل کرد. تحت هیچ شرایطی نباید محیط‌های کشت دارای عوامل ضد میکروبی را پس از تلقیح نمونه، در درجه حرارت‌های بالا، بویژه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نگهداری کرد؛ زیرا بسیاری از قارچ‌ها که به‌طور طبیعی نسبت به عوامل ضد میکروبی مذکور حساسیت ندارند، حساس نبودن خود را در دماهای بالا از دست خواهند داد. برای مثال، فرم مخمّری *هیستوپلاسما کپسولاتوم*[1] نسبت به کلرامفنیکل در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد حساس است. برای جداسازی اولیه قارچ‌های

*1- Histoplasma capsulatum*



بیماری‌زا، می‌توان با موفقیت ترکیبی از چند محیط کشت شامل سابورو دکستروز اگار[1]، اگار اختصاصی برای قارچ‌های بیماری‌زا[2] و عصارهٔ مغز و قلب[3] را استفاده کرد.

از آنجا که قارچ‌ها در محیط‌های کشت دارای مقدار کمی قند و pH اندکی اسیدی رشد بسیار مناسبی دارند، محیط سابورو اگار تغییر یافتهٔ امونس که دارای ۲ درصد گلوکز و pH برابر ۵/۶ است، در این مورد کاربرد ویژه‌ای دارد. سابوروواگار استاندارد (دارای ۴ درصد گلوکز) برای بررسی مورفولوژی پرگنه درماتوفیت‌ها بسیار ایده‌آل است. محیط تجارتی مایکوسل اگار (مایکوبیوتیک اگار) برای جداسازی قارچ‌های دوشکلی و درماتوفیت‌ها از نمونه‌های بالینی اختصاصی است. سیکلوهگزامید موجود در این محیط کشت، رشد بسیاری از قارچ‌های رشته‌ای و مخمّرها را مهار می‌کند و کلرامفنیکل موجود در محیط از ایجاد آلودگی‌های باکتریایی جلوگیری می‌کند. از آنجا که قارچ‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب[4] مانند گونه‌های *اسکوپولاریوپسیس*[5]، *آسپرژیلوس*، *کاندیدا* و *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* نسبت به سیکلوهگزامید حساس هستند، در موارد مشکوک به وجود قارچ‌های مذکور باید از محیط‌های فاقد سیکلوهگزامید استفاده کرد. محیط‌های مغذّی، مانند محیط اگار عصارهٔ مغز و قلب در مواردی مثل جداسازی قارچ‌های دوشکلی از نمونه‌های بالینی، کاربرد مناسبی دارند. محیط کشت عصارهٔ مخمّر ـ فسفات برای جداسازی قارچ‌هایی مانند *هیستوپلاسما کپسولاتوم*، *بلاستومایسس درماتیتیدیس* و *کوکسیدیوئیدس ایمیتیس* به‌کار می‌رود. قارچ‌های مهم دامپزشکی و پزشکی ممکن است بی‌نهایت خطرناک باشند. به همین دلیل، محیط‌های جداسازی نباید در داخل پلیت تهیه شوند. در صورت استفاده از پلیت در موارد اضطراری، پلیت‌ها را باید با پارافیلم پوشاند و برای جلوگیری از آلودگی و خشک‌شدن یا تبخیر محیط، آنها را در کیسه‌های نایلونی قرار داد. لوله‌های آزمایش به ابعاد ۱۸ در ۱۸۰ میلی‌متر برای جداسازی قارچ‌ها مناسب است. این لوله‌ها ایمنی کافی و سطح مناسب برای رشد قارچ دارند. در صورتی که از لوله‌های درپیچ‌دار استفاده شود، درپیچ لوله‌ها نباید کاملاً محکم شود، زیرا این عمل از

1- Sabouraud dextrose agar
2- Selective agar for pathogenic fungi
3- Brain - heart infusion agar
4- Opportunistic pathogens
5- *Scopolariopsis* spp.

تبادل گازها جلوگیری می‌کند و می‌تواند رشد قارچ و اسپورزایی را مهار کند. محیط‌های کشت تلقیح‌شده با قارچ باید در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند و در صورتی که انکوباتور ۳۰ درجه در دسترس نباشد، کشت‌ها را می‌توان در دمای آزمایشگاه(۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری کرد. دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای جداسازی قارچ‌ها دمایی ایده‌آل است؛ زیرا اکثر قارچ‌های مهم در دامپزشکی و پزشکی به طور مناسب در این دما رشد خواهند کرد. در موارد مشکوک به وجود آسپرژیلوس فومیگاتوس، کشت‌ها را می‌توان در دو گروه جداگانه در درجه حرارت‌های ۳۰ و ۴۶ تا ۴۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد. قارچ مذکور از جمله قارچ‌های مقاوم به حرارت است و به سرعت در دمای بالا(۴۶ تا ۴۸ درجه سانتی‌گراد) رشد خواهد کرد. کشت‌ها را باید پیش از حذف‌شدن به مدت ۲ تا ۴ هفته، بر حسب نوع نمونه و قارچ مشکوک نگهداری کرد. هر یک از کشت‌ها باید هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی شوند. کشت‌ها را نباید با دیدن یک قارچ حذف کرد؛ زیرا احتمال وجود قارچ‌های کندرشد نیز در نمونه وجود دارد که این قارچ‌ها به زمان بیشتری برای رشد نیاز دارند. نمونه‌های بالینی باید از نظر مناطق خون‌آلود، چرکی و متورم به طور ماکروسکوپی مورد بررسی اولیه قرار گیرند. کشت و بررسی میکروسکوپی اولیه باید از همین مناطق انجام گیرد، زیرا شانس جداسازی ارگانیسم در این حالت به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش خواهد یافت(شکل‌های ۱-۴ و ۲-۴). دیدن یک قارچ در یک نمونهٔ بالینی از جداسازی قارچ بدون مشاهدهٔ مستقیم آن در نمونه بسیار با ارزش‌تر است. برای مثال، جداسازی یک گونه از قارچ رایزوپوس در کشت چندان مهم نیست، در حالی که مشاهدهٔ ریسه‌های اختصاصی قارچ در بافت ارزش تشخیصی دارند. پس از بررسی ماکروسکوپی نمونه‌های بالینی، بخش‌های مشکوک و ضایعه دیدهٔ نمونه با پتاس یا همان هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد شفاف می‌شود و با استفاده از میکروسکوپ زمینهٔ روشن یا فازکنتراست بررسی خواهد شد. شفاف‌سازی نمونه با پتاس برای بررسی مورفولوژی قارچ‌ها مناسب است. این ترکیب باعث هضم ترکیبات موجود در نمونه بدون هر گونه تاثیری بر قارچ خواهد شد. دیوارهٔ سلولی کیتینی قارچ‌ها تا حدّ زیادی در برابر هیدروکسید مقاوم است. با این‌حال، پس از گذشت چند روز قارچ نیز با هیدروکسید تخریب خواهد شد.



**جدول ۴-۱ 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 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| آبسه | به‌صورت استریل به‌وسیلهٔ سرنگ و سوزن از آبسه‌های بسته | نمونه‌های به‌دست‌آمده از زخم‌های باز، نمونه‌های تهیه شده با سواب | تلقیح مستقیم، تلقیح رسوب حاصل از سانتریفوژ نمونه | لوله‌های حاوی BHIA, SCC, SDA. نگه‌داری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد یا PAS | ۴ هفته |
| خون | ۸ میلی‌لیتر در لوله‌های ونوجکت حاوی مادهٔ ضد انعقاد | خون‌های لخته‌شده | 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 نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | PAS، گیمسا، گرم | ۲ هفته |
| مغز استخوان | ۰/۲ تا ۰/۳ میلی‌لیتر در یک سرنگ هپارینه | مغز استخوان لخته‌شده | تلقیح مستقیم در محیط کشت و آماده‌سازی در طی دو ساعت، نگه‌داری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا پیش از آماده سازی | لوله‌های حاوی SDA, SCC,SDA خون‌دار، نگه‌داری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | PAS، گیمسا | ۴ هفته (۱۲ هفته در موارد مشکوک به هیستوپلاسما) |
| 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 لولهٔ استریل | مقادیر ناکافی نمونه | تلقیح مستقیم در محیط کشت، نمونه باید تا پیش از آماده‌سازی در یخچال نگه‌داری شود | پلیت‌های حاوی BHIA, SDA؛ نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | جوهر هندی (حداقل ۳ اسمیر جهت منفی تلقی کردن نمونه مورد نیاز است) | ۲ هفته |

**ادامهٔ جدول ۴-۱-**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| خلط | ۵ تا ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خلط صبحگاهی در ظروف مخصوص تهیه می‌گردد. | بزاق، ترشحات بینی، سواب گلو، حلق و نمونه‌هایی که ۲۴ ساعت از تهیهٔ آنها گذشته باشد. | تلقیح مستقیم نمونه، نمونه باید تا پیش از بررسی در یخچال نگه‌داری شود | لوله‌های حاوی SCC,SDA و پلیت‌های حاوی محیط عصارهٔ مخمّر ـ فسفات. نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد، PAS | ۴ هفته (۱۲ هفته در موارد مشکوک به هیستوپلاسما) |
| بافت | مرکز و حواشی ضایعات بافتی باید در لوله‌ها یا پلیت‌های استریل جمع‌آوری شود. به نمونه نباید تیوگلیکولات اضافه شود | نمونه‌های تهیه شده با سواب | تلقیح مستقیم نمونه معمولی یا هموژن‌شده؛ نمونه باید تا پیش از بررسی در یخچال نگه‌داری شود. در موارد مشکوک به حضور زایگومیست‌ها، نمونه باید در لولهٔ‌های حاوی محیط مالت اگار و کلرامفنیکل جمع‌آوری شود | لوله‌های حاوی SCC,SDA و پلیت‌های حاوی محیط عصارهٔ مخمّر ـ فسفات. نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد، PAS | ۴ هفته (۱۲ هفته در موارد مشکوک به هیستوپلاسما) |
| ادرار | ۲۵ تا ۵۰ میلی‌لیتر نمونهٔ ادرار میانی یا تهیه شده توسط سوند بعنوان نمونه در ظروف استریل تهیه می‌شود | نمونه‌هایی که ۲۴ ساعت از تهیهٔ آنها گذشته باشد، نمونه‌هایی آلوده‌اند | تلقیح مستقیم رسوب حاصل از سانتریفوژ نمونه. نگه‌داری نمونه در یخچال تا پیش از بررسی. | لوله‌های حاوی BHIA,SCC,SDA. نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد، PAS، گرم | ۲ هفته |
| ترشحات واژینال | سواب‌های مرطوب از واژن در ظروف استریل | سواب‌های خشک، نمونه‌های حمل شده در محیط انتقالی | تلقیح مستقیم نمونه | لوله‌های واجد کلرامفنیکل. نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد | ۲ هفته |
| شیر | ۵ تا ۱۰ میلی‌لیتر شیر از کارتیه‌های تمیز شده با اتانل ۷۰ درصد بعنوان نمونه در ظروف استریل جمع‌آوری می‌شود | نمونه‌های آلوده، نمونه‌هایی که ۲۴ ساعت از تهیهٔ آنها گذشته باشد | تلقیح رسوب حاصل از سانتریفوژ نمونه. نگه‌داری نمونه در یخچال تا پیش از بررسی | لوله‌های BHIA,SCC, SDA. نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد، گرم جوهر هندی | ۴ هفته |

SDA: محیط کشت سابورودکستروز اگار، SCC: محیط کشت سابورو واجد سیکلوهگزامید و کلرامفنیکل، PAS: رنگ‌آمیزی پریودیک‌اسید شیف، DMSO: دی متیل سولفوکساید
BHIA: محیط عصارهٔ مغز و قلب اگار



**ادامهٔ جدول ۴-۱-**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| مایعات | لوله‌های استریل یا درب سرنگ‌های هپارینه | نمونه‌های تهیه شده با سواب | تلقیح مستقیم نمونه، تلقیح رسوب حاصل از سانتریفوژ نمونه؛ نمونه تا پیش از آماده‌سازی باید در یخچال نگه‌داری شود | لوله‌های حاوی SCC, SDA و BHIA نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد، PAS | ۴ هفته |
| مو | مو و انتهای ساقهٔ مو در پلیت‌های استریل جمع‌آوری شده یا در پاکت‌های کاغذی نگه‌داری می‌شوند | قطعات بریده‌شدهٔ مو | تلقیح مستقیم نمونه، نمونه را تا چندین روز پیش از آزمایش می‌توان در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری کرد. | لوله‌های حاوی SCC, SDA؛ نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد، PAS | ۴ هفته |
| ناخن (چنگال) | محل نمونه‌گیری بایستی قبلاً با اتانل ۷۰ درصد تمیز شود. تراشه‌ها و بخش‌های زیر صفحهٔ ناخن به عنوان نمونه در داخل پلیت و پاکت‌های کاغذی استریل جمع‌آوری می‌شوند | نمونه‌های تهیه شده با سواب و تکه‌های ناخن | تلقیح مستقیم نمونه، نمونه را تا چندین روز پیش از آزمایش می‌توان در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری کرد | لوله‌های حاوی SCC,SDA. نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس DMSO-, PAS پتاس ۱۰ درصد | ۴ هفته |
| سرم خون | ۱ تا ۲ میلی‌لیتر سرم و ۳ تا ۵ میلی‌لیتر مایع مغزی ـ نخاعی که حاوی مرتیولات $\frac{1}{1000}$ هستند به صورت دوتایی تهیه می‌شوند | نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از آزمون جلدی با هیستوپلاسمین، نمونه‌های آلوده، نمونه‌های منفرد (تکی) | ندارد | ندارد | ندارد | ندارد |
| تراشه‌های جلدی | محل نمونه‌برداری باید قبلاً با اتانل ۷۰ درصد تمیز شود. بخش‌های مرکزی و حواشی ضایعات و هرگونه تریچ باید به عنوان نمونه در داخل پلیت‌های استریل یا پاکت جمع‌آوری شوند. | نمونه‌های تهیه شده با سواب | تلقیح مستقیم در محیط کشت، به استثنای موارد مشکوک به بیماری پیتیریازیس وریسکالر که برای تشخیص نیاز به کشت ندارد. | لوله‌های حاوی SCC,SDA؛ نگه‌داری کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد | پتاس ۱۰ درصد، PAS | ۴ هفته |

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

| نمونه | جنس‌های معمول قارچ‌های بیماری‌زا |
|---|---|
| خون | *کاندیدا، کریپتوکوکوس، هیستوپلاسما، تورولوپسیس* |
| استخوان و مغز استخوان | *بلاستومایسس، کریپتوکوکوس، هیستوپلاسما* |
| مایع مغزی ـ نخاعی | *کاندیدا، کوکسیدیوئیدس، کریپتوکوکوس، هیستوپلاسما* |
| تراشه‌های قرنیه | *آسپرژیلوس، کاندیدا، فوزاریوم* |
| تراشه‌ها و ترکیبات کانال شنوایی | *آسپرژیلوس، کاندیدا* |
| مو | *میکروسپوروم، پیدرا، ترایکوفیتون، ترایکوسپورون* |
| مایع مفصلی | *بلاستومایسس، کوکسیدیوئیدس، اسپوروتریکس* |
| بافت‌های جلدی ـ مخاطی | *کاندیدا، پاراکوکسیدیوئیدس* |
| ناخن | *آسپرژیلوس، کاندیدا، اپیدرموفیتون، میکروسپوروم، اسکوپولاریوپسیس، ترایکوفیتون* |
| بافت بینی | *آبسیدیا، آسپرژیلوس، موکور، رایزوپوس، رینوسپوریدیوم* |
| پوست | *کاندیدا، بلاستومایسس، کوکسیدیوئیدس، کریپتوکوکوس، اپیدرموفیتون، مالاسزیا، هیستوپلاسما، میکروسپوروم، ترایکوفیتون، عوامل مایستوما* |
| خلط و مایع شستشوی برونش | *آسپرژیلوس، بلاستومایسس، کاندیدا، کریپتوکوکوس، کوکسیدیوئیدس، هیستوپلاسما، موکور، رایزوپوس، اسپوروتریکس، پاراکوکسیدیوئیدس، ژئوتریکوم* |
| بافت‌های زیر جلدی و آبسه‌ها | *بلاستومایسس، کلادوسپوریوم، کوکسیدیوئیدس، کریپتوکوکوس، اگزوفیالا، فونسکا، هیستوپلاسما، لوبوآ، فیالوفورا، اسپوروتریکس* |
| ادرار | *کاندیدا، کریپتوکوکوس، هیستوپلاسما، تورولوپسیس* |
| نمونه‌های واژینال | *کاندیدا* |
| شیر | *کریپتوکوکوس، کاندیدا، ترایکوسپورون، آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، آلترناریا* |



**جدول ۴-۳- محیط‌های اصلی مورد استفاده برای جداسازی قارچ‌ها از نمونه‌های بالینی [۲۳ و۲۱].**

| محیط کشت | موارد کاربرد |
|---|---|
| محیط اگار خون‌دار[1] | این محیط به منظور جداسازی قارچ‌های بیماری‌زای فرصت‌طلب و دوشکلی به کار می‌رود. ترکیبات ضدمیکروبی نظیر پنی‌سیلین و استرپتومایسین، معمولاً به محیط اضافه می‌شوند. این محیط را نمی‌توان برای بررسی نمونه‌هایی مانند مو، ناخن و تراشه‌های جلدی به کار برد. |
| محیط اگار عصارهٔ مغز و قلب[2] | این محیط برای جداسازی قارچ‌های پاتوژن فرصت‌طلب و دوشکلی به کار می‌رود. ترکیبات ضد میکروبی نظیر پنی‌سیلین و استرپتومایسین ممکن است به محیط اضافه شوند. بسیاری از قارچ‌های دوشکلی قادر به ایجاد فرم بافتی خود در این محیط در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد هستند. این محیط برای نمونه‌هایی نظیر مو، ناخن و تراشه‌های جلدی مناسب نیست. |
| محیط عصارهٔ مغز و قلب خون‌دار دوفازی | این محیط منحصراً برای جداسازی قارچ‌ها از نمونه‌های خون به کار می‌رود. |
| محیط نان[3] | نان استریل (بدون نگه‌دارنده) تهیه شده در لوله آزمایش جهت جداسازی زایگومیست‌ها از نمونه‌های بالینی انتخابی است. |
| محیط کافئیک اسید اگار[4] | این محیط در موارد مشکوک به وجود قارچ کریپتوکوکوس نئوفورمنس استفاده می‌شود. پرگنه‌های این قارچ روی محیط کشت به رنگ سیاه دیده می‌شوند که البته تشخیص قطعی رافراهم نمی‌سازد. |
| محیط آزمون درماتوفیت[5] | این محیط برای جداسازی درماتوفیت‌ها از نمونه‌های بالینی حیوانی، مصرف می‌شود. محیط فوق حاوی سیکلوهگزامید، جنتامایسین و کلرتتراسایکلین است و به همین دلیل در مواردی که نمونه‌های مو، ناخن و پوستهٔ به شدت آلوده به باکتری وجود دارند، توصیه می‌شود. بسیاری از قارچ‌های غیر ماتوفیتی نیز رنگ محیط را به رنگ قرمز درمی‌آورند. |

1- Blood agar
2- Brain-heart infusion agar (BHIA)
3- Bread medium
4- Caffeic acid agar
5- Dermatophyte test medium (DTM)

**ادامهٔ جدول ۴-۳-**

| | |
|---|---|
| محیط‌های کشت حاوی سیکلوهگزامید | دو محیط تجاری به نام‌های مایکوسل اگار[1] و مایکوبیوتیک اگار[2] که درحال حاضر با نام محیط اگار اختصاصی برای قارچ‌های بیماری‌زا شناخته شده‌اند، حاوی سیکلوهگزامید هستند. در این دو محیط، گلوکز ۱درصد و کلرامفنیکل نیز موجود است. از این محیط‌ها به منظور جداسازی انتخابی قارچ‌های دوشکلی و درماتوفیت‌ها از نمونه‌های بالینی استفاده می‌شود. |
| محیط کشت سابی[3] | این محیط به خصوص در فرم غنی‌شده با خون گوسفند برای جداسازی هیستوپلاسما کپسولاتوم و بلاستومایسس درماتیتیدیس کاربرد دارد. این محیط حاوی مقادیر مساوی از SDA و BHIA و کلرومایستین نیز به آن اضافه شده‌است. محیط فوق برای جداسازی قارچ‌ها از نمونه‌های مو، ناخن و پوسته مناسب نیست. |
| محیط سابورو دکستروز ۴٪ آگار | این محیط با فرمولاسیون‌های مختلف تهیه شده است. فرمولاسیون اصلی آن حاوی ۴ درصد گلوکز و pH=۵/۶ و برای مطالعه مورفولوژی پرگنه درماتوفیت‌ها مناسب است. فرمولاسیون ارائه‌شده توسط C.W.Emmon's حاوی ۲ درصد گلوکز و pH=۵/۶ و برای جداسازی قارچ‌های فرصت‌طلب و دوشکلی از نمونه‌های بالینی بسیار انتخابی است. در ترکیب این محیط از ترکیبات ضد میکروبی مختلف شامل سیکلوهگزامید، کلرامفنیکل، جنتامایسین، پنی‌سیلین، استرپتومایسین یا تلوریت از جانب محققان برحسب مورد استفاده شده است. |
| محیط عصارهٔ مخمر-فسفات[4] | این محیط در فرم غنی شده با کلرامفنیکل و هیدروکسیدآمونیوم به منظور افزایش احتمال جداسازی قارچ‌های بلاستومایسس درماتیتیدیس و هیستوپلاسما کپسولاتوم از نمونه‌های بالینی آلوده طراحی شده است. از این محیط در داخل پتری‌دیش استفاده می‌شود. |

1- Mycosel agar
2- Mycobiotic agar
3- Sabhi agar
4- Yeast extract-phosphate agar

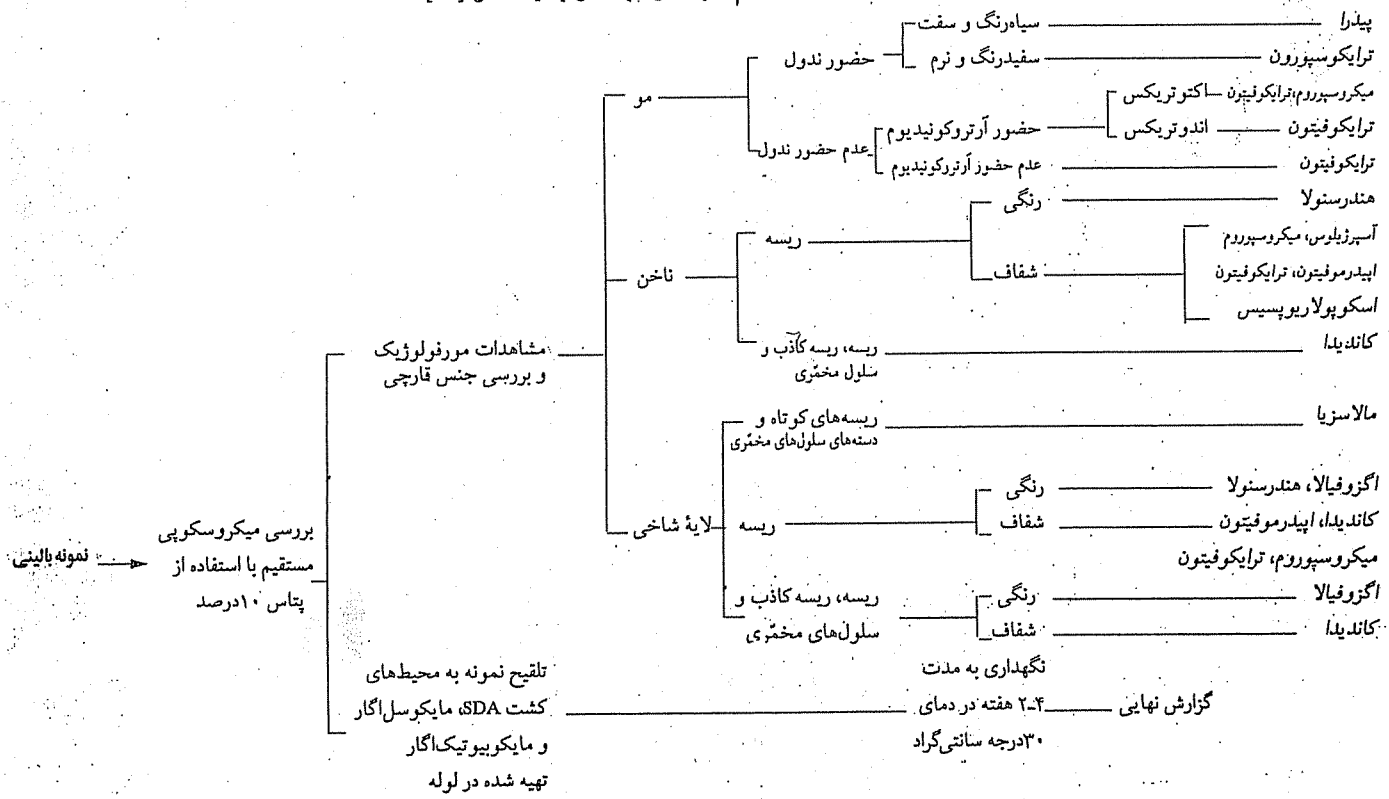


**جدول ۴-۴- رایج‌ترین محیط‌های کشت آزمایشگاهی مناسب برای کشت و جداسازی اولیه قارچ‌های بیماری‌زای حیوانات [۳۲،۳۴].**

| قارچ | محیط کشت | | | | | | زمان انکوباسیون (روز) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | سابورو دکستروز آگار | سابورو دکستروز آگار + کلرامفنیکل* | سابورو دکستروز آگار + سیکلوهگزامید** | محیط عصارهٔ مخمر دلف آگار حاوی کلرامفنیکل، سیکلوهگزامید | محیط آگار عصارهٔ مخمر دلف حاوی کلرامفنیکل، سیکلوهگزامید | محیط عصارهٔ مخمر دلف آگار حاوی کلرامفنیکل، سیکلوهگزامید | دمای انکوباسیون (درجه سانتی‌گراد) |
| گونه‌های آسپرژیلوس | + | + | ۳ | | | | ۳۷ | ۱-۴ |
| زایگومیست‌ها | + | + | | | | | ۳۷ | ۱-۴ |
| کاندیدا/آلیکنس | + | | + | | | | ۳۷ | ۱-۴ |
| کریپتوکوکوس نئوفورمنس | + | + | | | | | ۳۷ | ۷-۱۴ |
| درماتوفیت‌ها | + | | + | + | | | ۲۵ | ۱۴-۴۲ |
| قارچ‌های دیمورفیک (نارزشه‌ای) | | | | | + | | ۳۷ | ۷-۲۸ |
| قارچ‌های دیمورفیک (قارزشه‌ای) | + | + | + | | | | ۲۵ | ۷-۲۸ |
| قارچ‌های طحال‌فرزنده‌زا/زیرجلدی | + | + | | | | | ۲۵ | ۱۴-۲۱ |

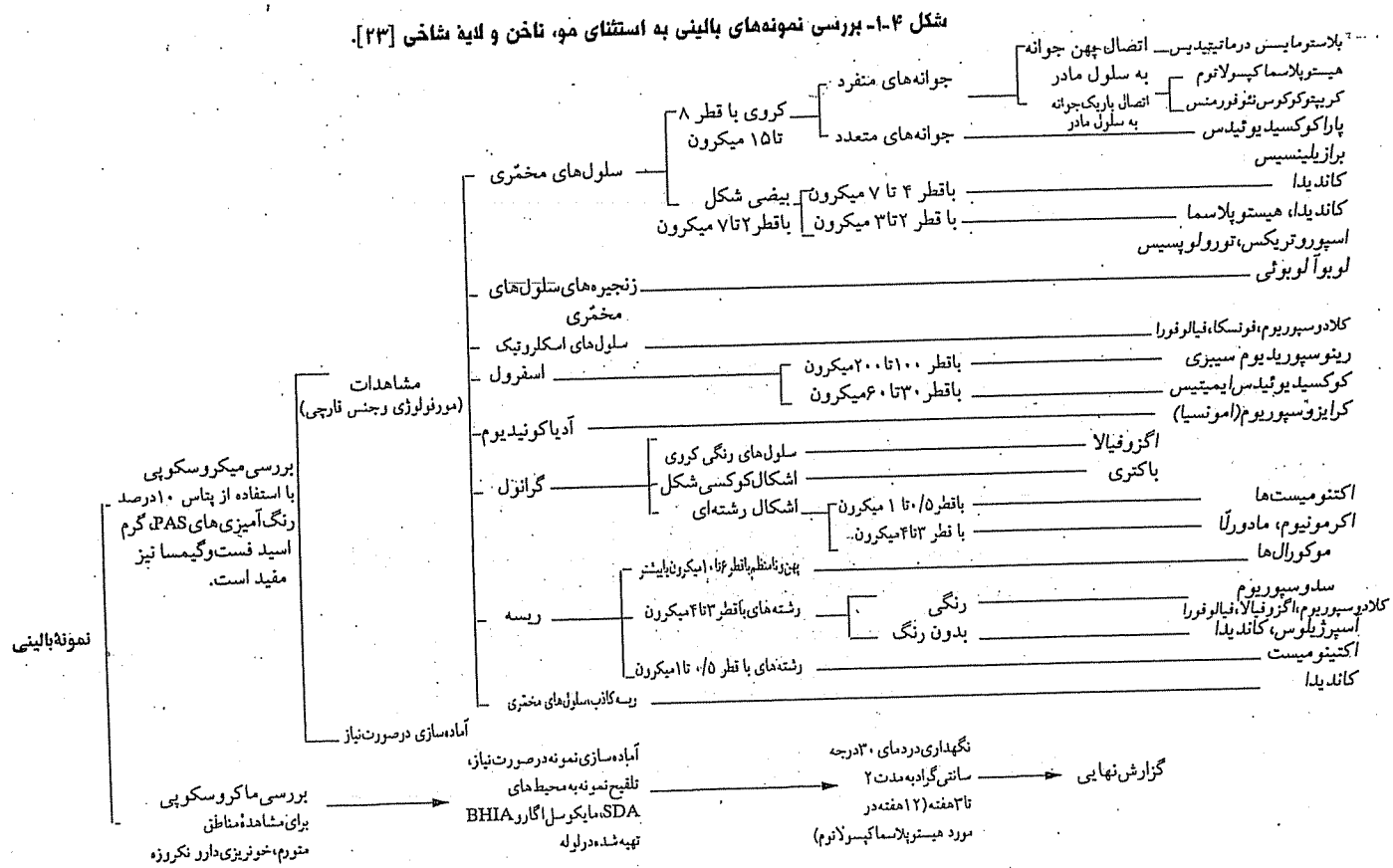
* ۵۰ میلی‌گرم در لیتر
** ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر

**شکل ۴-۲- بررسی مستقیم نمونه‌های مو، ناخن و لایهٔ شاخی [۲۳].**






**شکل ۴-۱- بررسی نمونه‌های بالینی به استثنای مو، ناخن و لایهٔ شاخی [۲۳].**



افزودن گلیسرول به پتاس، تأثیر هیدروکسید بر قارچ را به تعویق خواهد انداخت. تأثیر شفاف‌سازی پتاس را می‌توان با حرارت دادن آرام نمونه تسریع کرد. بررسی مستقیم نمونه‌های بالینی اطلاعات با ارزشی را در اختیار دامپزشک، پزشک و متخصص قارچ‌شناس قرار خواهد داد. برای بررسی میکروسکوپی نمونه‌های بالینی روشهای دیگری نیز وجود دارند. در نمونه‌هایی مانند مایع مغزی ـ نخاعی، استفاده از رنگ جوهر هندی[1] بسیار راهگشاست. در این روش رنگ‌آمیزی که اختصاصاً برای مشاهدهٔ *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* به کار می‌رود، سلول‌های مخمّری به رنگ سیاه درمی‌آیند، در حالی که کپسول اطراف ارگانیسم رنگ نمی‌گیرد و به صورت یک هالهٔ شفاف در اطراف سلول‌های مخمّری مشاهده خواهد شد. در موارد بسیاری، قارچ‌ها، در نمونه‌های بالینی، به سادگی قابل مشاهده نیستند. این موضوع بویژه در مورد تراشه‌های ناخن و لایهٔ شاخی پوست صدق می‌کند. رنگ‌آمیزی به روش پریودیک اسید شیف[2]، یکی از بهترین روش‌های رنگ‌آمیزی قارچ‌هاست و در این‌گونه موارد کاربرد بسیار مناسبی دارد. رنگ‌آمیزی گرم[3] برای بررسی حضور رشته‌های گرم مثبت اکتینومیست‌ها[4] و مخمّرهایی نظیر گونه‌های *کاندیدا* مناسب است. روش رنگ‌آمیزی گیمسا[5] برای بررسی حضور سلول‌های مخمّری داخل سلولی هیستوپلاسما *کپسولاتوم* در نمونه‌هایی نظیر مغز استخوان انتخابی است. نمونه‌های بالینی پس از بررسی ماکروسکوپی باید در اسرع وقت در محیط کشت مناسب تلقیح شوند. در صورتی که بررسی نمونه‌ها به تأخیر افتد، نمونه‌ها را باید تا زمان بررسی در یخچال نگهداری کرد و به جز در موارد مشکوک به حضور اکتینومیست‌ها، افزودن ترکیبات ضد باکتریال به آنها ضروری است. قارچ‌ها، پس از جداسازی و خالص‌سازی از محیط‌های کشت، باید شناسایی شوند. در این مورد، بویژه در مورد مخمّرها، شناسایی تا سطح گونه به دلایل زیر الزامی است:

ـ بدون شناسایی قارچ تا سطح گونه، شناسایی انواع بیماری‌زای قارچ‌ها میسر نخواهد بود.

ـ تشخیص یک عفونت قارچی فرصت‌طلب اغلب به بررسی و جداسازی یک قارچ از بیش از

1- Indian ink
2- Periodic acid schiff (PAS)
3- Gram stain
4- Actinomycetes
5- Giemsa stain



یک منطقه از بدن یا جداسازی مکرر یک گونهٔ قارچی از نمونه‌های تکراری نیاز دارد.

ـ شناسایی یک قارچ راهنمای مناسبی برای انتخاب پروتکل شیمی‌درمانی[1] است. برای مثال، قارچ *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* در طی درمان با داروی ۵ـ فلوروسیتوزین[2] به سرعت مقاوم می‌شود، در حالی که در مورد بسیاری از مخمّرهای دیگر چنین اتفاق نمی‌افتد.

**تکنیک‌ها**

**نمونه‌های آبسه**

محتویات آبسه‌ها را باید با استفاده از سرنگ و سوزن در شرایط استریل از آبسه‌های بسته آسپیره کرد. چرک موجود در آبسه‌ها را نیز می‌توان پس از بازکردن آبسه با اسکالپل استریل، خارج و جمع‌آوری کرد. محتویات آبسه را در داخل لوله‌های استریل به آزمایشگاه انتقال می‌دهند. استفاده از سواب در تهیهٔ نمونهٔ آبسه مناسب نیست و توصیه نمی‌شود. نمونهٔ آبسه بطور مستقیم در محیط‌های کشت جداسازی قارچ تلقیح می‌شود. در صورتی که حجم نمونه زیاد باشد، می‌توان پس از افزودن مقدار ناچیزی از سرم فیزیولوژی یا آب مقطر استریل، نمونه را به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و از رسوب به‌دست آمده به عنوان نمونه استفاده کرد. در چنین شرایطی، شانس جداسازی قارچ افزایش خواهد یافت. محیط‌های کشت، پس از تلقیح نمونه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، نگهداری و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. در صورت عدم رشد قارچ پس از گذشت دو هفته، کشت‌ها را می‌توان به‌عنوان منفی تلقی و حذف کرد. تمام قارچ‌های جداسازی شده از نمونه باید شناسایی شوند.

**نمونه‌های خون**

کشت خون در موارد سپتی سمی یا فونجمی[3] می‌تواند مثبت باشد. فونجمی معمولاً به‌دنبال جایگیری موضعی قارچ در محل کاتترهای داخل وریدی[4] ایجاد می‌شود. برای کشت نمونه‌های خون دو روش اصلی وجود دارد که از این دو، روش فیلتر غشایی به روش کشت معمولی ترجیح داده می‌شود:

1- Chemotherapy
2- 5-fluorocytosine
3- Fungemia
4- Intravenus catheters

**الف-روش فیلترغشایی** [1]

در این روش، حدود ۸ میلی‌لیتر خون به صورت استریل در لوله‌های ونوجکت حاوی ۰/۰۵درصد سدیم پلی‌آنتول سولفات [2] (۱/۷ میلی‌لیتر از ترکیب ۰/۳۵ درصد) جمع‌آوری و به طور کامل با ترکیب ضد انعقاد مخلوط می‌شود. سپس نمونه به مدت حداکثر یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود. مجموعه‌ای از ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ درصد تریتون ۱۰۰- X ، ۴ میلی‌لیتر نمونهٔ خون، ۲ میلی‌لیتر واریداز [3] و ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۸ درصد کربنات سدیم را در داخل محفظهٔ دستگاه فیلتراسیون دارای فیلتر ۰/۴۵ میکرون می‌ریزند و آنها را به آرامی مخلوط می‌کنند. ۲ تا ۳ دقیقه بعد، پس از لیز شدن گلبول‌های قرمز، سیستم خلأ روشن شده و مجموعهٔ فوق از فیلتر عبور داده می‌شود. فیلتر با استفاده از ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل شسته شده و با اسکالپل و پنس‌استریل روی محیط سابورو دکستروز اگار تهیه شده در پلیت قرار داده می‌شود. پلیت با پارافیلم پوشانیده شده و در داخل یک کیسهٔ نایلونی قرار داده می‌شود. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به طور روزانه از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. قارچ در صورت حضور پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت روی سطح فیلتر رشد خواهد کرد.

**ب-روش کشت معمولی خون** [4]

نمونهٔ خون به روش ذکر شده در بخش الف جمع‌آوری و پس از اضافه شدن به نسبت ۱ به ۱۰ تا ۱ به ۲۰ به بطری‌های کشت خون دو فازی حاوی محیط کشت اگار عصارهٔ مغز و قلب، به خوبی مخلوط می‌شود. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری و هر دو روز یک بار از آنها لام مستقیم و همچنین کشت مجدد روی محیط سابورودکستروز اگار تهیه می‌شود. سطح جامد کشت‌های دو فازی به‌طور روزانه از نظر وجود پرگنه‌های قارچی کنترل می‌شود. کشت‌ها پس از گذشت دو هفته، در صورتی که رشد قارچ در آنها دیده نشود به عنوان منفی تلقی و حذف خواهند شد. تمام قارچ‌های جداسازی‌شده بایدشناسایی شوند.

1- Membrane filter technique
2- Sodium polyanethol sulfate
3- Varidase
4- Routine blood culture



**نمونه‌های مغزاستخوان**

نمونه‌های مغز استخوان، عموماً از جهت حضور قارچ‌هایی نظیر *کاندیدا*، *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* و *هیستوپلاسما کپسولاتوم* بررسی می‌شوند. تقریباً حدود ۰/۲ تا۰/۳ میلی‌لیتر مغز استخوان توسط سرنگ هپارینهٔ استریل به عنوان نمونه تهیه می‌شود. نمونه باید بلافاصله برای بررسی به آزمایشگاه منتقل شود. لام مستقیم تهیه شده از بخشی از نمونه با روش گیمسا رنگ‌آمیزی و بررسی می‌شود. بخشی از نمونه نیز در محیط‌های کشت جداسازی تلقیح می‌شود. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. کشت‌ها پس از گذشت ۴ هفته، در صورتی که رشد قارچ در آنها دیده نشود، به‌عنوان منفی تلقی و حذف خواهند شد. البته در موارد مشکوک به وجود هیستوپلاسما کپسولاتوم، کشت‌ها باید حداقل تا۱۲ هفته نگه‌داشته شوند.

**مایع مغزی-نخاعی**

در موارد مشکوک به درگیری سیستم عصبی مرکزی، مایع مغزی-نخاعی به عنوان نمونه از طریق پونکسیون کمری تهیه می‌شود. حداقل به ۳ میلی‌لیتر نمونه برای بررسی قارچ‌شناسی نیاز است.

**الف-روش فیلترغشایی**

در این روش، نمونهٔ مایع مغزی-نخاعی ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ می‌شود. سپس بخشی از رسوب به‌دست آمده بدون تخلیهٔ مایع رویی، با یک پیپت مویین، برداشت شده و روی یک قطره آب مقطر یا جوهر هندی در سطح یک لام میکروسکوپی تمیز قرار داده می‌شود. لاملی را روی نمونه قرار داده و با میکروسکوپ بررسی می‌کنند. حداقل ۳ لام باید از هر نمونه تهیه و بررسی شود. پس از تهیهٔ لام از رسوب، نمونهٔ مایع مغزی-نخاعی مجدداً از طریق تکان‌دادن لوله به حالت سوسپانیسون درآمده و تمام آن از یک دستگاه فیلتراسیون مجهز به یک فیلتر ۰/۴۵میکرونی عبور داده می‌شود. فیلتر با چند میلی‌لیتر محیط سابورو مایع استریل شستشو داده و با اسکالپل و فورسپس، در شرایط استریل به محیط سابورودکستروز اگار تهیه شده در پلیت منتقل می‌شود. سطح رویی فیلتر باید در این مرحله

روبه بالا قرار گیرد. پلیت به‌وسیلهٔ پارافیلم پوشانیده شده و برای جلوگیری از تبخیر محیط کشت در یک کیسهٔ نایلونی قرار داده می‌شود. کشت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌گردد. در صورتی که قارچ در نمونه وجود داشته باشد به فاصلهٔ ۲۴ تا ۴۸ ساعت در سطح فیلتر رشد خواهد کرد. کشت‌ها را می‌توان پس از گذشت ۲ هفته، در صورتی که رشد نکرده باشند، به‌عنوان منفی تلقی و حذف کرد. هر گونه قارچ جداسازی شده باید شناسایی شود.

**ب- روش کشت معمولی**

مراحل اولیه شبیه روش الف است. رسوب حاصل از نمونه به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر به هر کدام از لوله‌های حاوی محیط‌های سابورودکستروز اگار و سابهی اگار انتقال داده می‌شود. مابقی رسوب در لولهٔ حاوی محیط اگار عصارهٔ مغز و قلب تلقیح می‌گردد. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. کشت‌ها را می‌توان پس از گذشت ۲ هفته در صورت عدم مشاهدهٔ رشد قارچ به عنوان منفی تلقی کرده و حذف نمود. تمامی قارچ‌های جداسازی شده باید شناسایی شوند.

**مایعات**

نمونه‌های مایع باید با سرنگ هپارینه جمع‌آوری شوند. در صورتی که حجم نمونه کم باشد، باید مستقیماً در داخل محیط‌های جداسازی تلقیح گردد. چنانچه حجم کافی از نمونه وجود داشته باشد، بهتر است تا پیش از بررسی تغلیظ شود. در این مورد، ابتدا نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و پس از حذف مایع رویی، رسوب موجود با پیپت استریل به محیط‌های کشت اضافه می‌شود. بخشی از رسوب برای تهیهٔ لام مستقیم، با پتاس ۱۰ درصد شفاف می‌شود. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. کشت‌ها را می‌توان پس از گذشت ۴ هفته در صورتی که قارچ در آنها دیده نشود، منفی تلقی و حذف کرد. تمام قارچ‌های جداسازی شده باید شناسایی شوند.



**مو**

اولین مرحله، در بررسی آزمایشگاهی نمونه‌های مو، بررسی سطح ضایعات با لامپ وود[1] برای مشاهدهٔ موهای واجد فلئورسانس است. باید توجه داشت که که تمام قارچ‌هایی که به موها حمله می‌کنند نمی‌توانند در محل موها فلئورسانس ایجاد کنند. موهای دارای فلئورسانس یا موهای شکسته و تغییر شکل و رنگ داده را با پنس استریل از ناحیهٔ فولیکول از جا در می‌آورند و از آنها به عنوان نمونه در بررسی میکروسکوپی مستقیم و کشت استفاده می‌کنند. نمونه‌های مو را در داخل یک پلیت، پاکت یا در بین دو لام میکروسکوپی به آزمایشگاه می‌برند. چند قطعه مو، برای بررسی مستقیم، با پنس روی یک قطره پتاس ۱۰ درصد در سطح یک لام قرار داده شده و پس از قرار دادن لامل و عبور از روی شعله در زیر میکروسکوپ بررسی می‌شوند. حضور حباب‌های هوا[2] در داخل ساقهٔ مو از نشانه‌های عفونت با قارچ *ترایکوفیتون شوئن‌لاینی*[3] است. در صورتی که نتایج حاصل از تهیهٔ لام مستقیم با پتاس ۱۰ درصد مناسب نباشد، باید یک لام به روش پریودیک اسید شیف تهیه کرد. برای کشت نمونه، ۳ تا ۴ قطعه مو روی هر یک از محیط‌های شیب‌دار سابورودکستروز اگار و مایکوسل اگار تلقیح می‌شوند. کشت‌ها، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و هر ۲ تا ۳ روز یک بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. در صورتی که قارچ پس از گذشت ۳ هفته رشد نکند، نمونه به‌عنوان منفی قلمداد خواهد شد. هر گونه درماتوفیت جداسازی شده باید تا سطح گونه شناسایی شود. حمله قارچ‌ها به مو به اشکال اکتوتریکس[4]، اندوتریکس[5] ویا فاووس[6] مشاهده می‌شود. در آلودگی موها به فرم اکتوتریکس، آرتروکونیدیوم‌ها، در خارج ساقهٔ مو قرار می‌گیرند و کوتیکول مو تخریب شده است. در فرم اندوتریکس، آرتروکونیدیوم‌ها در داخل ساقهٔ مو دیده می‌شوند و کوتیکول مو سالم است. در آلودگی به فرم فاووس، ریسه‌ها در داخل ساقهٔ مو وجود دارند و کوتیکول مو سالم و دست‌نخورده است.

1- Wood's lamp
2- Air bubbles
3- *Trichophyton schoenleinii*
4- Ectothrix
5- Endothrix
6- Favus

**ناخن**

پس از تمیزکردن محل ضایعات با اتانل ۷۰ درصد، تراشه‌های ناخن از قسمت قدامی به سمت انتهای خلفی ناخن با اسکالپل تهیه می‌شوند. محتویات زیرصفحهٔ ناخن نیز باید جمع‌آوری شود. هرگز نباید از سواب در تهیهٔ نمونه‌های پوستی استفاده کرد، زیرا فیبرهای موجود در سواب ممکن است با ریسه‌های حاضر در تراشه‌های جلدی اشتباه شوند. تراشه‌های ناخن را می‌توان در داخل پلیت، بین دو لام میکروسکوپی یا در داخل پاکت‌های تمیز جمع‌آوری کرد. قطعات بزرگ ناخن باید پیش از بررسی میکروسکوپی و کشت، به قطعات ریز تبدیل شوند. برای بررسی میکروسکوپی مستقیم، چند تکّه از تراشه‌های ناخن را با یک قطره پتاس ۱۰ درصد، روی یک لام جمع می‌کنند. پس از قرار دادن لامل و عبور دادن آن از روی شعله در زیر میکروسکوپ به تراشه‌ها نگاه می‌کنند.در صورتی که در نمونهٔ تهیه شده با پتاس، قارچ دیده نشود، باید یک لام رنگ‌آمیزی شده به روش پریودیک اسید شیف تهیه کرد. برای انجام کشت، سرآنس را با فرو بردن در داخل محیط سابورو دکستروز اگار مرطوب می‌کنند و سپس چندین تکّه از تراشه‌های ناخن را با آن برمی‌دارند و در محیط‌های مایکوسل یا مایکوبیوتیک اگار و سابورودکستروز اگار تهیه شده در لوله تلقیح می‌کنند. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. حدوداً در ۵۰ درصد از نمونه‌های ناخن، پاسخ منفی کاذب در کشت دیده می‌شود. در صورتی که قارچ، پس از گذشت ۴ هفته، رشد نکند، نمونه به‌عنوان منفی پذیرفته و حذف خواهد شد. قارچ‌های جداسازی شده باید شناسایی شوند. عفونت‌های ناخن اغلب به‌وسیلهٔ قارچ‌هایی نظیر *درماتوفیت‌ها*[1]، *آسپرژیلوس*، *کاندیدا* و *اسکوپولاریوپسیس*[2] ایجاد می‌شود.

**تراشه‌های جلدی (لایهٔ شاخی)**

درماتوفیت‌ها می‌توانند ضایعات حلقوی با حاشیهٔ وزیکول‌دار روی پوست ایجاد کنند، که از سمت مرکز بهبود می‌یابند. محل ضایعات باید پیش از نمونه‌برداری با اتانل ۷۰ درصد کاملاً

1- Dermatophytes 2- *Scopulariopsis* spp.



تمیز شود. به‌جای اتانل می‌توان از آب مقطر یا سرم فیزیولوژی استریل، بویژه در موارد مشکوک به عفونت‌های مخمّری، استفاده کرد. پس از تمیزکردن سطح ضایعات به روش فوق، حاشیهٔ ضایعات[1] با اسکالپل کند استریل تراشیده شده و از تراشه‌های به‌دست آمده به‌عنوان نمونه استفاده می‌شود. ترشحات مرطوب باید به‌طور کامل پس از حذف ترشحات سطحی خشک‌شده، جمع‌آوری شوند.ضایعات ترشح دار معمولاً مرطوب، متورم و دردناک هستند و عموماً با گونه‌های قارچ *کاندیدا*[2] ایجاد می‌شوند. تراشه‌های جلدی را می‌توان در داخل پلیت، بین دو لام میکروسکوپی یا در داخل یک پاکت تمیز به آزمایشگاه برد. تهیهٔ نمونه از تمام ضایعات سطحی بدن ضروری است. در صورتی که شکل ضایعات متفاوت باشد، تهیهٔ نمونه‌های جداگانه از این ضایعات توصیه می‌شود. برای بررسی میکروسکوپی مستقیم، بخشی از تراشه‌های جلدی را با یک قطره پتاس ۱۰ درصد در سطح یک لام جمع می‌کنند و پس از قراردادن لامل و عبور چند مرحله‌ای آن از روی شعله در زیر میکروسکوپ به تراشه‌ها نگاه می‌کنند. در صورتی که تهیهٔ لام با پتاس ۱۰ درصد نتایج مطلوبی را به همراه نداشته باشد، باید یک لام رنگ‌آمیزی شده با روش پریودیک اسید شیف تهیه کرد. به منظور کشت، چندین تکه از تراشه‌های جلدی را با یک آنس برمی‌دارند و در اسلانت‌های حاوی محیط‌های مایکوسل یا مایکوبیوتیک اگار تلقیح می‌کنند. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و هر ۲ تا ۳ روز یک بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. مشاهده نشدن رشد قارچ پس از گذشت ۴ هفته، نشان‌دهندهٔ منفی بودن نمونه است. تمام قارچ‌های جداسازی شده را باید شناسایی کرد. غیر از درماتوفیت‌ها و کاندیدا، قارچ‌های دیگری نیز ممکن است در محل لایهٔ شاخی وجود داشته باشند.

**نمونه‌های بافت**

نمونه‌های بافتی باید دارای بافت طبیعی و قسمت‌های میانی و اطرافی نواحی ضایعه دیده باشد. این موضوع بویژه در جداسازی قارچ‌های دوشکلی مهم است. هیستوپلاسما کپسولاتوم

1- Periphery of the lesions 2- *Candida* spp.

معمولاً در مرکز ضایعات وجود دارد، در حالی که *بلاستومایسس درماتیتیدیس* اکثراً در بخش‌های اطرافی ضایعات مشاهده می‌شود. از آنجا که نمونه‌های بافت از نظر تئوریک استریل هستند، قارچ‌های جداسازی شده را باید مهم تلقّی کرد و آنها تا حدّ گونه باید شناسایی شوند. نمونه‌های بافت تازه برای جلوگیری از تبخیر در داخل دو تکّه گاز مرطوب استریل یا در داخل لوله‌های حاوی ۱ تا ۲ میلی‌لیتر آب مقطر یا سرم فیزیولوژی استریل به آزمایشگاه برده می‌شوند. عوامل اتیولوژیک عفونت‌هایی نظیر اکتینومایکوزیس[1]، بوتریومایکوزیس[2] و مایستوما[3] در داخل بافت به فرم فشرده به‌نام گرانول[4] دیده می‌شوند. این گرانول‌ها ممکن است ارگانیسم زنده یا مرده داشته باشند و به همین دلیل آنها باید به دقت بررسی شوند. برای بررسی بافت در مواقعی که گرانول در آن وجود دارد، نمونهٔ بافتی باید در داخل پلیت‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۰۰ در ۱۵ میلی‌متر قرار داده شده و با اسکالپل استریل به قطعات کوچک تقسیم و نهایتاً با میکروسکوپ بررسی شود. یک یا دو عدد گرانول را در داخل یک لولهٔ آزمایش با یک میلهٔ شیشه‌ای له و در زیر میکروسکوپ بررسی می‌کنند. در روش رنگ‌آمیزی گرم، وجود ریسه‌های منشعب با دیوارهٔ عرضی با قطر ۳ تا ۷ میکرون، یکی از ویژگی‌های گرانول قارچی است. گرانول‌های مشکوک به وجود باکتری نیز باید به روش گرم رنگ‌آمیزی شوند. در این مورد، دیده شدن رشته‌های منشعب گرم مثبت با قطر ۰/۵ تا ۱ میکرون نشان‌دهندهٔ وجود اکتینومیست‌ها و دیده شدن باسیل‌های گرم منفی غیرمنشعب، که معمولاً با کوکسی‌های گرم مثبت همراه‌اند، نمایانگر حضور *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس ارئوس* و گونه‌های *پروتئوس* است. در صورت نبودن گرانول، بخش‌های چرکی و نکروزهٔ بافت در محیط‌های جداسازی تلقیح می‌شوند. برای کشت، چندین گرانول را از داخل بافت خارج و پس از ۲ تا ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل، با میلهٔ شیشه‌ای استریل له می‌کنند. در ادامه، سوسپانسیون نمونه در آب مقطر استریل، به محیط‌های جداسازی تلقیح می‌گردد. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد

1- Actinomycosis 2- Botryomycosis 3- Mycetoma
4- Granule



نگهداری شده و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی می‌شوند. دیده نشدن رشد قارچ پس از گذشت ۴ هفته نشان دهنده منفی بودن کشت است. قارچ‌های جداسازی شده باید شناسایی شوند. در صورتی که گرانول در نمونهٔ بافتی وجود نداشته باشد، نمونه در داخل پلیت‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۳ در ۱۰۰ میلی‌متر قرار داده می‌شود و گسترش مستقیمی با استفاده از پتاس از آن تهیه می‌گردد. تهیهٔ یک لام از نمونهٔ بافتی و رنگ‌آمیزی آن به روش پریودیک اسید شیف می‌تواند بسیار راهگشا باشد. برای کشت نمونه، بخش‌های چرکی و نکروزهٔ بافت مستقیماً به داخل محیط‌های جداسازی تلقیح می‌شود. در صورت عدم حضور بخش‌های مذکور، نمونهٔ بافتی ابتدا باید هموژن شده و سپس به محیط‌های جداسازی تلقیح شود. همگن کردن بافت به جداسازی عوامل قارچی کمک کرده و باعث آزادسازی قارچ‌های داخل سلولی می‌شود. این عمل باید با استفاده از هموژنایزر بافت صورت گیرد و در برخی موارد، افزودن ۲ تا ۳ میلی‌لیتر محیط سابورو برات به نمونه برای بهبود کیفیت همگن سازی ضروری است. در این شرایط، ۰/۰۵ تا ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونهٔ همگن شده را با پیپت استریل به محیط‌های جداسازی انتقال می‌دهند. کشت‌ها باید در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و هر ۲ تا ۳ روز یک بار از نظر رشد قارچ بررسی شوند. دیده نشدن رشد قارچ پس از گذشت ۴ هفته نشان دهندهٔ منفی بودن آن است. در مورد *هیستوپلاسما کپسولاتوم*، نگهداری کشت‌ها به مدت ۱۲ هفته ضروری است. تمام قارچ‌های جداسازی شده باید شناسایی شوند.

**نمونه‌های ادرار**

نمونهٔ ادرار باید با استفاده از کاتتر یا از راه آسپیراسیون فوق‌عانه‌ای[1] تهیه شود. بهتر است که نمونهٔ ادرار در اسرع وقت بررسی شود. با این‌حال نگهداری آن به مدت چندساعت در یخچال، قبل از بررسی میسر و ممکن است. تقریباً به ۲۵ تا ۵۰ میلی‌لیتر ادرار برای بررسی‌های قارچ‌شناسی نیاز است. برای بررسی نمونهٔ ادرار، نمونه باید ابتدا به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شود. مایع رویی حذف شده و رسوب پس از تهیهٔ

1- Suprapubic aspiration

سوسپانسیون در آب مقطر استریل، بررسی می‌شود. از این رسوب، لام مستقیم با پتاس ۱۰ درصد یا لام رنگ‌آمیزی شده با جوهر هندی تهیه و در زیر میکروسکوپ بررسی می‌شود. بخشی از نمونه (۰/۰۵ تا ۰/۱ میلی‌لیتر) به محیط‌های کشت جداسازی منتقل می‌شود. کشت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و هر ۲ تا ۳ روز یک‌بار از نظر رشد قارچ بررسی خواهند شد. عدم رشد قارچ پس از گذشت ۲ هفته نشان دهندهٔ منفی بودن کشت است. تمام قارچ‌های جداسازی شده باید شناسایی شوند.

**نمونه‌های شیر**

نمونهٔ شیر باید در شرایط استریل پس از ضدعفونی‌کردن پستان با اتانل ۷۰ درصد یا بتادین تهیه شود. نمونه باید حداکثر تا ۲ ساعت پس از تهیه بررسی شود. برای بررسی قارچ‌شناسی حدود ۲۵ تا ۵۰ میلی‌لیتر شیر مورد نیاز است که در داخل لوله‌های آزمایش استریل جمع‌آوری می‌شود. نمونه ابتدا به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ می‌شود و رسوب به‌دست آمده به عنوان نمونه استفاده می‌شود. سوسپانسیون مناسبی از رسوب در آب مقطر استریل (۲ تا ۳ میلی‌لیتر) تهیه و برای بررسی میکروسکوپی مستقیم به روش پتاس، پریودیک اسید شیف یا جوهر هندی رنگ‌آمیزی می‌شود. حدود ۰/۰۵ تا ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون نمونه در محیط‌های کشت جداسازی تلقیح می‌شود. در موارد مشکوک به اورام پستانی کریپتوکوکوسی، می‌توان نمونه را برای افزایش تعداد ارگانیسم به حیوان آزمایشگاهی (تزریق داخل مغزی یا داخل صفاقی در موش سوری) تزریق کرد. کشت‌ها باید در دوسری و در دو دمای ۳۰ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند. رشد نکردن قارچ پس از گذشت ۴ هفته، نشان دهندهٔ منفی بودن کشت است. تمام قارچ‌های جداسازی شده باید شناسایی شوند.

**نمونه‌های بافت چشم**

در مواردی که کراتیت‌های قارچی وجود دارند، بافت قرنیه به‌عنوان نمونه مطرح است. در



این شرایط، نمونه با یک اسکالپل کند و به روش تراشیدن سطح قرنیه[1] تهیه می‌شود. در اندوفتالمیت‌های قارچی، متخصص چشم‌پزشک مایع زجاجیه را به روش ویترکتومی بسته[2] تهیه و به عنوان نمونه به آزمایشگاه ارسال می‌کند. نمونه‌های بافت قرنیه و زجاجیه را می‌توان به‌طور مستقیم در داخل محیط‌های کشت جداسازی تلقیح کرد و به مدت حداکثر ۴ هفته در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داد. بررسی میکروسکوپی مستقیم نمونه‌های مذکور با استفاده از پتاس یا پریودیک اسید شیف انجام می‌شود.

**بررسی میکروسکوپی مستقیم**

بررسی مستقیم نمونه‌های بالینی و مشاهدهٔ مورفولوژی میکروسکوپی قارچ‌های بیماری‌زای حیوانی و انسانی اطلاعات بسیار با ارزشی دربارهٔ تشخیص عفونت‌های قارچی در اختیار قرار خواهد داد. این روش‌ها و جنبه‌های مورفولوژیک قارچ‌های بیماری‌زای مهم حیوانات در جداول ۴-۵ و ۴-۶ خلاصه شده‌اند. در این بخش، مهم‌ترین روش‌های بررسی میکروسکوپی مستقیم نمونه‌های بالینی به تفضیل و به‌طور جداگانه بحث و بررسی خواهد شد.

**روش هیدروکسید پتاسیم (پتاس)**

به منظور شفاف‌سازی اجزای نمونه در راستای کمک به مشاهدهٔ عناصر قارچی از روش هیدروکسید پتاسیم استفاده می‌شود. برای مشاهدهٔ بهتر دیوارهٔ سلولی، می‌توان جوهرآبی یا جوهر پارکر ۵۱ را نسبت به ۱ به ۱ به محلول پتاس اضافه کرد. افزودن دی متیل سولفوکساید[3] به محلول پتاس به نسبت ۲ به ۱ برای تسریع در شفاف‌سازی نمونه‌های ضخیم لایهٔ شاخی و بافت ناخن بسیار مؤثر و مفید است. البته، استفاده از این مخلوط برای بررسی نمونه‌های مو و تراشه‌های جلدی توصیه نمی‌شود. روش هیدروکسید پتاسیم برای بررسی وجود قارچ‌های رنگی[4] بسیار مناسب است. در این روش،یک قطره پتاس ۱۰ تا ۳۰ درصد در مرکز یک لام تمیز قرار داده می‌شود. سپس نمونه روی پتاس قرار می‌گیرد و با اسکالپل به قطعات ریزتر تقسیم

1- Scraping
2- Pars plana vitrectomy
3- Dimethyl sulfoxide; DMSO
4- Dematiaceous fungi

می‌شود. یک لامل روی مجموعه قرار گرفته و نمونه تا زمان شفاف شدن در دمای آزمایشگاه قرار می‌گیرد. عبور دادن لام از روی شعله فرایند شفاف‌سازی را تسریع خواهد کرد و حباب‌های هوا را نیز از زیر لامل خارج می‌سازد. در این زمان می‌توان لام را با استفاده از میکروسکوپ زمینهٔ روشن یا فاز کنتراست بررسی کرد. عمل شفاف‌سازی با پتاس تا زمان از بین رفتن کامل بافت و قارچ ادامه می‌یابد. به همین دلیل، لام‌های تهیه شده به روش پتاس را نمی‌توان به مدت زیاد نگهداری کرد. با افزودن مقدار ناچیزی از گلیسرول به محلول پتاس، لام‌های تهیه شده به روش پتاس را می‌توان به مدت چند روز قابل نگهداری کرد. همان‌طور که ذکر شد، در مورد نمونه‌های ناخن می‌توان به جای پتاس ۱۰ درصد از مخلوط پتاس ـ دی متیل سولفوکساید استفاده کرد.

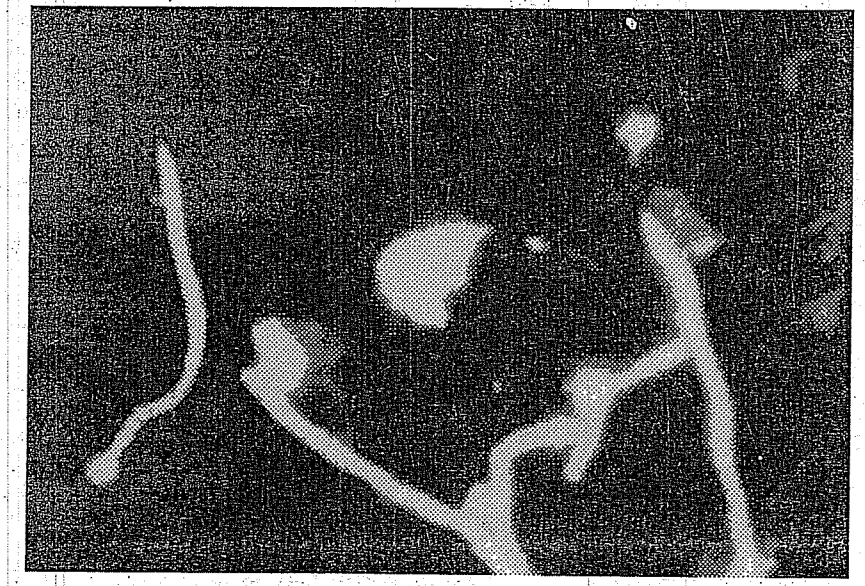
**روش کالکوفلوئور سفید و پتاس**

از رنگ کالکوفلوئور سفید به عنوان یک عامل شفاف‌کننده[1] در صنایع کاغذ و منسوجات استفاده می‌شود. این رنگ برای بررسی حضور سلول‌های قارچی در نمونه‌های بالینی به کار می‌رود، زیرا می‌تواند با پلی ساکاریدهای دارای اتصالات نوع ۳ـ۱$\beta$ و ۴ـ۱$\beta$ نظیر سلولز و کیتین اتصال داشته باشد. رنگ کالکوفلوئور سفید در مجاورت طول موج‌های کوتاه پرتو فرابنفش از خود فلئورسانس منتشر می‌کند، و به همین دلیل در این مورد به یک میکروسکوپ فلئورسانس نیاز است. برای انجام رنگ‌آمیزی، ابتدا محلول ۰/۱ درصد از رنگ کالکوفلوئور سفید از طریق حل کردن ۰/۱ گرم پودر کالکوفلوئور سفید M۲R در آب مقطر، تهیه می‌شود. سپس یک قطره پتاس ۱۰درصد و یک قطره محلول ۰/۱ درصد کالکوفلوئور سفید در مرکز یک لام تمیز مخلوط می‌شوند. بخشی از نمونه روی مخلوط قرار می‌گیرد و پس از قراردادن لامل روی مجموعه، نمونه از نظر وجود قارچ با یک میکروسکوپ فلئورسانس بررسی می‌شود. در این روش، سلول‌های مخمّری، ریسهٔ کاذب و ریسه حقیقی، برحسب نوع فیلتر استفاده شده به رنگ سفید

1- Whitening agent



گچی[1] یا سبز سیبی درخشان[2] دیده خواهند شد که در این شرایط می‌توان آن را به راحتی از زمینه جدا کرد. از آنجا که مخلوط رنگ کالکوفلوئور سفید – پتاس گرایش رسوب شدن دارد، این دو محلول را باید به‌طور جداگانه نگهداری کرد. از جمله معایب روش کالکوفلوئور سفید، نیاز داشتن به میکروسکوپ فلئورسانس، میسر نبودن رنگ‌آمیزی اندوسپورهای موجود در اسفرول *کوکسیدیوئیدس ایمیتیس* و دشوار بودن تفسیر نتایج مربوط به نمونه‌های ترشحات واژینال است. زمانی که تعداد قارچ در نمونه کم باشد، این رنگ‌آمیزی بسیار مؤثر و مفید خواهد بود (تصویر ۴ـ۱).



**تصویر ۴ـ۱ـ *کاندیدا آلبیکنس* در نمونهٔ ادرار رنگ‌آمیزی شده به روش کالکوفلوئور سفید [۵].**

1- Chalk-white

2- Brilliant apple-green

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

| روش | موارد استفاده | نوع قارچ |
|---|---|---|
| هیدروکسیدپتاسیم ۱۰تا۲۰درصد | نمونه‌را به منظور مشاهدهٔ بهتر قارچ شفاف می‌سازد. نمونه باید پس‌از شفاف شدن در زیرمیکروسکوپ بررسی شود. | عناصر قارچی متعلق به اکثر قارچ‌های رشته‌ای و مخمّرها، فرم مخمّری قارچ‌های دوشکلی در بافت و آرتروسپورهای درماتوفیتی موجود در موهای آلوده |
| سفیدکالکوفلوئور (۰/۱درصد) | عناصر قارچی دارای فلئورسانس را با میکروسکوپ‌مخصوص‌می‌توان دید | شناسایی اکثرقارچ‌ها در گسترش‌های مرطوب و مقاطع بافتی ممکن است. |
| جوهر هندی یا نیگروزین | تهیه گسترش مرطوب در مورد نمونه‌های مایع مغزی ـ نخاعی و ترشحات شفاف | کپسول اختصاصی کریپتوکوکوس نئوفورمنس رامی‌توان دید. |
| گرم یا متیلن‌بلو | گسترش‌های بافتی تثبیت شده و ترشحات را به خوبی می‌توان بررسی کرد | سلول‌های مخمّری نظیر *کاندیدا آلبیکنس* و باکتری‌ها را می‌توان دید. کریپتوکوکوس‌نئوفورمنس‌به‌سختی‌رنگ‌می‌گیرد |
| آنتی بادی فلئورسانس | مقاطع بافتی منجمد و گسترش‌های تثبیت شده را می‌توان بررسی کرد | در برخی از آزمایشگاه‌های تخصصی و در مورد برخی‌از قارچ‌ها نظیر بلاستومایسس درماتیتیدیس وجود دارد. |
| پریودیک‌اسید شیف با رنگ زمینهٔ هماتوکسیلین | مقاطع بافتی منجمدو تهیه شده‌در پارافین (نمونه‌های بیوپسی و بافت) | با این روش اکثر عناصر قارچی را در داخل بافت می‌توان دید. قارچ‌ها در این‌روش به رنگ صورتی درمی‌آیند. بررسی‌واکنش‌بافتی‌ناشی‌از تهاجم‌وحمله قارچ‌ها را نیز می‌توان بررسی کرد. |
| گوموری متنامین سیلور | مقاطع بافتی منجمد و تهیه شده در پارافین(نمونه‌های‌بیوپسی و بافت) | با این روش اکثرعناصرقارچی راکه به رنگ قهوه‌ای تیره در می‌آیند می‌توان مشاهده کرد. |
| رایت وگیمسا | گسترش‌های تثبیت شدهٔ مغزاستخوان و گسترش‌های فشاری تهیه شده از بیوپسی‌ها | مشاهدهٔ فرم مخمّری هیستوپلاسما کپسولاتوم |



**جدول ۴-۶- جنبه‌های مورفولوژیک قارچ‌های بیماری‌زا در حیوانات، در نمونه‌های بالینی بررسی شده به روش میکروسکوپی مستقیم[۲۳].**

| قارچ | روش بررسی نمونه | مشخصات‌مورفولوژیک‌اختصاصی |
|---|---|---|
| *آسپرژیلوس فومیگاتوس* | هیدروکسید پتاسیم[1] پریودیک اسید شیف[3] گوموری متنامین سیلور[4] کالکوفلوئور سفید[5] | ریسه‌های دارای دیوارهٔ عرضی و انشعابات‌دوشاخهٔ‌انتهایی‌بازاویهٔ۴۵ درجه[2] و قطر ۳ تا ۶ و به ندرت ۱۲میکرون دیده می‌شوند.واکنش بافتی از نوع گرانولوماتوز ونکروزدهنده است و سرهای کونیدیال قارچی را در فضاهای خالی بدن نظیر حبابچه‌های هوایی می‌توان دید. |
| *زایگومیست‌ها(رایزوپوس، موکور، رایزوموکور، آبسیدیا و مورتیرلا)* | هیدروکسید پتاسیم پریودیک اسید شیف گوموری متنامین سیلور کالکوفلوئورسفید | ریسه‌های پهن‌بدون‌دیوارهٔ‌عرضی با قطرمتوسط ۱۰تا۲۰میکرون (متغیر از ۳ تا ۲۵ میکرون)و انشعابات نامنظم هستند،گاه‌قطعات‌میسلیومی‌رانیزمی‌توان‌دید. |
| *کاندیدا آلبیکنس* | گرم هیدروکسید پتاسیم پریودیک اسیدشیف گوموری متنامین سیلور | سلول‌های جوانه‌دار بیضی یا گرد باقطر ۳ تا ۴ میکرون به همراه ریسه کاذب (در مقاطع بافتی)رامی‌توان دید.این ریسه‌ها رابابد از ریسه‌های حقیقی متعلق به قارچ‌های رشته‌ای جداکرد. |
| *مالاسزیا پاکی درماتیس (پیتروسپوروم کانیس)* | گرم متیلن بلو هیدروکسیدپتاسیم کالکوفلوئور سفید | سلول‌های‌مخمّری‌کوچک‌بطری‌شکل‌به‌ابعاد۱ تا۲در ۲تا۴میکرون‌که‌دارای‌جوانه‌های‌تک قطبی هستند و از طریق شکاف خوردن تقسیم می‌شوند، دیده می‌شوند. |
| *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* | جوهر هندی هیدروکسید پتاسیم پریودیک اسید شیف موسی کارمن مایر | سلول‌های مخمّری جوانه‌دارکروی با قطر ۲ تا۱۵میکرون‌که‌معمولاًدارای‌یک کپسول بزرگ‌پوششی‌ودربرگیرنده‌هستند، مشاهده می‌شوند. این سلول گاه چندین جوانه تولید می‌کند.در موارد نادر، ریسه کاذب نیز دیده می‌شود. |
| *بلاستومایسس درماتیتیدیس* | هیدروکسید پتاسیم کالکوفلوئور سفید فلئورسانس آنتی بادی پریودیک اسید شیف گوموری متنامین سیلور | سلول‌های مخمّری بزرگ با قطر ۸تا۱۵ میکرون (بین ۲ تا ۳۰ میکرون) و دیوارهٔ بسیار ضخیم دیده می‌شوند. جوانه معمولاً به‌وسیلهٔ‌یک‌اتصال‌پهن‌اختصاصی به سلول مادر متصل است و محتویات سیتوپلاسمی‌رابه وضوح می‌توان دید برخی از سلول‌ها ممکن است چندین هسته داشته باشند. |

1- KOH
2- Dichotomous hyphae
3- PAS
4- GMS
5- CFW

**ادامهٔ جدول ۴-۶-**

| | | |
|---|---|---|
| هیستوپلاسما کپسولاتوم | رایت<br>گیمسا<br>پریودیک اسید شیف<br>گوموری متنامین سیلور | سلول‌های مخمّری کوچک کروی تابیضی شکل، با قطر ۲ تا ۵ میکرون در داخل مونوسیت‌ها را می‌توان دید. یک‌هالهٔ شفاف گاه در اطراف سلول‌های مخمّری دیده می‌شود. جوانه کوچک و جداست و اتصال باریکی به سلول مادر دارد. دیدن قارچ در مقاطع رنگ‌آمیزی نشده دشوار است. |
| کوکسیدیوئیدس ایمیتیس | پتاس + کالکوفلوئورسفید<br>پریودیک اسید شیف<br>گوموری متنامین سیلور | اسفرول‌های بزرگ در داخل بافت دیده می‌شوند. این اسفرول‌ها در زمان بلوغ قطری حدود ۲۰۰ میکرون دارند و دارای اندوسپورهای بدون جوانه با قطر ۲ تا ۵ میکرون‌هستند. اسفرول‌های‌نابالغ‌اندازه‌ای متغیری دارندوبدون اندوسپورهستند. |
| اسپوروتریکس شنکئی | گرم و هیدروکسیدپتاسیم در مورد ترشحات<br>پریودیک اسید شیف و گوموری متنامین سیلور در مورد نمونه‌های بیوپسی | سلول‌های مخمّری سیگاری شکل کوچک با قطر ۲ تا ۶ میکرون که گاه چندین جوانه دارند، دیده می‌شوند. تعداد این سلول‌ها در نمونه‌های بالینی معمولاً اندک ودیدن‌آنهادشواراست. |
| درماتوفیت‌ها (گونه‌های میکروسپوروم وتریکوفیتون) | هیدروکسیدپتاسیم + کالکوفلوئور سفید<br>هیدروکسیدپتاسیم + دی‌متیل سولفوکساید<br>هیدروکسید پتاسیم + جوهرپارکر | ریسه‌های دارای دیوارهٔ عرضی و قطر ۲ تا ۳ میکرون که معمولاً درجهت تولید آرتروکونیدیوم تکه تکه می‌شوند. این آرتروکونیدیوم‌ها را نباید با ذرات چربی یا گرانول‌های رنگدانهٔ ملانین (ملانوزوم‌ها) اشتباه کرد |
| عوامل قارچی بلاستوما | هیدروکسید پتاسیم<br>کالکوفلوئور سفید<br>پریودیک اسید شیف<br>گوموری متنامین سیلور | گرانول‌های نامنظم با قطر ۰/۵ تا ۳ میلی‌متردررنگ‌های مختلف، در نمونه‌های بیوپسی و تراشه‌های جلدی‌دیده می‌شوند. درداخل گرانول‌های له شده؛ریسه‌های درهم‌پیچیده‌باقطر۲تا۵میکرون که‌سلول‌های متورم (۱۵میکرون یابیشتر) آنها را پوشش داده‌ودربرگرفته‌اند،مشاهده می‌شوند. |



**ادامهٔ جدول ۴-۶**

| | | |
|---|---|---|
| عوامل قارچی کروموبلاستومایکوزیس | هیدروکسید پتاسیم<br>کالکوفلوئور سفید<br>پریودیک اسید شیف<br>گوموری متنامین سیلور | سلول‌های کروی جدا یا تجمعی تقسیم شونده قهوه‌ای رنگ باقطر ۴ تا ۱۲ میکرون راکه اصطلاحاً سلول‌های اسکلروتیک[1] نامیده می‌شوند، می‌توان دید. گاه، ریسه‌های با قطر ۲ تا ۶ میکرون در تراشه‌های جلدی یا نمونه‌های آسپره شده دیده می‌شوند. |
| رینوسپوریدیوم سیبری | هیدروکسید پتاسیم<br>کالکوفلوئور سفید<br>پریودیک اسید شیف | اسپورانژیوم‌های بزرگ با قطر حدود ۲۰۰ تا ۳۰۰ میکرون درگسترش‌های مرطوب تهیه شده از پولیپ‌ها یا ترشحات بینی و مقاطع بافتی به‌دست آمده از نمونه‌های بیوپسی را می‌توان دید. این اسپورانژیوم‌ها اندوسپور دارند و باید ازاسفرول‌های‌کوکسیدیوئیدس‌جداشوند. |
| کرایزوسپوریوم (امونسیا) پاروم (واریته‌های پاروم و کرسنس) | پریودیک اسید شیف و هماتوکسیلین اثوزین برای مقاطع بافتی | آدیاسپورهای کروی دارای دیوارهٔ ضخیم با قطرتقریبی ۴۰۰ میکرون در مرکزضایعات گرانولوماتوز را می‌توان دید.آدیاسپورها دارای هسته‌های متعدد کوچک در اطراف سیتوپلاسم‌اند و به هیچ وجه دربافت‌های میزبان‌تکثیرنمی‌شوندوبایداز اسفرول‌های کوکسیدیوئیدس جدا شوند. |

1- Sclerotic body

**روش جوهر هندی**

جوهر هندی برای بررسی موجود بودن یا نبودن کپسول پلی‌ساکاریدی خارج سلولی قارچ‌ها مفید است. این روش به‌طور اختصاصی در شناسایی مخمّر کریپتوکوکوس *نئوفورمنس*[1] در نمونه‌های مایع مغزی ـ نخاعی به کار می‌رود. از آنجا که جوهر هندی به‌عنوان یک رنگ منفی[2] عمل می‌کند، سلول‌های مخمّری کپسول‌دار را در مقابل یک زمینهٔ تاریک به سادگی می‌توان شناسایی کرد. رنگ باید از ذرات آرتیفکت یا ذرات کربن عاری باشد. به جای جوهر هندی می‌توان از نیگروزین[3] نیز بهره برد. برای رنگ‌آمیزی، ابتدا نمونهٔ مایع مغزی ـ نخاعی به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و یک قطره از رسوب به‌دست آمده روی یک لام میکروسکوپی قرار داده می‌شود. سپس، یک قطره جوهر هندی یا نیگروزین با یک لوپ روی نمونه قرار می‌گیرد و به خوبی مخلوط می‌شود. در پایان، لاملی را روی مجموعهٔ رنگ ـ نمونه قرار داده و از نظر وجود سلول‌های مخمّری کپسول‌دار در زیر میکروسکوپ بررسی می‌کنند. در صورتی که حجم نمونهٔ مایع مغزی ـ نخاعی کم باشد، قطره‌ای از نمونه به‌طور مستقیم با رنگ مخلوط می‌گردد. وجود سلول‌های مخمّری کپسول دار در نمونهٔ مایع مغزی ـ نخاعی تقریباً همیشه[4] به معنی وجود مننژیت کریپتوکوکوسی است. جدا کردن سلول‌های مخمّری کپسول‌دار از آرتیفکت به تجربه زیاد نیاز دارد. در همین مورد، به علت مشکلات ناشی از وجود آرتیفکت در نمونه، در تشخیص قطعی کریپتوکوکوس *نئوفورمنس* به کشت نمونهٔ مایع مغزی ـ نخاعی روی محیط‌های مناسب نیاز است. برخی از گونه‌های رودوتروولا[5] در رنگ‌آمیزی جوهر هندی شبیه کریپتوکوکوس *نئوفورمنس* هستند. با این‌حال، موارد مننژیت ناشی از رودوتروولا بسیار کم است.

**روش پریودیک اسید شیف**

روش رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف[6] یکی از کاربردی‌ترین روش‌های رنگ‌آمیزی هیستوپاتولوژی قارچ‌ها است. از این روش در بررسی میکروسکوپی مستقیم نمونه‌های بالینی، بویژه در مواردی که روش شفاف‌سازی با پتاس جواب خوبی نداده باشد، استفاده می‌شود. رنگ‌آمیزی نمونه‌های تازه به روش پریودیک اسید با روشی که برای نمونه‌های بافت به‌کار

*1- Cryptococcus neoformans* 2- Negative stain 3- Nigrosin
4-Almost always *5- Rhodotorula* spp. 6- Periodic acid schiff; PAS



می‌رود اندکی تفاوت دارد. برای آزمون، ابتدا گسترش نازکی از نمونه (چرک، خلط و غیره) روی یک لام تمیز تهیه شده و در مجاورت هوا خشک می‌شود.

لام به مدت ۱ دقیقه در داخل محلول اتیل الکل خالص قرار می‌گیرد و پس از خروج از الکل بلافاصله به مدت ۵ دقیقه به محلول پریودیک اسید ۵ درصد منتقل می‌شود. پس از این مرحله، لام با آب جاری به مدت ۲ دقیقه شستشو می‌شود و برای ۲ دقیقه در داخل محلول فوشین قلیایی قرار می‌گیرد. لام، مجدداً به مدت ۲ دقیقه با آب جاری شستشو و ۳ تا ۵ دقیقه در محلول متابی‌سولفیت سدیم[1] قرار داده می‌شود. پس از شستشوی لام با آب جاری به مدت ۵ دقیقه، نمونه، با قراردادن لام در محلول‌های ۸۵، ۹۵ و ۱۰۰ درصد اتانل، هریک به مدت ۲ دقیقه، آبگیری می‌شود. در پایان لام به مدت ۴ دقیقه (دو مرحلهٔ ۲ دقیقه‌ای) در زایلن قرارداده و پس از تهیهٔ مونته از لام، با لامل و چسب انتلان، در زیر میکروسکوپ بررسی می‌شود. تهیهٔ لام به روش پریودیک اسید، برحسب اینکه از رنگ زمینه استفاده شود یا نشود، به ۲۰ الی ۲۵ دقیقه زمان نیاز دارد. از رنگ لایت گرین[2] بیشتر از سایر رنگ‌ها ترجیحاً به‌عنوان رنگ زمینه استفاده می‌شود. با کاربرد این رنگ، قارچ به رنگ قرمز مایل به ارغوانی[3] دیده می‌شود. در رنگ‌آمیزی لام با رنگ زمینه، باید، لام را پیش از وارد کردن آن به مرحله آبگیری، به مدت ۵ ثانیه در رنگ زمینه قرارداد و ۵ تا ۱۰ ثانیه آن را با آب جاری شست. رنگ پریودیک اسید با پلی‌ساکاریدهای اختصاصی دیوارهٔ سلولی قارچ‌ها واکنش می‌دهد. برای به‌دست آوردن نتایج مطلوب، محلول‌های پریودیک اسید و سدیم متابی‌سولفیت باید به صورت تازه تهیه و در مکان تاریک نگهداری شوند.

**روش گیمسا**

در قارچ‌شناسی از رنگ‌آمیزی گیمسا، عموماً برای بررسی فرم داخل سلولی قارچ هیستوپلاسما *کپسولاتوم* استفاده می‌شود. در این روش، سلول‌های مخمّری داخل سلولی این قارچ به رنگ آبی روشن یا تیره در می‌آیند و یک هاله‌ای شفاف دارند. این هاله کپسول نیست و ماهیت آرتیفکت دارد. برای تهیهٔ لام مستقیم به روش گیمسا، گسترشی از نمونه روی یک لام میکروسکوپی تهیه و به مدت ۱ دقیقه در متانول ۱۰۰ درصد تثبیت می‌شود. سپس لام، در

1- Sodium metabisulfite 2- Light green 3- Purplish red

مجاورت هوا خشک و ۱۰ تا ۱۵ قطره رنگ گیمسا به آن اضافه می‌شود. پس از گذشت ۱ دقیقه، لام با ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به مدت ۵ دقیقه پوشانیده می‌شود. در پایان، لام با آب مقطر شسته و پس از خشک شدن در مجاورت هوا در زیر میکروسکوپ بررسی می‌شود.

**روش رنگ‌آمیزی اسیدفست برای** *نوکاردیا*

برای شناسایی گونه‌های *نوکاردیا* و جدا کردن آنها از سایر اکتینومیست‌های هوازی رنگ‌آمیزی اسیدفست[1] یا روش تغییر یافتهٔ کاینیون[2] روشی مناسب است. گونه‌های نوکاردیا، اسیدفست نسبی هستند. برخی از رشته‌های *نوکاردیا* در رنگ‌آمیزی کربول ـ فوشین به رنگ قرمز در می‌آیند، در حالی که برخی دیگر، به دلیل تأثیر رنگ زمینه، به رنگ آبی دیده می‌شوند. برای آزمون، ابتدا گسترش نازکی از نمونه روی یک لام میکروسکوپی تهیه و در مجاورت هوای خشک قرار می‌گیرد. سطح گسترش توسط کربول ـ فوشین پوشانیده و به مدت ۵ دقیقه در این وضعیت حرارت داده می‌شود. لام با آب مقطر شستشو و برای حذف رنگ اضافی در محلول اتانل ۵۰ درصد قرار داده می‌شود. لام، دوباره با آب مقطر شستشو و به مدت ۳ دقیقه در محلول آبی اسید سولفوریک ۰/۵ درصد قرار داده می‌شود. لام، بار دیگر با آب مقطر شستشو و برای رنگ‌آمیزی زمینه به مدت یک دقیقه در محلول متیلن بلو[3] یک درصد قرار داده می‌شود. در پایان، لام با آب مقطر شستشو می‌شود و پس از خشک شدن، با استفاده از عدسی روغنی میکروسکوپ به‌منظور دیدن رشته‌های با قطر کمتر از ۱ میکرون، که در انتها خرد شده و به اشکال کوکسی و باسیلی تبدیل شده‌اند، بررسی می‌شود. از نمونه‌های حاوی *نوکاردیا آستروئیدس*[4] و *استرپتومایسس*[5] به ترتیب به‌عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده می‌شود.

1- Acid-fast stain procedure
2- Modified kinyoun method
3- Methylene blue
4- *Nocardia asteroides*
5- Streptomyces



## آزمون فصل چهارم

**۱ـ افزودن کدام‌یک از ترکیبات زیر به پتاس تاثیر تخریبی آن را بر قارچ در طی تهیهٔ لام مستقیم به تاخیر خواهد انداخت؟**

الف) دی متیل سولفوکساید　　ب) کالکوفلوئور سفید
ج) گلیسرول　　د) فلوکسین

**۲ـ کدام‌یک از نمونه‌های بالینی زیر تا ۶ ماه نیز در دمای آزمایشگاه پیش از بررسی قابل نگهداری است؟**

الف) خلط　　ب) خون　　ج) تراشه‌های جلدی　　د) مایع مغزی ـ نخاعی

**۳ـ روش رنگ‌آمیزی گیمسا برای دیدن کدام یک از قارچ‌های زیر توصیه می‌شود؟**

الف) *آتروبوتریس الیگوسپورا*　　ب) *هیستوپلاسما کپسولاتوم*
ج) *کریپتوکوکوس نئوفورمنس*　　د) *رینوسپوریدیوم سیری*

**۴ـ در مورد کدام یک از قارچ‌های زیر نگهداری نمونهٔ بالینی کشت داده شده تا ۱۲ هفته ضروری است؟**

الف) *لوبوآ لوبوئی*　　ب) *کلادوسپوریوم کاریونی*
ج) *آسپرژیلوس فومیگاتوس*　　د) *هیستوپلاسما کپسولاتوم*

**۵ـ کدام یک از نمونه‌های بالینی زیر جهت بررسی نیاز به آماده سازی اولیه به روش سانتریفوژ ندارد؟**

الف) شیر　　ب) ادرار　　ج) بافت　　د) مایع مغزی ـ نخاعی

**۶ـ کدام‌یک از قارچ‌های زیر به طور معمول از تراشه‌های و ترشحات کانال شنوایی در حیوانات مبتلا به اتومایکوزیس جداسازی می‌شود؟**

الف) *ترایکوسپورون*　　ب) *آسپرژیلوس*　　ج) *فوزاریوم*　　د) *فیالوفورا*

**۷- کدام یک از محیط‌های کشت‌های زیر جهت جداسازی زایگومیست‌ها از نمونه‌های بالینی انتخابی است؟**

الف) محیط نان
ب) محیط کافئیک آگار
ج) محیط آزمون درماتوفیت
د) محیط سابورودکستروز آگار

**۸- کدام یک از روش‌های بررسی مستقیم جهت مشاهدهٔ تعداد اندک قارچ در نمونه‌های بالینی مناسب است؟**

الف) پتاس - DMSO
ب) پریودیک اسید شیف
ج) سفید کالکوفلوئور
د) گیمسا

# فصل پنجم

# محیط‌های کشت معمول جداسازی و شناسایی قارچ‌ها

**هدف‌های رفتاری**

**پس از خواندن این فصل فراگیرنده باید:**

۱. روش‌های تهیه محیط‌های کشت آزمایشگاهی را بیان کند؛
۲. موارد کاربرد محیط‌های کشت آزمایشگاهی را شرح دهد؛
۳. محیط‌های کشت انتخابی برای جداسازی و شناسایی انواع قارچ‌ها را توضیح دهد.

قارچ‌ها ارگانیسم‌های یوکاریوت هتروتروفی هستند که به مواد آلی از پیش ساخته به‌عنوان منبع کربن نیاز دارند. این گروه از میکروارگانیسم‌ها نیازهای غذایی ناچیزی دارند و غالباً به راحتی روی محیط‌های معمول آزمایشگاهی شامل سابورو دکستروز اگار، آرد ذرّت اگار، عصارهٔ مالت اگار، سیب‌زمینی دکستروز اگار و غیره رشد می‌کنند. با این‌حال، گاهی، استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی برای رسیدن به هدف‌های ویژه اجتناب ناپذیر است. برای مثال، محیط‌های ترایکوفیتون اگار شمارهٔ ۱ تا ۷ برحسب مورد برای برخی از درماتوفیت‌ها اختصاصی هستند و محیط آرد ذرّت اگار با توئین ۸۰ برای تحریک تولید کلامیدوسپور در *کاندیدا آلبیکنس* بسیار مناسب است. در نهایت، برخی از قارچ‌ها مانند قارچ‌های دوشکلی بویژه در فرم مخمّری خود نیازهای غذایی ویژه‌ای دارند. القای مرحلهٔ رشد مخمّری این قارچ‌ها در شرایط آزمایشگاهی با محیط‌های کشت اختصاصی انجام می‌شود. در این فصل، انواع محیط‌های کشت معمولی و اختصاصی مربوط به قارچ شناسی به تفضیل از نظر ترکیب، روش تهیه و موارد کاربرد بررسی خواهند شد.

**محیط آلفاسل اگار**

محیط کشت آلفاسل اگار[1] برای تحریک تولید آسکوکارپ در اعضای خانوادهٔ ژیمنوآسکاسه[2] مانند انواع درماتوفیت‌ها ایده‌آل است. این محیط آماده را می‌توان از شرکت بیوشیمی تغذیه[3] در اوهایو در ایالات متحدهٔ امریکا خریداری کرد.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| آلفاسل | ۲۰ گرم |
| سولفات منیزیم | ۱ گرم |
| فسفات پتاسیم | ۱ گرم |
| نیترات سدیم | ۱ گرم |
| عصارهٔ گوجه‌فرنگی[4] | ۱۰ گرم |
| عصارهٔ جو دوسر[5] | ۱۰ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

1- Alphacel agar
2- Gymnoascaceae
3- Nutritional biochemical Co.
4- Tomato paste
5- Oat meal



**روش تهیه**

اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان شفاف شدن، حرارت می‌دهند. سپس pH محیط را با هیدروکسید سدیم در سطح ۵/۶ تنظیم و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. این محیط را به مدت ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد می‌توان نگهداری کرد.

**محیط تفریقی آسپرژیلوس**

از محیط کشت تفریقی *آسپرژیلوس*[1] برای شناسایی اختصاصی قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* استفاده می‌شود. رنگ پشت پرگنه این دو گونه و گاه گونه‌های *آسپرژیلوسی تومی*، *آسپرژیلوس سولفورئوس*، و *آسپرژیلوس اخراسئوس* روی محیط مذکور، زرد ـ نارنجی شفاف[2] است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| تریپتون | ۱۵ گرم |
| عصارهٔ مخمّر | ۱۰ گرم |
| فرّیک آمونیوم سیترات | ۰/۵ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

اجزای محیط کشت را باهم مخلوط می‌کنند، و حجم مخلوط را با آب مقطر به ۱ لیتر می‌رسانند. محیط کشت تا زمان شفاف شدن جوشانیده و در مقادیر ۷ میلی‌لیتری به لوله‌های آزمایش با ابعاد ۱۶ در ۱۸۰ میلی‌متر منتقل می‌شود. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل و در نهایت به صورت شیب‌دار تهیه می‌شوند.

**محیط اگار عصارهٔ مغز و قلب**

محیط اگار عصارهٔ مغز و قلب[3] برای رشد فرم مخمّری قارچ‌های دوشکلی مناسب است. این

1- *Aspergillus* differential medium
2- Bright yellow-orange
3- Brain heart infusion agar(BHIA)

محیط را با خون گوسفند (۵ درصد) می‌توان غنی کرد.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| مغز گوساله (فرم اینفیوژن) | ۲۰۰ گرم |
| قلب گوساله (فرم اینفیوژن) | ۲۵۰ گرم |
| پپتون | ۱۰ گرم |
| گلوکز | ۲ گرم |
| کلریدسدیم | ۵ گرم |
| فسفات دی سدیک | ۲/۵ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

کلیه اجزای محیط کشت در یک ارلن ۲ لیتری مخلوط و تا زمان شفاف شدن، کاملاً جوشانیده می‌شوند. محیط کشت در لوله‌های آزمایش ۱۶ در ۱۸۰ یا ۲۵ در ۱۸۰ میلی‌متری پخش و پس از استریل شدن با اتوکلاو (۱۵ دقیقه دردمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد) به صورت شیب‌دار تهیه می‌شود. pH محیط باید در سطح ۰/۲ ± ۷/۴ تنظیم شود. این محیط را در داخل لوله به مدت ۳۰ روز و در داخل پلیت به مدت ۱۴روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد می‌توان نگهداری کرد.

**محیط کافئیک اسید اگار**

از محیط کشت کافئیک اسید اگار[1] برای تفکیک *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* از سایر گونه‌های *کریپتوکوکوس* و انواع مخمّرها استفاده می‌شود. *کریپتوکوکوس نئوفورمنس*، به علت تولید آنزیم فنل اکسیدان، پرگنه‌های قهوه‌ای مایل به سیاه‌رنگ روی این محیط تولید می‌کند. در هر آزمایش، از یک جدایهٔ *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* و یک جدایهٔ *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب به عنوان کنترل‌های مثبت و منفی استفاده می‌شود.

1- Caffeic acid agar



**ترکیب**

| | |
|---|---|
| گلوکز | ۵ گرم |
| سولفات آمونیوم | ۵ گرم |
| عصارهٔ مخمّر | ۲ گرم |
| فسفات پتاسیم | ۰/۸ گرم |
| سولفات منیزیم | ۰/۷ گرم |
| کافئیک اسید | ۰/۱۸ گرم |
| محلول فرّیک سیترات* | ۴ میلی‌لیتر |
| اگار نوبل | ۲۰ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

* این محلول از ترکیب ۱۰ میلی‌گرم فرّیک سیترات و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به دست می‌آید.

**روش تهیه**

ابتدا اگار را به آب مقطر می‌افزایند و تا زمان شفاف شدن حرارت می‌دهند. سپس سایر اجزای محیط کشت را اضافه می‌کنند و تا زمان حل شدن کامل، هم می‌زنند. محیط کشت به مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو و در پلیت‌های ۱۵ در ۱۰۰ میلی‌متری تقسیم می‌شود. این محیط را به صورت شیب‌دار در لوله نیز می‌توان تهیه کرد. محیط کافئیک اسید اگار را به مدت ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد در تاریکی می‌توان نگهداری کرد. محیط کشت چنانچه در مدت زمان نگهداری، تیره رنگ شود، بی‌فایده و بی‌حاصل است و باید حذف شود. pH نهایی محیط باید در سطح ۰/۲ ± ۵/۵ تنظیم شود.

**محیط پایهٔ جذب کربن برای مخمّرها**

از محیط کشت پایهٔ جذب کربن[1] برای تفکیک و متمایز کردن گونه‌ها و جنس‌های مخمّری، براساس توانایی جذب انواع گوناگون منابع کربن استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| یست نیتروژن بیس | ۰/۶۷ گرم |
| اگار نوبل | ۲۰ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

1- Carbon basal assimilation medium

**روش تهیه**

کلیه اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان شفاف شدن، حرارت می‌دهند. سپس محیط را در مقادیر ۲۵ تا ۳۰ میلی‌لیتری در لوله‌های درپیچ‌دار استریل به ابعاد ۲۵ در ۲۰۰ میلی‌متر پخش می‌کنند. محیط، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌شود. لوله‌ها را پیش از استفاده، برای ذوب شدن محیط کشت دربن ماری جوش قرار می‌دهند و منابع کربن، برحسب نیاز به محیط کشت با دمای ۴۸ تا ۵۲ درجهٔ سانتی‌گراد اضافه می‌شود. محیط کشت پایهٔ جذب کربن را می‌توان به مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. pH محیط کشت باید در سطح ۰/۲ ± ۵/۴ تنظیم شود.

**محیط مایع تخمیر ویکرهام**

از محیط مایع تخمیر ویکرهام [1] برای تفکیک و متمایز کردن گونه‌ها و جنس‌های مخمّری براساس توانایی آنها در تخمیر انواع قند استفاده می‌شود.

**ترکیب**

**- منابع کربن مورد نیاز برای آزمون WBF**

| | |
|---|---|
| منبع کربن (گلوکز،گالاکتوز،...)* | ۶ میلی‌گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**- محیط پایهٔ آزمون WBF**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ مخمّر | ۴/۵ گرم |
| پپتون | ۷/۵ گرم |
| برم تیمول بلو | ۰/۰۴ گرم |

* در مورد رافینوز به ۱۲ گرم قند نیاز است.

**روش تهیه**

برای تهیه منبع کربن، میزان لازم قند مورد نظر را در آب مقطر حل و به روش فیلتراسیون (عبور محلول از فیلترهای ۰/۲۲ میکرون) استریل می‌کنند. این منبع کربن را می‌توان به مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. برای تهیه محیط پایهٔ WBF، تمام اجزای مربوط به آن را در آب مقطر حل و به مقدار ۲ میلی‌لیتر در هر یک از لوله‌های آزمایش درپیچ‌دار

1- Wickerham broth fermentation (WBF)



به ابعاد ۱۶ در ۱۰۰ میلی‌متر پخش می‌کنند. یک لولهٔ دورهام [1] را به صورت وارونه روی هر یک از لوله‌های آزمایش قرار می‌دهند و مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. پس از سرد شدن محیط پایه، ۱ میلی‌لیتر از محلول ۶ درصد (۱۲ درصد برای رافینوز) منبع کربن استریل را به هریک از لوله‌ها اضافه می‌کنند. ایجاد شدن گاز در دورهٔ انکوباسیون نشان‌دهندهٔ تخمیر قند مورد نظر است و نیازی به تنظیم pH محیط WBF نیست.

**محیط مایع جذب ویکرهام**

از محیط مایع جذب ویکرهام [2] برای تفکیک و متمایز کردن گونه‌ها و جنس‌های مخمّری براساس توانایی جذب انواع قند در محیط مایع استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| یست نیتروژن بیس | ۶/۷ گرم |
| منبع کربن (گلوکز، گالاکتوز، ....)* | ۵ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

* در مورد رافینوز به ۱۰ گرم قند نیاز است.

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را با هم مخلوط و به روش فیلتراسیون استریل می‌کنند. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محیط را به ۴/۵ میلی‌لیتر آب مقطر در لوله‌های آزمایش با ابعاد ۱۶ در ۱۸۰ میلی‌متر می‌افزایند. محیط مایع جذب ویکرهام را می‌توان مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد.ایجاد شدن رنگ تیره در آزمایش با جذب قند مورد نظر ارتباط مستقیم دارد.

**محیط تبدیلی تغییر یافته (فرمول تغییر یافتهٔ لواین)**

از این محیط برای بررسی تبدیل فاز رشته‌ای به مخمّری در قارچ *کوکسیدیوئیدس ایمیتیس* استفاده می‌شود. این قارچ، در پی انکوباسیون در محیط تبدیلی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد می‌تواند اسفرول و اندوسپور تولید کند.

1- Durham tube

2- Wickerham liquid assimilation

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| استات آمونیوم | ۱/۲۳ گرم |
| گلوکز | ۴ گرم |
| دی پتاسیم فسفات | ۰/۵۲ گرم |
| منوپتاسیم فسفات | ۰/۴ گرم |
| سولفات منیزیم | ۰/۴ گرم |
| سولفات روی | ۰/۰۰۲ گرم |
| کلرید سدیم | ۰/۰۱۴ گرم |
| کربنات سدیم | ۰/۰۱۲ گرم |
| تامول | ۰/۵ گرم |
| کلرید کلسیم | ۰/۰۰۲ گرم |
| اگار (اگارز یا اگار خالص) | ۱۰ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان شفاف شدن کامل، حرارت می‌دهند. محیط با اتوکلاو کردن در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل و در ادامه، در مقدار ۱۵ میلی‌لیتر در داخل هر یک از پلیت‌های استریل پخش می‌شود. این محیط را می‌توان مدت ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط آرد ذرّت اگار**

محیط کشت آرد ذرّت اگار[1] رشد رویشی قارچ را مهار، اما تولید اسپور توسط بسیاری از قارچ‌ها را تحریک می‌کند و به همین دلیل برای تهیهٔ کشت روی لام[2] مناسب است. این محیط، در صورت استفاده برای بررسی تولید کلامیدوسپور، پیش از استریل شدن باید با ۱۰ میلی‌لیتر توئین ۸۰ غنی شود. همچنین، استفاده از این محیط برای بررسی تولید رنگدانهٔ قرمز رنگ (*ترایکوفیتون روبروم* برخلاف *ترایکوفیتون منتاگروفایتس* می‌تواند رنگدانه تولید کند)، به افزودن ۲ درصد دکستروز به محیط، پیش از مرحلهٔ استریلیزاسیون نیاز دارد.

1- Corn meal agar 2- Slide culture



**ترکیب**

| | |
|---|---|
| آرد ذرّت | ۵۰ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

ابتدا آرد ذرّت را به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه می‌کنند و به مدت ۱ ساعت حرارت می‌دهند. به جای حرارت دادن، می‌توان از اتوکلاو کردن به مدت ۱۰ دقیقه استفاده کرد. سوسپانسیون محیط را با گاز استریل، صاف می‌کنند و پس از رساندن حجم آن به ۱ لیتر با آب مقطر، اگار را به آن می‌افزایند. در ادامه، محیط را تا زمان شفاف شدن کامل، حرارت می‌دهند و پس از تقسیم در لوله‌های آزمایش، اتوکلاو می‌کنند. محیط کشت را می‌توان پس از اتوکلاو کردن در پلیت‌های استریل پخش کرد. محیط آرد ذرّت اگار در داخل پلیت و لوله را می‌توان به ترتیب تا ۱۴ و ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط اگار پنبه دانه**

محیط پنبه‌دانه[1] برای بررسی تبدیل فاز میسلیومی به مخمّری در قارچ *بلاستومایسس درماتیتیدیس* انتخابی است. این قارچ در پی رشد روی محیط مذکور، پرگنه‌های مخمّری تشکیل شده از سلول‌های جوانه‌دار تولید می‌کند که در آنها، جوانه با اتصال پهن به سلول مادر متصل است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| فارمامدیا[2]* | ۲۰ گرم |
| گلوکز | ۲۰ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

* فارمدیا را می‌توان از شرکت امریکایی Traders Oil Mill تهیه کرد.

1- Cottonseed agar 2- Pharmamedia

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را با هم مخلوط می‌کنند و تا زمان شفاف شدن کامل، حرارت می‌دهند. pH محیط کشت با اسید کلریدریک ۱ نرمال و یا هیدروکسید سدیم ۱ نرمال در سطح ۶ تنظیم می‌شود. محیط را در لوله‌های آزمایش ۱۵ در ۱۲۵ میلی‌متری تقسیم و اتوکلاو می‌کنند. محیط کشت را پس از اتوکلاوکردن می‌توان در پلیت‌های استریل پخش کرد. محیط اگار پنبه‌دانه را می‌توان به مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد و پیش از استفاده نیز باید از نظر pH و استریل بودن کنترل شود.

**محیط چاپک ـ داکس اگار**

محیط کشت چاپک ـ داکس اگار[1] برای بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی گونه‌های *آسپرژیلوس* بسیار مناسب است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| نیترات سدیم | ۳ گرم |
| دی پتاسیم هیدروژن فسفات | ۱ گرم |
| سولفات منیزیم (دارای ۷ ملکول آب تبلور) | ۰/۵ گرم |
| کلرید پتاسیم | ۰/۵ گرم |
| سولفات آهن (دارای ۷ ملکول آب تبلور) | ۰/۰۱ گرم |
| سوکروز* | ۳۰ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

* به جای سوکروز می‌توان به مقدار مساوی آن از گلوکز استفاده کرد.

**روش تهیه**

تمام ترکیبات، به‌جز سوکروز، را به آب مقطر اضافه می‌کنند و تا زمان شفاف شدن حرارت می‌دهند. سپس سوکروز را به ترکیب می‌افزایند و محیط را، پس از اتوکلاو کردن، در داخل پلیت یا لولهٔ آزمایش استریل پخش می‌کنند. محیط چاپکس در لوله و پلیت را می‌توان به ترتیب به مدت ۳۰ و ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

1- Czapek-dox agar



**محیط آزمون درماتوفیت[1]**

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| فیتون[2] | ۱۰ گرم |
| گلوکز | ۱۰ گرم |
| اگار | ۲۰ گرم |
| محلول فنل رد* | ۴۰ میلی‌لیتر |
| اسید هیدروکلریک ۰/۸ نرمال | ۶ میلی‌لیتر |
| سیکلوهگزامید (در ۲ میلی‌لیتر استن) | ۰/۵ گرم |
| جنتامایسین (در ۲ میلی‌لیتر آب مقطر) | ۰/۱ گرم |
| کلرتتراسایکلین‌هیدروکلرید (در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل) | ۰/۱ گرم |
| آب مقطر | تا ۱ لیتر |

* برای تهیه محلول فنل رد، ۰/۵ گرم از پودر فنل رد را در ۱۵ میلی‌لیتر سود ۰/۱ نرمال حل می‌کنند و حجم آن‌را با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر می‌رسانند.

**روش تهیه**

ابتدا فیتون، گلوکز و آگار را به ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. در ادامه، محلول فنل‌رد را همراه با تکان دادن به محیط می‌افزایند و بلافاصله سیکلوهگزامید و جنتامایسین را نیز به محیط اضافه می‌کنند و حجم محیط را با آب مقطر به ۱ لیتر می‌رسانند. به‌دنبال آن، محیط کشت را اتوکلاو و کلرتتراسایکلین را پس از رسیدن دمای محیط به ۴۷ تا ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد به آن اضافه می‌کنند. این محیط را می‌توان در لوله و یا پلیت، تهیه کرد. pH نهایی محیط کشت در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد باید برابر ۰/۲ ± ۵/۵ باشد.

**محیط گورودکوا آسکوسپور اگار**

از محیط کشت گورودکوا آسکوسپور اگار[3] برای بررسی توانایی تولید آسک و آسکوسپور استفاده می‌شود. قارچ‌های *ساکارومایسس سرویسیه* و *کاندیدا آلبیکنس* به ترتیب به عنوان

1- Dermatophyte test medium (DTM)
2- Phytone
3- Gorodkowa ascospore agar

کنترل مثبت و منفی به همراه نمونهٔ آزمون بررسی خواهند شد.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| گلوکز | ۰/۶۳ گرم |
| کلرید سدیم | ۱/۳ گرم |
| عصارهٔ گوشت گاو[1] | ۲/۵ گرم |
| اگار | ۲/۵ گرم |
| آب مقطر | ۲۵۰ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

ابتدا اگار را به آب مقطر اضافه می‌کنند و تا زمان شفاف شدن، حرارت می‌دهند. سپس سایر اجزا را به ترتیب می‌افزایند و تا زمان حل شدن، کاملاً تکان می‌دهند. در پایان محیط کشت را در داخل لوله‌های آزمایش می‌ریزند و اتوکلاو می‌کنند. محیط کشت را می‌توان پس از اتوکلاو کردن در پلیت‌های استریل پخش کرد.

**محیط آزمون لولهٔ زایا**

از محیط آزمون لولهٔ زایا[2] برای شناسایی *کاندیدا آلبیکنس* استفاده می‌شود. البته، *کاندیدا دوبلینینسیس* نیز می‌تواند لولهٔ زایا تولید کند.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| سرم مخلوط انسانی (مخلوطی از نمونهٔ سرم افراد مختلف) | ۰/۳ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

سرم مخلوط انسانی را در مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر در هر یک از لوله‌های آزمایش با ابعاد ۱۲ در ۷۵ میلی‌متر پخش و پس از بستن دهانهٔ لوله‌ها، تا زمان استفاده (حداکثر به مدت ۱ سال) در دمای ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند. از سرم گاو[3] می‌توان به جای سرم مخلوط انسانی استفاده کرد. در این‌باره، از یک استرین *کاندیدا آلبیکنس* و یک استرین *کاندیدا ترویپکالیس* به ترتیب به‌عنوان کنترل مثبت و منفی به همراه نمونهٔ آزمون استفاده می‌شود.

1- Beef extract 2- Germ tube test medium 3- Bovine serum



**محیط آزمون مو**

از محیط آزمون مو[1] برای آزمون سوراخ کردن مو[2] استفاده می‌شود. برخی از درماتوفیت‌ها می‌توانند مو را در شرایط آزمایشگاهی سوراخ کنند. این محیط بیشتر برای تفکیک و متمایز کردن *ترایکوفیتون روبروم* از *ترایکوفیتون منتاگروفایتس* به کار می‌رود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ مخمّر | ۱۰ گرم |
| آب مقطر | ۹۰ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

پودر عصارهٔ مخمّر را در آب مقطر حل و به روش فیلتراسیون استریل می‌کنند. این محیط را می‌توان مدت ۳ ماه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. در این‌باره به نمونهٔ اتوکلاو شدهٔ موی کودکان زیر ۱۰ سال نیز برای آزمون نیاز است.

**محیط اگار عصارهٔ یونجه**

از محیط اگار عصارهٔ یونجه[3] برای تحریک اسپورزایی در قارچ‌ها استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| یونجهٔ خرد شده | ۵۰ گرم |
| دی پتاسیم فسفات | ۲ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

ابتدا، یونجه را به همراه آب جاری در یک ارلن می‌ریزند و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. سپس محتوی ارلن را از چند لایه گاز استریل عبور می‌دهند و سایر اجزا؛ یعنی، دی‌پتاسیم فسفات و اگار را به صاف شدهٔ کشت می‌افزایند. پس از سرد شدن محیط، pH آن‌را در سطح ۶/۲ تنظیم می‌کنند و تا زمان شفاف شدن، حرارت می‌دهند. محیط کشت را در هر یک از لوله‌های آزمایش ۱۶ در ۱۸۰ میلی‌متری پخش و اتوکلاو می‌کنند. این محیط را می‌توان پس از اتوکلاو کردن در پلیت‌های استریل نیز پخش کرد. محیط کشت

1- Hair test , in vitro 2- Hair digestion test 3- Hay infusion agar

مذکور در لوله و پلیت را می‌توان به ترتیب مدت ۳۰ و ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط تبدیل فاز میسلیومی به مخمری برای هیستوپلاسما**

از محیط تبدیل کردن فاز میسلیومی به مخمّری هیستوپلاسما[1] برای بررسی تبدیل فاز میسلیومی به مخمّری در قارچ هیستوپلاسما کپسولاتوم استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| محیط پایهٔ عصارهٔ مغز و قلب | ۵/۲ گرم |
| گلوتامین | ۱ میلی‌لیتر |
| خون گوسفند | ۵ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

محیط پایهٔ عصارهٔ مغز و قلب را براساس دستورالعمل شرکت سازنده تهیه و اتوکلاو می‌کنند. سپس، ۱ میلی‌لیتر از محلول ۲۰۰ میلی‌مولار گلوتامین استریل (تهیه شده در حجم یک میلی‌لیتر آب مقطر) را به همراه خون استریل گوسفند به محیط اضافه می‌کنند. محیط کشت را در هر یک از لوله‌های آزمایش ۱۶ در ۱۸۰ میلی‌متری استریل توزیع و به صورت شیب‌دار تهیه می‌کنند. این محیط را می‌توان به مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. محلول استوک گلوتامین باید تا زمان استفاده در فریزر نگهداری شود.

**محیط اگار کِلی**

از محیط اگار کِلی[2] برای بررسی تبدیل فاز میسلیومی به مخمّری در قارچ بلاستومایسس درماتیتیدیس استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| گلوکز | ۱۰ گرم |
| باکتوپپتون | ۱۰ گرم |
| کلرید سدیم | ۵ گرم |
| عصارهٔ گوشت گاو | ۳ گرم |

1- *Histoplasma* mould-to-yeast form conversion medium
2- Kelley's agar



| | |
|---|---|
| محلول هموگلوبین* | ۲۰ میلی‌لیتر |
| آگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۹۸۰ میلی‌لیتر |

* برای تهیه این محلول، ۵ میلی‌لیتر خون سیتراته گوسفند را به ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه می‌کنند.

**روش تهیه**

تمام اجزا به‌جز محلول هموگلوبین را در داخل یک ارلن می‌ریزند و تا زمان حل‌شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. سپس محلول هموگلوبین را اضافه می‌کنند و هم می‌زنند. محیط کشت پس از تهیه با اتوکلاو استریل و در داخل لوله‌ها یا پلیت‌های استریل پخش می‌شود. محیط اگار کِلی را می‌توان تا ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. pH محیط باید در سطح ۰/۲ ± ۶/۶ تنظیم شود.

**محیط کِلینز استات آسکوسپور اگار**

از محیط کشت کلینز استات آسکوسپور اگار[1] برای بررسی توانایی تولید آسکوسپور در مخمّرها و قارچ‌های رشته‌ای استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| باکتوتریپتوز[2] | ۲/۵ گرم |
| گلوکز | ۰/۶۲ گرم |
| کلرید سدیم | ۰/۶۲ گرم |
| استات سدیم تری هیدرات | ۵ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

ابتدا اگار را به آب مقطر اضافه می‌کنند و تا زمان شفاف شدن، حرارت می‌دهند. سپس بقیه اجزا را اضافه می‌کنند و به خوبی تا زمان حل شدن کامل، تکان می‌دهند. محیط کشت به مدت ۱۵

1- Kleyn's acetate ascospore agar
2- Bacto tryptose

دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو و در لوله‌ها و پلیت‌های استریل پخش می‌شود. محیط کلینز استات آسکوسپور اگار را می‌توان به مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط عصارهٔ مالت اگار**

محیط عصارهٔ مالت اگار[1] برای نگهداری کشت‌های ذخیره[2] قارچ‌ها، بویژه جنس‌های *آسپرژیلوس* و *پنی‌سیلیوم* و همچنین بیشتر مخمّرها بسیار ایده‌آل است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ مالت | ۲۰ گرم |
| پپتون | ۱ گرم |
| گلوکز | ۲۰ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را با یک‌دیگر مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط را اتوکلاو و در لوله‌ها یا پلیت‌های استریل پخش می‌کنند. این محیط را می‌توان در لوله و پلیت به ترتیب مدت ۳۰ و ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. در صورتی که از پپتون دیفکو برای تهیه محیط استفاده و میزان اگار نیز برابر ۲۰ گرم در نظر گرفته شود، محیط برای بررسی ویژگی‌های ظاهری و رشد *آسپرژیلوس* مناسب خواهد بود.

**محیط مارتین تغییریافته**

محیط کشت مارتین تغییریافته[3] با داشتن ترکیبی به نام رزبنگال برای به تأخیر انداختن رشد قارچ‌های با رشد سریع مناسب است. این قارچ‌ها به فراوانی در محیط پراکنده‌اند و سبب اختلال در جداسازی سایر قارچ‌ها می‌شوند.

1- Malt extract agar 2- Stock culture 3- Modified martin's medium



**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ مخمّر | ۰/۵ گرم |
| پتاسیم دی هیدروژن فسفات | ۱ گرم |
| سولفات منیزیم | ۰/۵ گرم |
| پپتون | ۵ گرم |
| گلوکز | ۱۰ گرم |
| رز بنگال | ۳۳ میلی‌گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط را اتوکلاو و به صورت شیب‌دار در لوله یا در پلیت تهیه می‌کنند که در این شرایط می‌توان آن را به ترتیب مدت ۳۰ و ۱۴ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد. محیط مارتین را باید از قرار گرفتن در معرض نور شدید محافظت کرد.

**محیط جذب نیترات**

از محیط جذب نیترات برای آزمون جذب نیترات استفاده می‌شود. این آزمون برای شناسایی مخمّرها مناسب است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| یست کربن بیس | ۱۱/۷ گرم |
| نیترات پتاسیم | ۰/۷۸ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را با هم مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، تکان می‌دهند. محیط را با فیلتراسیون (عبور از فیلترهای ۰/۲۲ میکرون) استریل و در مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در هر یک از لوله‌های آزمایش استریل با ابعاد ۱۶ در ۱۲۵ میلی‌متر حاوی ۴/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل پخش می‌کنند. این محیط را می‌توان مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ

سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط آگار مغذّی برای درماتوفیت‌ها**

از محیط کشت اگار مغذّی ویژهٔ درماتوفیت‌ها، برای شناسایی این گروه از قارچ‌ها استفاده می‌شود.

**ترکیب**

a. **محیط پایه**

| | |
|---|---|
| پتاسیم دی هیدروژن فسفات | ۱ گرم |
| سولفات منیزیم | ۰/۵ گرم |
| سولفات آمونیوم | ۵ گرم |
| اگار (نوبل یا خالص) | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

b. **فاکتورهای رشد**

| | |
|---|---|
| تیامین | ۱ میلی‌گرم |
| اینوزیتول | ۲۵۰ میلی‌گرم |
| نیکوتینیک اسید | ۱۰ میلی‌گرم |
| هیستیدین | ۱۵۰ میلی‌گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

c. **منبع کربن**

| | |
|---|---|
| منبع کربن (گلوکز، مانوز،....) | ۵ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |



**روش تهیه**

در محیط پایه، تمام اجزای محیط را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. سپس تمام اجزای فاکتورهای رشد را مخلوط و ۲۰ میلی‌لیتر از آن‌را به ۱ لیتر محیط پایه می‌افزایند. محیط کشت را در مقدار ۸۰ میلی‌لیتری در هر یک از فلاسک‌های ۱۲۵ میلی‌لیتری می‌ریزند و اتوکلاو می‌کنند. در ادامه، ۲۰ میلی‌لیتر از منبع کربن استریل شده به روش فیلتراسیون را به ۸۰ میلی‌لیتر محیط کشت اضافه و در لوله یا پلیت پخش می‌کنند. از منبع کربن در غلظت نهایی ۱ درصد استفاده می‌شود. از مخمّرهایی نظیر *کاندیدا* و *کریپتوکوکوس* برای کنترل کیفی محیط کشت استفاده می‌شود.

**محیط‌های ترایکوفیتون اگار (شمارهٔ ۱ تا ۷)**

از محیط‌های کشت ترایکوفیتون اگار[1] برای شناسایی و تفکیک و متمایز کردن برخی از درماتوفیت‌ها استفاده می‌شود. این محیط‌ها در فرم تجارتی توسط شرکت دیفکو[2] تولید می‌شوند.

**ترکیب**

a. **محیط‌های ترایکوفیتون اگار شمارهٔ ۱ تا ۵**

| | |
|---|---|
| کازامینواسیدها[3] | ۲/۵ گرم |
| باکتودکستروز | ۴۰ گرم |
| مونوپتاسیم فسفات | ۱/۸ گرم |
| سولفات منیزیم | ۰/۱ گرم |
| باکتواگار | ۱۵ گرم |
| باکتواینوزیتول (محیط‌های شمارهٔ ۲ و ۳) | ۵۰ میلی‌گرم |
| تیامین (محیط‌های شماره ۳ و ۴) | ۲۰۰ میکروگرم |
| نیکوتینیک اسید (محیط شماره ۵) | ۲ میلی‌گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

1- Trichophyton agars 2- Difco 3- Casamino acids

**b. محیط‌های ترایکوفیتون اگار شمارهٔ ۶ و ۷**

| | |
|---|---|
| نیترات آمونیوم | ۱/۵ گرم |
| باکتودکستروز | ۴۰ گرم |
| مونوپتاسیم فسفات | ۱/۸ گرم |
| سولفات منیزیم | ۰/۱ گرم |
| باکتواگار | ۱۵ گرم |
| هیستیدین هیدروکلرید (محیط شمارهٔ ۷) | ۳۰ میلی‌گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط کشت به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو شده و در داخل لوله یا پلیت‌های استریل پخش می‌شود. این محیط‌ها را می‌توان به مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. pH محیط کشت باید درسطح ۰/۲±۶/۸ تنظیم شود.

**محیط اگارعصارهٔ جو دوسر**

محیط کشت اگار عصارهٔ جو دوسر[1] برای تحریک تولید آسکوکارپ از نوع ژیمنوتسیوم[2] در اعضای خانوادهٔ ژیمنوآسکاسه بویژه جنس‌های درماتوفیت‌ها بسیار ایده‌آل است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ گوجه‌فرنگی | ۱۰ گرم |
| عصارهٔ جو دوسر | ۱۰ گرم |
| سولفات منیزیم | ۱ گرم |
| فسفات پتاسیم | ۱ گرم |
| نیترات سدیم | ۱ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

1- Oatmeal agar 2- Gymnothecium



**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. پس از سرد شدن محیط، pH آن‌را با هیدروکسید سدیم در سطح ۶/۵ تنظیم می‌کنند. محیط کشت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو و در پلیت‌های استریل پخش می‌کنند. این محیط را می‌توان به مدت ۱۴ روز دردمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط سیب‌زمینی دکستروز اگار**

محیط کشت سیب‌زمینی‌دکستروز اگار[1] برای حفظ توانایی اسپورزایی و تولید رنگدانه در بسیاری از قارچ‌های بیماری‌زا و ساپروفیت ایده‌آل است. در صورتی که میزان گلوکز این محیط به ۲۰ گرم افزایش یابد یا به جای گلوکز، از ۲۰ گرم سوکروز استفاده شود، محیط تغییریافتهٔ به‌دست آمده، برای بررسی ویژگی‌های ظاهری و حفظ توانایی اسپورزایی گونه‌های *فوزاریوم* بسیار مناسب خواهد بود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ سیب زمینی | ۵۰۰ میلی‌لیتر |
| گلوکز | ۱۰ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

ابتدا ۲۰۰ گرم سیب زمینی را پوست می‌کنند و پس از خرد کردن به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب جاری اضافه می‌کنند. این مخلوط را مدت ۶۰ دقیقه می‌جوشانند یا مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. عصارهٔ به دست آمده را از چند لایه گاز استریل عبور می‌دهند و حجم صاف شده را با آب جاری به ۵۰۰ میلی‌لیتر می‌رسانند. در ادامه، سایر اجزای محیط کشت را به عصارهٔ سیب زمینی تهیه شده به روش فوق می‌افزایند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط کشت را اتوکلاو و در لوله‌ها و پلیت‌های استریل پخش می‌کنند.

1- Potato dextrose agar

**محیط فنل اکسیداز**

از محیط فنل اکسیداز[1] برای شناسایی کریپتوکوکوس نئوفورمنس ازانواع مخمّرهای دیگر استفاده می‌شود. این مخمّر، پرگنه‌های قهوه‌ای تیره مایل به سیاه روی محیط فوق الذکر تولید می‌کند.

**ترکیب**

a. محلول A

| | |
|---|---|
| آگار نوبل | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۵۰۰ میلی‌لیتر |

b. محلول B

| | |
|---|---|
| پتاسیم فسفات مونوبازیک | ۴ گرم |
| سولفات منیزیم (دارای ۷ ملکول آب تبلور) | ۲/۵ گرم |
| تیامین هیدروکلرید | ۰/۰۱ گرم |
| بیوتین | ۰/۰۲ میلی‌گرم |
| DL- ۴،۳ـ دی هیدروکسی فنیل آلانین | ۰/۲ گرم |
| گلوکز | ۵ گرم |
| آسپاراژین | ۱ گرم |
| گلوتامین | ۱ گرم |
| گلایسین | ۱ گرم |
| آب مقطر | ۵۰۰ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

ابتدا محلول A را تهیه می‌کنند و تا زمان شفاف شدن، حرارت می‌دهند. این محلول را اتوکلاو می‌کنند و دمای آن‌را به ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد می‌رسانند. برای تهیهٔ محلول B، تمام اجزای مورد نظر را در آب مقطر حل و پس از استریل کردن به روش فیلتراسیون، pH آن‌را با فسفات پتاسیم مونو یا دی بازیک ۱ مولار در سطح ۵/۵ تنظیم می‌کنند. دمای محلول B را به ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد می‌رسانند و با محلول A مخلوط می‌کنند. محیط کشت به‌دست آمده را در مقدار ۱۵

1- Phenol oxidase medium



تا ۳۰ میلی‌لیتر در هر یک از پلیت‌های استریل با ابعاد ۱۵ در ۱۰۰ میلی‌متر پخش می‌کنند.

**محیط دانهٔ برنج**

از محیط کشت دانهٔ برنج[1] برای تفکیک و متمایز کردن دو درماتوفیت از یک‌دیگر، به نام‌های *میکروسپوروم کانیس* و *میکروسپوروم ادوئینی* استفاده می‌شود. گونهٔ *کانیس* همانند سایر درماتوفیت‌ها و برخلاف گونهٔ *ادوئینی* روی محیط دانهٔ برنج رشد مناسبی دارد که این رشد با تولید کونیدیوم نیز همراه است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| برنج سفید | ۸ گرم |
| آب مقطر | ۲۵ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

اجزای محیط کشت را در یک ارلن ۱۲۵ میلی‌لیتری می‌ریزند و مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. این محیط را می‌توان مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط سابهی اگار**

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| گلوکز | ۲۱ گرم |
| نئوپپتون | ۵ گرم |
| پروتئوز پپتون | ۵ گرم |
| عصارهٔ مغز گوساله | ۱۰۰ گرم |
| عصارهٔ قلب گاو | ۱۲۵ گرم |
| کلرید سدیم | ۲/۵ گرم |
| دی سدیم فسفات[2] | ۱/۲۵ گرم |
| کلرومایستین[3] | ۱ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| خون کامل انسان یا گوسفند | ۱۰۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۹۰۰ میلی‌لیتر |

1- Rice grain medium 2- $Na_2HPO_4$ 3- Chloromycetin

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت به‌جز کلرومایستین وخون را مخلوط و پس از حل شدن کامل، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. مقدار ۱/۲۵ گرم از کلرومایستین را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل می‌کنند و ۴ میلی‌لیتر از آن‌را به همراه خون به محیط کشت(دمای ۵۰ تا ۵۲ درجهٔ سانتی‌گراد) می‌افزایند. محیط را می‌توان پس از تهیه در پلیت یا لوله‌های آزمایش استریل پخش کرد. این محیط را می‌توان به مدت ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط سابورو دکستروز اگار**

محیط کشت سابورو دکستروز اگار[1] برای دیدن و بررسی مورفولوژی پرگنه قارچ‌های مختلف بویژه درماتوفیت‌ها مناسب است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| گلوکز | ۴۰ گرم |
| پپتون | ۱۰ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو و در لوله‌ها یا پلیت‌های استریل پخش می‌کنند. در این شرایط، محیط کشت را می‌توان در داخل لوله و پلیت به ترتیب مدت ۳۰ و ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. میزان گلوکز محیط کشت را می‌توان به ۲۰ گرم در لیتر کاهش داد.pH محیط باید در سطح ۵/۵ تا ۵/۶ تنظیم شود.

**محیط سابورو گلوکز اگار رقیق شده**

محیط کشت سابورو گلوکز اگار رقیق شده[2] برای نگهداری درماتوفیت‌ها در شرایط آزمایشگاهی بسیار ایده‌آل است، زیرا از ایجاد پلئومورفیسم[3] در این گروه از قارچ‌ها جلوگیری

1- Sabouraud dextrose agar 2- Diluted sabouraud glucose agar
3- Pleomorphism



می‌کند.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| گلوکز | ۲ گرم |
| نئوپپتون | ۱ گرم |
| سولفات منیزیم (دارای ۷ ملکول آب تبلور) | ۱ گرم |
| پتاسیم دی هیدروژن فسفات | ۱ گرم |
| اگار | ۲۰ گرم |
| آب جاری | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت رامخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط کشت را با اتوکلاو، استریل و در لوله آزمایش یا پلیت‌های استریل پخش می‌کنند.

**محیط سابورو دکستروز اگار دارای کلرامفنیکل و سیکلوهگزآمید (مایکوسل یا مایکوبیوتیک اگار)**

محیط کشت سابورو دکستروز اگار دارای کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید[1] برای جداسازی و خالص سازی درماتوفیت‌ها و سایر قارچ‌های مقاوم به سیکلوهگزامید کاربرد بسیار مناسبی دارد. این محیط به‌صورت تجاری و برای فروش به نام‌های مایکوبیوتیک اگار، مایکوسل اگار و یا محیط اگار انتخابی برای قارچ‌های بیماری‌زا[2] موجود است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| پپتون | ۱۰ گرم |
| گلوکز | ۱۰ گرم |
| سیکلوهگزامید (در ۱۰ میلی‌لیتر استن) | ۰/۵ گرم |
| کلرامفنیکل (در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول) | ۰/۰۵ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

1- Sabouraud dextrose agar with chloramphenicol and cycloheximide
2- Selective agar for pathogenic fungi

**روش تهیه**

ابتدا کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید را به ترتیب در اتانل ۹۵ درصد و استن حل می‌کنند و به همراه سایر اجزای محیط کشت در داخل یک ارلن می‌ریزند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط را اتوکلاو و در لوله‌های آزمایش یا پلیت‌های استریل پخش می‌کنند. لازم به ذکر است که اتوکلاو کردن دوبارهٔ محیط خطر از بین رفتن و تخریب ساختمان آنتی بیوتیک‌های موجود در آن را در پی خواهد داشت.

**محیط سابورو دکستروز برات**

از محیط کشت سابورو دکستروز برات برای کشت انبوه قارچ‌های رشته‌ای و مخمّری با هدف تهیه آنتی‌ژن‌های قارچی استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| نئوپپتون | ۱۰ گرم |
| گلوکز | ۲۰ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. سپس محیط را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو و در لوله‌های آزمایش یا ارلن‌های استریل پخش می‌کنند. این محیط را می‌توان مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط اگار عصارهٔ خاک**

محیط کشت اگار عصارهٔ خاک [1] برای نگهداری آزمایشگاهی هیستوپلاسما کپسولاتوم و بلاستومایسس درماتیتیدیس، تحریک تولید کونیدیوم در این قارچ‌ها و نیز تحریک تولید آسکوکارپ در بلاستومایسس درماتیتیدیس ایده‌آل است.

1- Soil extract agar



**ترکیب**

| | |
|---|---|
| خاک | ۵۰۰ گرم |
| گلوکز | ۲ گرم |
| عصارهٔ مخمّر | ۱ گرم |
| فسفات پتاسیم | ۰/۵ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

ابتدا ۵۰۰ گرم خاک باغچه را با ۱ لیتر آب جاری مخلوط و مدت ۳ ساعت در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. سوسپانسیون به‌دست آمده را از کاغذ فیلتر واتمن شمارهٔ ۲ عبور می‌دهند و از سوسپانسیون صاف شده به‌عنوان عصارهٔ خاک استفاده می‌کنند. تمام اجزای محیط کشت را به عصارهٔ خاک اضافه می‌کنند و حجم کلی را با آب جاری به یک لیتر می‌رسانند. محیط کشت را تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. محیط کشت را در داخل لوله‌ها یا پلیت‌های استریل پخش می‌کنند که کشت را در این می‌توان شرایط به ترتیب تا ۳۰ و ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد. برای اطمینان از عملکرد محیط کشت می‌توان قارچ *کرایزوسپوریوم* را روی محیط تلقیح و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد. در این شرایط، در صورت مناسب بودن محیط، قارچ به خوبی رشد و کونیدیوم تولید خواهد کرد.

**محیط اگار آب جاری**

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| اگار | ۲ گرم |
| آب | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط را در لوله‌های آزمایش ۲۵ در ۱۸۰ میلی‌متری پخش و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. محیط اگار آب جاری برای تحریک اسپورزایی در قارچ‌ها

مناسب است. این محیط را می‌توان تا ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط اگار عصارهٔ سبزیجات ۱۸ درصد**

محیط کشت اگار عصارهٔ سبزیجات ۱۸ درصد[1] برای تحریک کونیدیوم‌زایی در هایفومیست‌ها[2] بسیار ایده‌آل است. این محیط برای قارچ‌های مولد پیکنیدیوم[3] پیشنهاد نمی‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ V - 8 | ۱۸۰ میلی‌لیتر |
| کربنات کلسیم | ۲ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۸۰۵ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. سپس محیط را در لوله‌های آزمایش ۱۶ در ۱۲۵ میلی‌متری پخش و مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. این محیط را می‌توان مدت ۳۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی گراد نگهداری کرد.

**محیط عصارهٔ مخمّر ـ عصارهٔ مالت اگار**

محیط کشت عصارهٔ مخمّر ـ عصارهٔ مالت اگار[4] کاربرد بسیار مناسبی برای خالص‌سازی کشت‌های مخمّری آلوده به باکتری دارد.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ مخمّر | ۳ گرم |
| عصارهٔ مالت | ۳ گرم |
| پپتون | ۵ گرم |
| گلوکز | ۱۰ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

1- V-8 juice agar,18% 2- Hyphomycetes 3- Pycnidium-forming fungi
4- Yeast extract-malt extract agar



**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط کشت را مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو و در لوله‌های آزمایش یا پلیت‌های استریل پخش می‌کنند. pH محیط کشت را می‌توان با اسید هیدروکلریک رقیق در سطح ۳/۷ نیز تنظیم نمود. این محیط اسیدی را به صورت مایع (بدون اگار) نیز می‌توان تهیه کرد.

**محیط عصارهٔ مخمّر ـ فسفات اگار[1]**

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| a. **محلول A** | |
| عصارهٔ مخمّر | ۱ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |
| b. **محلول B** | |
| فسفات دی سدیک بدون آب | ۴ گرم |
| منوپتاسیم فسفات | ۶ گرم |
| آب مقطر | ۳۰ میلی‌لیتر |
| c. **محلول C** | |
| هیدروکسید آمونیوم تغلیظ شده | ۱ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای لازم برای تهیه محلول A را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. سپس ترکیبات تشکیل دهندهٔ محلول B را با هم مخلوط و pH مخلوط را با اسید کلریدریک ۱ نرمال یا هیدروکسید سدیم ۱ نرمال در سطح ۶ تنظیم می‌کنند. مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول B را به محلول A می‌افزایند و مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند. pH محیط کشت پس از تهیه باید برابر ۶ باشد. محیط در پلیت‌های استریل پخش می‌شود و در این شرایط، محیط را می‌توان مدت ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد

1- Yeast extract - phosphate agar

نگهداری کرد. حدود ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونهٔ بالینی یا نمونهٔ قارچ به محیط عصارهٔ مخمّر-فسفات‌اگار منتقل و ۰/۰۵ میلی‌لیتر از محلول C در بخش دیگری از محیط تلقیح می‌شود. هیدروکسید آمونیوم باعث غیرفعال شدن سیکلوهگزامید می‌شود. این محیط برای جداسازی *بلاستومایسس درماتیتیدیس* مناسب است.

**محیط اگار مورفولوژی مخمّر**

از محیط کشت اگار مورفولوژی مخمّر[1] می‌توان برای بررسی ویژگی‌های ظاهری مخمّرها، تحریک تولید آسکوسپور و آزمون حساسیت به داروهای ضدقارچی نظیر فلوسیتوزین استفاده کرد.

**ترکیب و روش تهیه**

این محیط به صورت تجارتی موجود است و براساس دستورالعمل شرکت سازنده تهیه می‌شود. محیط آماده را می‌توان مدت ۳۰ روز در لوله و ۱۴ روز در پلیت در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط عصارهٔ مخمّر پپتون گلوکز اگار**

از محیط کشت عصارهٔ مخمّر پپتون گلوکز اگار[2] برای رشد و نگهداری کشت‌های مخمّری استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ مخمّر | ۱۰ گرم |
| پپتون | ۲۰ گرم |
| گلوکز | ۲۰ گرم |
| اگار | ۲۰ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط کشت مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو و در لوله‌ها یا

1- Yeast morphology agar
2- Yeast extract peptone glucose agar



پلیت‌های استریل پخش می‌شود.

**محیط انجماد گلیسرول ـ لاکتوز**

از محیط کشت انجماد گلیسرول ـ لاکتوز[1] می‌توان برای حفظ و نگهداری کشت‌های ذخیرهٔ قارچی در شرایط آزمایشگاهی استفاده کرد. کونیدیوم‌های بیشتر قارچ‌های رشته‌ای و مخمّرها را می‌توان در این محیط به حالت سوسپانسیون در آورد و در ازت مایع با دمای ۱۹۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| لاکتوز | ۱۰ گرم |
| گلیسرول | ۲۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط و با روش فیلتراسیون یا اتوکلاو کردن، استریل می‌کنند. این محیط در داخل ویال‌های مخصوص تهیه و استفاده می‌شود.

**محیط اگار مهاری قارچ‌های رشته‌ای**

محیط کشت اگار مهارکنندهٔ قارچ‌های رشته‌ای[2]، برای جداسازی هیستوپلاسما کپسولاتوم و انواع درماتوفیت‌ها از نمونه‌های بالینی بسیار مناسب است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| تریپتیکاز پپتون | ۳ گرم |
| تیوتون پپتون | ۲ گرم |
| عصارهٔ مخمّر | ۵ گرم |
| گلوکز | ۵ گرم |
| نشاستهٔ محلول | ۲ گرم |
| دکسترین | ۱ گرم |
| کلرامفنیکل | ۰/۱۲۵ گرم |
| فسفات سدیم | ۲ گرم |

1- Glycerol-lactose freezing medium
2- Inhibitory mould agar

| | |
|---|---|
| سولفات منیزیم | ۰/۸ گرم |
| سولفات آهن | ۰/۰۴ گرم |
| کلرید سدیم | ۰/۰۴ گرم |
| سولفات منگنز | ۰/۱۶ گرم |
| اگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و مدت ۱ دقیقه حرارت می‌دهند. محیط را اتوکلاو و در لوله‌های آزمایش یا پلیت‌های استریل پخش می‌کنند. این محیط را می‌توان در لوله و پلیت به ترتیب مدت ۳۰ و ۱۴ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد.

**محیط کاناوانین ـ گلایسین ـ برم تیمول بلو اگار**

از محیط کشت کاناوانین ـ گلایسین ـ برم تیمول بلو اگار[1] برای تفکیک و متمایز کردن *واریته‌های گاتی* و *نئوفورمنس* قارچ *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* استفاده می‌شود. *واریته گاتی* برخلاف *واریتهٔ نئوفورمنس* رنگ این محیط را از زرد مایل به سبز به آبی تبدیل می‌کند.

**ترکیب**

a. **محلول A**

| | |
|---|---|
| گلایسین | ۱۰ گرم |
| فسفات پتاسیم | ۱ گرم |
| سولفات منیزیم | ۱ گرم |
| تیامین هیدروکلرید | ۱ میلی‌گرم |
| L- کاناوانین سولفات (سیگما) | ۳۰ میلی‌گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

b. **محلول B**

| | |
|---|---|
| سدیم برم تیمول بلو | ۰/۴ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

1- Canavanine-glycine-bromthymol blue (CGB) agar



**روش تهیه**

ابتدا برای تهیهٔ محلول A، تمام اجزای مربوط به آن را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، تکان می‌دهند. pH محلول را در سطح ۵/۶ تنظیم و آن‌را به روش فیلتراسیون استریل می‌کنند. برای تهیهٔ ۱ لیتر محیط کشت، ابتدا ۸۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲۰ میلی‌لیتر محلول B و ۲۰ گرم اگار را مخلوط و اتوکلاو می‌کنند. در ادامه، به محض سردشدن محیط و پیش از بسته شدن اگار، ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول A را به آن اضافه می‌کنند و کاملاً به هم می‌زنند. محیط کشت پس از تهیه در لوله‌های آزمایش یا پلیت‌های استریل پخش می‌شود.

**محیط ژلاتین**

از محیط کشت ژلاتین[1] برای جداسازی گونه‌های بیماری‌زای کلادوسپوریوم از گونه‌های غیربیماری‌زای این قارچ و سایر قارچ‌های رنگی استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| ژلاتین | ۱۲۰ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

پودر ژلاتین را در آب مقطر می‌ریزند و تا زمان شفاف شدن حرارت می‌دهند. محیط کشت را اتوکلاو و در لوله‌های آزمایش استریل پخش می‌کنند. از این محیط برای بررسی فعالیت پروتئولیتیک قارچ‌ها استفاده می‌شود.

**محیط دیکسون تغییریافته**

محیط کشت دیکسون تغییریافته[2] برای جداسازی اولیهٔ گونه‌های *مالاسزیا* ازنمونه‌های بالینی و همچنین بررسی ویژگی‌های ظاهری این گونه‌ها بسیار مناسب است.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| عصارهٔ مالت | ۱۸ گرم |
| پپتون | ۱۸ گرم |
| باکتواگار | ۷/۲۵ گرم |

1- Gelatin medium

2- Modified Dixon agar

| | |
|---|---|
| صفرای گاو نر[1] | ۱۰ گرم |
| توئین ۴۰ | ۵ میلی‌لیتر |
| گلیسرول مونواولئات | ۲/۵ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۵۰۰ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط کشت را مدت ۱۰ دقیقه دردمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو و در پلیت‌های استریل پخش می‌کنند.

**محیط آرد ذرت گلوکز سوکروز عصارهٔ مخمر آگار**

از محیط کشت آرد ذرّت گلوکز، عصارهٔ مخمّر اگار[2] برای تحریک اسپورزایی در برخی از زایگومیست‌ها بویژه جنس‌های *ساکسنه‌آ*[3] و *آپوفیزومایسس*[4] استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| آرد ذرّت اگار | ۱۷ گرم |
| دکستروز(گلوکز) | ۲ گرم |
| سوکروز | ۳ گرم |
| عصارهٔ مخمّر | ۱ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط کشت را مخلوط می‌کنند و تا زمان حل شدن و شفافیت کامل، حرارت می‌دهند. محیط کشت را مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو و در لوله‌های آزمایش یا پلیت‌های استریل پخش می‌کنند.

**محیط اگار دانهٔ پرنده**

از محیط کشت اگاردانهٔ پرنده[5] برای جداسازی انتخابی قارچ *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* از نمونه‌های خاک آلوده به مدفوع کبوتر و همچنین از نمونه‌های بالینی مشکوک به وجود قارچ

1- Ox bile
2- Cornmeal glucose sucrose yeast extract agar
3- *Saksenaea*
4- *Apophysomyces*
5- Bird seed agar



استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| دانهٔ نایجر[1] | ۵۰ گرم |
| گلوکز | ۱ گرم |
| پتاسیم دی هیدروژن فسفات | ۱ گرم |
| کراتینین[2] | ۱ گرم |
| باکتواگار | ۱۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |
| پنی سیلین G (۲۰ واحد در میلی‌لیتر) | ۱ میلی‌لیتر |
| جنتامایسین (۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) | ۱ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

ابتدا دانهٔ نایجر را با مخلوط‌کن برقی تا حد ممکن خرد و به آب مقطر اضافه می‌کنند. سوسپانسیون به‌دست آمده را مدت ۳۰ دقیقه می‌جوشانند و حجم آن را پس از عبور دادن از فیلتر کاغذی با آب مقطر به ۱ لیتر می‌رسانند. تمام اجزای محیط کشت، به‌جز باکتوآگار، را به ترکیب صاف شده اضافه می‌کنند و تا زمان حل شدن کامل، تکان می‌دهند. در صورت نیاز، pH محیط کشت را در سطح ۵/۵ تنظیم و محیط را در حجم‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری در ارلن پخش می‌کنند. میزان ۷/۵ گرم باکتوآگار به هر ارلن اضافه و محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌شود. دمای محیط کشت را به ۴۸ درجهٔ سانتی‌گراد می‌رسانند و در این زمان، پنی‌سیلین G و جنتامایسین را به مجموعه اضافه می‌کنند. محیط را به خوبی تکان می‌دهند و در پلیت‌های استریل پلاستیکی پخش می‌کنند.

1- Guizotia abyssinica
2- Creatinine

## آزمون فصل پنجم

۱ـ تولید پرگنه‌های پشت نارنجی روی محیط تفکیک کننده *آسپرژیلوس* در مورد جدایه‌های *آسپرژیلوس فلاووس* به وجود کدام یک از ترکیبات زیر در محیط کشت وابسته است؟

الف) عصارهٔ مخمّر
ب) تریپتون
ج) فرّیک آمونیوم سیترات
د) فسفات پتاسیم

۲ـ از کدام یک از محیط‌های زیر برای بررسی تولید کلامیدوسپور در قارچ *کاندیدا آلبیکنس* استفاده می‌شود؟

الف) آرد ذرّت اگار واجد ثوئین ۸۰
ب) محیط اگار پنبه دانه
ج) محیط مایع تبدیلی
د) محیط عصارهٔ مغز و قلب

۳ـ کدام یک از محیط‌های زیر برای بررسی ویژگی‌های ظاهری گونه‌های *آسپرژیلوس* ایده‌آل است؟

الف) سابورو دکستروز اگار
ب) *آسپرژیلوس فلاووس* و *پارازیتیکوس* اگار
ج) دی کلران ـ رزبنگال اگار
د) چاپک ـ داکس اگار

۴ـ کدام یک از محیط‌های زیر برای نگهداری کشت‌های ذخیرهٔ قارچ‌ها ایده‌آل است؟

الف) عصارهٔ مالت اگار
ب) عصارهٔ مخمّر ـ فسفات اگار
ج) آرد ذرّت اگار
د) سابهی اگار

۵ـ کدام یک از محیط‌های زیر برای شناسایی *کریپتوکوکوس نئوفورمنس* اختصاصی است؟

الف) سیب‌زمینی‌دکستروز اگار
ب) فنل اکسیداز
ج) کاناوانین گلایسین برم تیمول بلو اگار
د) مایکوسل اگار

۶ـ خالص سازی کشت‌های مخمّری آلوده به باکتری با کدام یک از محیط‌های کشت زیر به نحو مطلوب انجام می‌شود؟

الف) عصارهٔ مخمّر ـ سوکروز اگار
ب) عصارهٔ مخمّر ـ عصارهٔ مالت اگار
ج) سابورو دکستروز اگار
د) اگار مورفولوژی مخمّر



۷ـ وجود کدام یک از ترکیبات زیر در محیط مایکوسل اگار، این محیط را برای جداسازی درماتوفیت‌ها اختصاصی کرده است؟

الف) گلوکز
ب) مرتیولات سدیم
ج) سیکلوهگزامید
د) دکسترین

۸ـ کدام یک از ترکیبات زیر عامل کاهش دهندهٔ کشش سطحی در محیط دیکسون تغییر یافته است؟

الف) عصارهٔ مالت
ب) باکتواگار
ج) پپتون
د) صفرای گاونر

۹ـ از محیط آرد ذرّت گلوکز سوکروز عصارهٔ مخمّر اگار برای تحریک اسپورزایی در کدام یک از قارچ‌های زیر استفاده می‌شود؟

الف) *آسپرژیلوس فومیگاتوس*
ب) *آپوفیزومایسس الگانس*
ج) *آرتروبوتریس الیگوسپورا*
د) *دادینگتونیا فلگرانس*

# فصل ششم

## معرف‌ها، رنگ‌ها و روش‌های نگهداری قارچ‌ها در آزمایشگاه

**هدف‌های رفتاری**

**پس از خواندن این فصل فراگیرنده باید:**

۱. معرف‌ها و رنگ‌های مورد استفاده در قارچ‌شناسی را بیان کند.

۲. روش‌های حفظ و نگهداری قارچ‌ها در شرایط آزمایشگاهی را تشریح کند.

۳. روش تهیه مونته‌های دائمی قارچی را شرح دهد.

در این فصل ،ابتدا معرف‌ها و رنگ‌های مورد استفاده در قارچ‌شناسی ارائه شده و در ادامه، روش‌های نگهداری قارچ‌ها در آزمایشگاه و همچنین تهیهٔ مونته‌های دائمی قارچ‌شناسی بیان خواهد شد.

## معرف‌ها و رنگ‌های مورد استفاده در قارچ‌شناسی

### کالکوفلوئور سفید[1] ـ پتاس ۱۰ درصد

از معرف کالکوفلوئور سفید برای بررسی میکروسکوپی مستقیم تراشه‌های جلدی، مو و ناخن و سایر نمونه‌های کلینیکی از نظر وجود ساختمان‌های قارچی استفاده می‌شود. این معرف به طور اختصاصی به سلولز و کیتین موجود در دیوارهٔ سلولی قارچ‌ها متصل می‌شود و در مجاورت پرتو فرابنفش، برحسب نوع فیلتر مورد استفاده، فلئورسانس سفید گچی و یا سبز سیبی درخشان خواهد داشت.

ترکیب

a. محلول A (معرف هیدروکسیدپتاسیم)

| | |
|---|---|
| هیدروکسید پتاسیم* | ۱۰ گرم |
| گلیسرول | ۱۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۹۰ میلی‌لیتر |

* هیدروکسید پتاسیم را در آب حل و سپس گلیسرول را به آن اضافه می‌کنند.

b. محلول B (معرف کالکوفلوئور سفید)

| | |
|---|---|
| کالکوفلوئور سفید(بلانکوفور BA) | ۰/۱ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

روش تهیه

محلول‌های A و B را به‌طور جداگانه تهیه و یک قطره از هرکدام را در مرکز یک لام میکروسکوپی تمیز به خوبی مخلوط می‌کنند. پس از گذاشتن نمونه روی مخلوط، یک لامل روی مجموعهٔ معرف ـ نمونه قرار می‌دهند و در زیر میکروسکوپ بررسی می‌کنند.

### هیدروکسید پتاسیم ـ جوهر پارکر

از هیدروکسید پتاسیم در فرم مخلوط با جوهر پارکر برای بررسی میکروسکوپی مستقیم تراشه‌های جلدی، مو، ناخن و سایر نمونه‌های بالینی از نظر وجود ساختمان‌های قارچی استفاده می‌شود. جوهر پارکر به عنوان رنگ زمینه، دیدن نمونه را آسان می‌کند.

1- Calcofluor white



ترکیب

| | |
|---|---|
| هیدروکسید پتاسیم | ۱۰ گرم |
| گلیسرول | ۱۰ میلی‌لیتر |
| جوهر آبی پارکر کوئینک | ۱۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۸۰ میلی‌لیتر |

روش تهیه

ابتدا هیدروکسید پتاسیم را در آب مقطر حل می‌کنند و سپس گلیسرول و جوهرآبی پارکر را به آن می‌افزایند. گلیسرول از کریستاله شدن معرف و خشک شدن نمونه جلوگیری خواهد کرد. ساختمان‌های قارچی در مجاورت این معرف به رنگ آبی دیده می‌شوند. شفاف شدن نمونه و رنگ پذیری قارچ به حدود ۲۰ دقیقه زمان نیاز دارد.

### هیدروکسید پتاسیم ـ دی متیل سولفوکساید[1]

از معرف هیدروکسید پتاسیم ـ دی متیل سولفوکساید برای شفاف‌سازی نمونه‌های تراشه‌جلدی، مو و ناخن استفاده می‌شود. دی‌متیل[2] سولفوکساید به شفاف‌سازی نمونه کمک می‌کند.

ترکیب

| | |
|---|---|
| دی متیل سولفوکساید[2] | ۴۰ میلی‌لیتر |
| هیدروکسید پتاسیم | ۱۰ گرم |
| آب مقطر | ۶۰ میلی‌لیتر |

روش تهیه

ابتدا دی متیل سولفوکساید را در آب مقطر حل می‌کنند و سپس هیدروکسید پتاسیم را به محلول می‌افزایند و آن‌را تا حل شدن کامل، تکان می‌دهند. برای شفاف‌سازی نمونه و بررسی وجود ساختمان‌های قارچی به ۲۰ دقیقه زمان نیاز است.

### رنگ‌آمیزی اسید فست (روش تغییریافتهٔ کاینیون)

از رنگ آمیزی اسید فست به روش تغییریافتهٔ کاینیون[3] برای بررسی نمونه‌های بالینی از

1- KOH - DMSO 2- DMSO

3- Acidfast stain, modified kinyoun's method

نظر وجود اکتینومیست‌ها استفاده می‌شود.

**ترکیب**

**a. کاینیون کربول فوشین***

| | |
|---|---|
| فوشین بازی | ۴ گرم |
| فنل | ۸ میلی‌لیتر |
| اتانل ۹۵ درصد | ۲۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

*ابتدا رنگ را در الکل حل می‌کنند و سپس آب مقطر و فنل را به آن می‌افزایند.

**b. محلول آبی اسیدسولفوریک ۱ درصد**

| | |
|---|---|
| اسید سولفوریک غلیظ | ۱ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۹۹ میلی‌لیتر |

**c. رنگ زمینه متیلن‌بلو**

| | |
|---|---|
| متیلن‌بلو | ۲/۵ گرم |
| اتانل ۹۵ درصد | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**روش کار**

گسترشی از نمونه روی لام را تهیه و آن‌را با حرارت تثبیت می‌کنند. لام را به مدت ۵ دقیقه در مجاورت رنگ کاینیون کربول فوشین قرار می‌دهند و پس از خارج کردن رنگ اضافی، آن را در الکل ۵۰ درصد قرار می‌دهند و بلافاصله با آب شستشو می‌دهند. لام را به مدت ۲ دقیقه در محلول آبی ۰/۵ درصد اسید سولفوریک قرار می‌دهند و بلافاصله با آب شستشو می‌دهند. سپس لام را برای رنگ‌آمیزی زمینه، مدت ۱ دقیقه در رنگ متیلن بلو قرار می‌دهند و پس از شستشو با آب و خشک‌کردن در هوا، با عدسی روغنی میکروسکوپ آن را از نظر داشتن رشته‌های ظریف اسیدفست نسبی نوکاردیا بررسی می‌کنند.

**رنگ‌آمیزی گیمسا**

این روش رنگ‌آمیزی برای بررسی فرم بافتی هیستوپلاسما کپسولاتوم بسیار مناسب است.

**ترکیب**

**a. محلول رنگ گیمسا (استوک)**

| | |
|---|---|
| پودر گیمسا | ۰/۵ گرم |
| متانول خالص (بدون استن) | ۳۳ میلی‌لیتر |



**b. بافرفلیایی (استوک)**

| | |
|---|---|
| دی سدیم هیدروژن فسفات | ۹/۵ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**c. بافراسیدی (استوک)**

| | |
|---|---|
| دی سدیم هیدروژن فسفات (دارای ۱ ملکول آب تبلور) | ۹/۲ گرم |
| آب مقطر | ۱ لیتر |

**d. بافرمخلوط (pH ۷/۲-۷)**

| | |
|---|---|
| بافر اسیدی | ۳۹ میلی‌لیتر |
| بافر قلیایی | ۶۱ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۹۰۰ میلی‌لیتر |

**e. محلول ۱۰ درصد تریتون X-۱۰۰ (استوک)**

| | |
|---|---|
| تریتون X-۱۰۰ | ۱۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۹۰ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

برای تهیه محلول کاری، ۱ میلی‌لیتر از محلول استوک تریتون X-۱۰۰ (این محلول باید در ظرف دربسته در دمای آزمایشگاه نگهداری شود) را به ۱ لیتر بافر مخلوط اضافه می‌کنند. محلول کاری رنگ گیمسا را با افزودن ۱ میلی‌لیتر محلول استوک گیمسا به ۲۰ میلی‌لیتر بافر مخلوط حاوی تریتون X-۱۰۰ تهیه می‌کنند. این محلول باید به صورت روزانه (تازه) تهیه شود. pH محلول نیز باید در سطح ۷ تا ۷/۲ تنظیم شود تا بتوان اجزای سلولی را به بهترین وجه از یک‌دیگر تفکیک کرد.

**روش کار**

ابتدا گسترشی از نمونه تهیه و آن‌را با هوا خشک می‌کنند. نمونه با قرار دادن لام به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه در متانول تثبیت می‌شود. لام را پس از خشک کردن با هوا برای رنگ‌آمیزی در محلول رنگ گیمسا می‌گذارند و پس از شستشو بابافر مخلوط بدون تریتون X-۱۰۰ و خشک‌کردن با هوا، از نظر بودن ساختمان های قارچی، در زیر میکروسکوپ، بررسی می کنند.

**رنگ آمیزی گوموری متنامین سیلور[1] (روش تغییر یافته گروکوت)**

روش رنگ آمیزی گوموری متنامین سیلور یکی از روش‌های مناسب رنگ آمیزی بافتی در قارچ شناسی است. در این روش، قارچ به رنگ قهوه‌ای تیره و زمینهٔ بافت به رنگ سبز روشن دیده می‌شود.

ترکیب

**a.اسید کرومیک ۵ درصد**

| | |
|---|---|
| اسید کرومیک | ۵ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**b.محلول ۵ درصد نیترات نقره**

| | |
|---|---|
| نیترات نقره | ۵ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**c.محلول متنامین ۳ درصد**

| | |
|---|---|
| متنامین (هگزا متیلن ترامین) | ۳ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**d.محلول بوراکس ۵ درصد**

| | |
|---|---|
| بوراکس ( نوع فوتوگرافیک ) | ۵ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**e.محلول استوک متنامین – نیترات نقره***

| | |
|---|---|
| متنامین ۳ درصد | ۳ میلی لیتر |
| نیترات نقره ۵ درصد | ۵ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

* این محلول در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد مدت چندین ماه پایدار باقی می‌ماند.

**f.محلول کاری متنامین – نیترات نقره ***

| | |
|---|---|
| محلول ۵ درصد بوراکس | ۲ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۲۵ میلی‌لیتر |
| محلول استوک متنامین – نیترات نقره | ۲۵ میلی‌لیتر |

* ابتدا بوراکس رابه آب مقطر می‌افزایند و به خوبی هم می زنند و سپس محلول استوک متنامین ـ نیترات نقره را به آن اضافه می کنند .

1- Gomori methenamine silver (GMS) stain



**g.محلول ۱ درصد سدیم بی سولفیت**

| | |
|---|---|
| سدیم بی سولفیت | ۱ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**h.محلول ۰/۱ درصد کلرید طلا***

| | |
|---|---|
| محلول ۱درصد کلرید طلا | ۱۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۹۰ میلی‌لیتر |

* از این محلول می‌توان چندین بار استفاده کرد.

**i.محلول ۲ درصد تیوسولفات سدیم**

| | |
|---|---|
| تیوسولفات سدیم | ۲ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

**j.محلول استوک لایت گرین**

| | |
|---|---|
| لایت گرین (زرد) | ۰/۲ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |
| اسید استیک گلاسیال | ۰/۲ میلی‌لیتر |

**k.محلول کاری لایت گرین**

| | |
|---|---|
| محلول استوک لایت گرین | ۱۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۵۰ میلی‌لیتر |

روش کار

ابتدا از نمونه آزمون، مقاطع بافتی و یک بافت کنترل تهیه می‌شود . مقاطع آسیب‌شناسی تهیه شده از طریق قرار دادن در زایلن،الکل مطلق ، اتیل الکل ۹۵ درصد و آب مقطر از پارافین پاکسازی می‌کنند. لام‌ها را مدت ۶۰ دقیقه در محلول اسید کرومیک ۵ درصد قرار می‌دهند و سپس ۱۰ تا ۱۵ ثانیه با آب جاری شستشو می‌دهند. برای خارج کردن بقایای محلول اسید کرومیک، لام را ۶۰ ثانیه در محلول بی سولفیت سدیم ۱درصد قرار می‌دهند و سپس مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه با آب جاری شستشو می دهند . در ادامه،لام با آب مقطر نیز شسته و تا زمان ایجاد رنگ زرد مایل به قهوه‌ای[1] در بافت، در محلول کاری متنامین ـ نیترات نقره در اون ۵۸ تا ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده می‌شود. این مرحله معمولاً ۳۰ تا ۶۰ دقیقه طول می‌کشد. با یک پنس، لام کنترل را از داخل محلول خارج و پس از شستشو با آب مقطر، در زیر میکروسکوپ، از نظر

1- Yellowish-brown

کافی بودن رنگ‌آمیزی بررسی می‌کنند. قارچ موجود در نمونهٔ کنترل باید به رنگ قهوه‌ای تیره درآمده باشد. لام‌های نمونه و کنترل را با آب مقطر (۶ بار تعویض آب) می‌شویند و مدت ۲ تا ۵ دقیقه در محلول ۱ درصد کلرید طلا قرار می‌دهند. در ادامه، لام را با آب مقطر می‌شویند و برای حذف نقرهٔ احیا نشده، مدت ۲ تا ۵ دقیقه در داخل محلول تیوسولفات سدیم ۲ درصد قرار می‌دهند. سپس لام را به طور کامل با آب جاری می‌شویند و برای رنگ‌آمیزی زمینهٔ بافت مدت ۳۰ تا ۴۵ ثانیه در داخل محلول کاری لایت گرین قرار می‌دهند. در پایان، لام را در دو مرحله، در الکل ۹۵ درصد و الکل مطلق آبگیری و در ۲ تا ۳ مرحله با زایلن شفاف و با لامل و چسب (انتلان یا کانادا بالزام) مونته می‌کنند. قارچ‌های موجود در بافت به رنگ قهوه‌ای تیره در می‌آیند و نواحی داخلی ریسه‌ها، به رنگ‌صورتی تیره[1] دیده می‌شوند. زمینهٔ لام، رنگ سبز روشن خواهد داشت.

**رنگ‌آمیزی گرم (روش تغییریافتهٔ هوکر)**

**ترکیب**

a. **محلول A کریستال ویوله**

| | |
|---|---|
| کریستال ویوله | ۲ گرم |
| اتانل ۹۵ درصد | ۲۰ میلی‌لیتر |

b. **محلول B کریستال ویوله**

| | |
|---|---|
| اگسالات آمونیوم | ۰/۸ گرم |
| آب مقطر | ۸۰ میلی‌لیتر |

دو محلول A و B را مخلوط و پس از صاف کردن در ظروف تیره نگهداری می‌کنند. این محلول‌ها باید حداکثر ۲۴ ساعت پیش از مصرف تهیه شوند.

c. **محلول یدین**

| | |
|---|---|
| ید | ۱ گرم |
| یدید پتاسیم | ۲ گرم |
| آب مقطر | ۳۰۰ میلی‌لیتر |

رنگ ید و یدید پتاسیم به همراه مقدار اندکی آب مقطر در یک هاون به خوبی خرد و کوبیده، و در نهایت پس از رسانیدن به حجم نهایی، در یک ظرف شیشه‌ای تیره نگهداری می‌شوند.

1- Old rose



d. **محلول رنگ‌بر (محلول استن ـ الکل)**

| | |
|---|---|
| اتیل الکل ۹۵ درصد | ۱۰۰ میلی‌لیتر |
| استن | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

e. **رنگ زمینه (استوک)**

| | |
|---|---|
| سافرانین O | ۲/۵ گرم |
| اتیل الکل ۹۵ درصد | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

برای تهیهٔ محلول کاری رنگ زمینه، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول استوک را با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط می‌کنند.

**روش کار**

ابتدا گسترشی از نمونه روی لام تهیه می‌شود. این گسترش به مدت ۱ دقیقه با قرار گرفتن در محلول کریستال ویوله تثبیت و در ادامه، با آب جاری، کاملاً شستشو می‌شود. لام به مدت ۱ دقیقه در محلول یدین قرار می‌گیرد و پس از شستشوی کامل با آب جاری (تا زمانی که دیگر هیچ رنگی از لام خارج نشود) در محلول رنگ‌بر قرار داده می‌شود. لام را با آب جاری می‌شویند و مدت ۱۰ تا ۳۰ ثانیه در داخل رنگ زمینه قرار می‌دهند. لام را دوباره با آب جاری می‌شویند و پس از خشک کردن با هوا در زیر میکروسکوپ بررسی می‌کنند.

**لاکتوفنل کاتن بلو[1]**

معرف لاکتوفنل کاتن بلو از رایج‌ترین معرف‌ها برای بررسی میکروسکوپی مستقیم قارچ‌ها است. اسیدلاکتیک و فنل موجود در معرف، خاصیت قارچ‌کشی دارند، درحالی که کاتن بلو، ساختمان‌های قارچی را به رنگ آبی در می‌آورند.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| فنل کنسانتره | ۲۰ میلی‌لیتر |
| اسیدلاکتیک | ۲۰ میلی‌لیتر |
| گلیسرول | ۴۰ میلی‌لیتر |
| کاتن‌بلو | ۰/۰۵ گرم |
| آب مقطر | ۲۰ میلی‌لیتر |

1- Lactophenol cotton blue

روش تهیه

ابتدا رنگ کاتن بلو را کاملاً در آب مقطر حل و سپس سایر ترکیبات را به محلول اضافه می‌کنند و آن‌را تا زمان حل شدن کامل، تکان می‌دهند. از این محلول به‌عنوان یک عامل مونته کنندهٔ قارچی[1]، بویژه در آزمایشگاه‌های قارچ‌شناسی، استفاده می‌شود. در این روش، قارچ به رنگ آبی در می‌آید. این محلول را می‌توان در دمای آزمایشگاه نگهداری کرد.

**محلول آب و عامل مرطوب‌کننده [2]**

از محلول آب و عامل مرطوب‌کننده به‌عنوان یک محلول مونته کنندهٔ قارچی استفاده می‌شود. از مزایای این محلول، جلوگیری از ایجاد شدن حباب‌های هوا روی ساختمان‌های قارچی، در مراحل تهیهٔ لام‌های میکروسکوپی است.

ترکیب

| | |
|---|---|
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |
| عامل مرطوب‌کننده | چند قطره |

روش تهیه

چند قطره از عامل مرطوب‌کننده را به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر می‌افزایند و محلول را در ظرف دربسته نگهداری می‌کنند.

**محلول پتاس ـ فلوکسین [3]**

ترکیب پتاس ـ فلوکسین یک محلول مونته کنندهٔ قارچی و برای رنگ‌آمیزی انواع بازیدیومیست‌ها و سایر قارچ‌های دارای ساختمان‌های پیکره‌ای متراکم بسیار ایده‌آل است. در این روش ریسه‌های قارچی به رنگ صورتی روشن[4] در می‌آیند و در مقایسه با مونته‌های تهیه شده با آب بهتر دیده می‌شوند.

ترکیب

a. محلول A

| | |
|---|---|
| فلوکسین | ۲۵ میلی‌گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

1- Fungal mounting medium
2- Wetting agent
3- KOH-Phloxine
4- Bright pink



b. محلول B

| | |
|---|---|
| پتاس | ۱۰ گرم |
| آب مقطر | ۱۰ میلی‌لیتر |

روش کار

دو محلول A و B را به طور جداگانه تهیه می‌کنند. در زمان استفاده، یک قطره از هریک از محلول‌ها به همراه نمونه روی یک لام قرار می‌گیرند.

**محلول لاکتوفوشین [1]**

محلول لاکتوفوشین یک محلول مونته کنندهٔ قارچی است که به مدت چند هفته بدون این که خشک شود روی لام باقی می‌ماند و به همین دلیل، جهت نگهداری دراز مدت لام‌های میکروسکوپی بسیار مفید است. این محلول یک رنگ بسیار قوی است که برای بررسی ساختمان‌های تولید مثل غیرجنسی قارچ‌ها در موارد زیادی از آن استفاده می‌شود.

ترکیب

| | |
|---|---|
| اسید فوشین (صورتی رنگ) | ۰/۱ گرم |
| اسیدلاکتیک خالص | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

روش کار

یک قطره از محلول مونته کنندهٔ لاکتوفوشین را به همراه بخشی از نمونهٔ قارچی روی یک لام قرار می‌دهند و پس از قرار دادن لامل، در زیر میکروسکوپ بررسی می‌کنند.

**محیط مونته کنندهٔ شیرز [2]**

محیط مونته کنندهٔ شیرز مانند محلول لاکتوفوشین، تا چند هفته، بدون این که خشک شود روی لام باقی می‌ماند و محیط مونتهٔ بسیار مناسبی برای بررسی میکروسکوپی مستقیم قارچ‌ها است. از جوهر آبی به‌عنوان یک رنگ کمکی استفاده می‌شود، زیرا این جوهر دیوارهٔ سلولی برخی از قارچ‌ها را رنگ می‌کند.

ترکیب

| | |
|---|---|
| استات پتاسیم | ۶ گرم |

1- Lacto-fuchsin
2- Shear's mounting medium

| | |
|---|---|
| گلیسرول | ۱۲۰ میلی‌لیتر |
| اتانل ۹۵ درصد | ۱۸۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۳۰۰ میلی‌لیتر |
| جوهر آبی | ۰/۱ تا ۰/۲ درصد |

**روش تهیه**

تمام اجزای محیط را با یک‌دیگر مخلوط و در ظرف تیرهٔ دربسته نگهداری می‌کنند.

**رنگ‌آمیزی موسی کارمین مایر**[1]

از روش رنگ‌آمیزی موسی کارمین مایر برای رنگ‌آمیزی اختصاصی کپسول پلی‌ساکاریدی کریپتوکوکوس نئوفورمنس استفاده می‌شود. در این‌باره، کپسول به رنگ قرمز تا صورتی در می‌آید، در حالی که هسته‌های سلول‌های مخمّری به رنگ سیاه و زمینه بافت به رنگ زرد دیده می‌شود.

**ترکیب**

a. **محلول A ویگرتس آهن هماتوکسیلین**[2]

| | |
|---|---|
| هماتوکسیلین | ۱ گرم |
| الکل ۹۵ درصد | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

b. **محلول B ویگرتس آهن هماتوکسیلین**

| | |
|---|---|
| کلرید فریک (محلول آبی ۲۹ درصد) | ۴ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۹۵ میلی‌لیتر |
| اسید هیدروکلریک غلیظ | ۱ میلی‌لیتر |

برای تهیه محلول کاری ویگرتس آهن هماتوکسیلین، محلول‌های A و B را به مقدار مساوی با یک‌دیگر مخلوط می‌کنند.

c. **محلول متانیل زرد**[3]

| | |
|---|---|
| متانیل زرد | ۲۵۰ میلی‌گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |
| اسیداستیک گلایسال | ۰/۲۵ میلی‌لیتر |

d. **محلول رنگ موسی کارمین**

1- Mayer's mucicarmine 2- Weigert's iron hematoxylin
3- Metanil yellow solution



| | |
|---|---|
| کارمین | ۱ گرم |
| کلرید آلومینیوم بدون آب | ۰/۵ گرم |
| آب مقطر | ۲ میلی‌لیتر |

محلول رنگ موسی کارمین را در یک لوله آزمایش کوچک تهیه می‌کنند و به مدت ۲ دقیقه با شعله حرارت می‌دهند. سپس محلول را با ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل ۵۰ درصد رقیق و پس از ۲۴ ساعت فیلتره می‌کنند. محلول کاری، در زمان استفاده، از طریق رقیق‌سازی محلول ذخیرهٔ فوق، به نسبت ۱ به ۴ با آب جاری، تهیه می‌شود. این محلول سیاه رنگ و نسبتاً غلیظ است.

**روش کار**

گسترش‌های بافتی تهیه شده از نمونه‌های بالینی مشکوک را از طریق قرار دادن در زایلن، الکل خالص، الکل ۹۵ درصد و آب مقطر پارافین‌زدایی، آبگیری و مجدداً آبدهی می‌کنند. در صورت نیاز، رسوب جیوه را می‌توان با محلول ید، حذف کرد. لام را برای رنگ‌آمیزی به مدت ۷ دقیقه در محلول کاری ویگرتس هماتوکسیلین قرار می‌دهند و سپس مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه با آب جاری می‌شویند. در ادامه، لام را مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه یا بیشتر، در محلول موسی کارمین رقیق شده قرار می‌دهند. در این مرحله، لام کنترل (لام دارای گسترش تهیه شده از بافت حاوی کریپتوکوکس نئوفورمنس) را برای اطمینان از صحت رنگ‌آمیزی، پس از گذشت ۳۰ دقیقه در زیر میکروسکوپ بررسی می‌کنند. لام‌های نمونه و کنترل را با آب مقطر می‌شویند و به مدت ۶۰ ثانیه در داخل محلول رنگ‌آمیزی متانیل زرد قرار می‌دهند. سپس لام را به سرعت در آب مقطر می‌شویند و برای مدت بسیار کوتاه در اتانل ۹۵ درصد غوطه‌ور می‌سازند. در پایان، لام را در دو ظرف الکل مطلق آبگیری و پس از شفاف سازی با زایلن در ۲ تا ۳ مرحله، با لامل و محلول مناسب مونته می‌کنند. لام، از نظر وجود سلول‌های مخمّری دارای کپسول قرمز ـ صورتی رنگ، در زیر میکروسکوپ بررسی خواهد شد.

**رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف**[1]

روش رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف یکی از روش‌های مناسب رنگ‌آمیزی نمونه‌های بالینی و بافتی قارچ‌شناسی است. در این روش، قارچ به رنگ قرمز مایل به ارغوانی[2] در می‌آید و زمینه به رنگ سبز روشن دیده می‌شود.

1- Periodic acid schiff (PAS) 2- Purplish-red

ترکیب

a. **محلول پریودیک اسید**

| | |
|---|---|
| پریودیک اسید | ۵ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

محلول پریودیک اسید را در ظرف تیرهٔ دربسته تهیه و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند.

b. **محلول فوشین بازی**

| | |
|---|---|
| فوشین بازی | ۰/۱ گرم |
| اتیل الکل خالص | ۵ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۹۵ میلی‌لیتر |

ابتدا اتیل الکل و آب مقطر را در یک ظرف تیره مخلوط می‌کنند و سپس فوشین بازی را به آن می‌افزایند و محلول را به خوبی مخلوط می‌کنند. در ظرف را محکم می‌بندند و محلول به‌دست آمده تا زمان استفاده در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند.

c. **محلول متابی‌سولفیت سدیم**

| | |
|---|---|
| سدیم متابی‌سولفیت | ۱ گرم |
| هیدروکلریک اسید (۱ نرمال) | ۱۰ میلی‌لیتر |
| آب مقطر | ۱۹۰ میلی‌لیتر |

ابتدا هیدروکلریک اسید را در یک ظرف تیره به آب مقطر می‌افزایند و پس از اضافه کردن سدیم متابی‌سولفیت به محلول، آن‌را به خوبی مخلوط می‌کنند. این محلول نیز باید در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود.

d. **رنگ لایت گرین**

| | |
|---|---|
| لایت گرین (فرم کریستاله) | ۰/۲ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |
| اسید استیک گلاسیال | ۰/۲ میلی‌لیتر |

e. **آلبومین تخم مرغ مایرز**

| | |
|---|---|
| سفیدهٔ تخم مرغ | ۵۰ میلی‌لیتر |
| گلیسرول | ۵۰ میلی‌لیتر |

سفیدهٔ تخم مرغ و گلیسرول را با یک‌دیگر مخلوط می‌کنند و از چند لایه گاز استریل عبور می‌دهند. افزودن یک تکه از کریستال تیمول[1] از رشد قارچ در مخلوط فوق جلوگیری خواهد کرد.

1- Thymol



**روش تهیه (گسترش مستقیم)**

ابتدا گسترشی از نمونه روی لام تهیه و آن‌را با استفاده از حرارت تثبیت می‌کنند. لام را به مدت ۶۰ ثانیه در داخل اتیل الکل خالص قرار می‌دهند. در نمونه‌هایی نظیر پوسته، مو و ناخن، می‌توان لام را پیش از تهیه گسترش به مخلوط آلبومین ـ گلیسرول آغشته کرد. این عمل به تثبیت نمونه روی لام کمک می‌کند. لام را پس از زمان مورد نظر از اتیل الکل خارج می‌کنند و بلافاصله به مدت ۵ دقیقه در محلول پریودیک اسید ۵ درصد قرار می‌دهند. در ادامه، لام را به مدت ۲ دقیقه با آب جاری می‌شویند و برای ۲ دقیقه در داخل محلول فوشین بازی قرار می‌دهند. سپس لام را برای ۳ تا ۵ دقیقه در داخل محلول متابی سولفیت سدیم غوطه‌ور می‌سازند و در ادامه به مدت ۵ دقیقه آن‌را با آب جاری می‌شویند. لام را به مدت ۵ ثانیه در محلول لایت گرین قرار می‌دهند و در ادامه، آن‌را به مدت ۵ تا ۱۰ ثانیه با آب‌جاری می‌شویند. لام را به فواصل ۵ ثانیه به‌ترتیب در داخل الکل ۸۵ درصد، ۹۵ درصد و خالص قرار می‌دهند و پس از قرار دادن در زایلن، آن‌را با یک محلول مونته کننده و لامل مونته می‌کنند.

**رنگ‌آمیزی ویرتز (روش تغییریافتهٔ شفر ـ فولتون)[1]**

رنگ‌آمیزی ویرتز به روش تغییریافتهٔ شفر- فولتون برای بررسی تولید آسکوسپور در مخمّرها بسیار مناسب است. در این روش، آسکوسپور به رنگ آبی ـ سبز در می‌آید، در حالی که بخش رویشی قارچ به رنگ قرمز دیده می‌شود.

ترکیب

a. **محلول آبی مالاشیت گرین ۵ درصد**

| | |
|---|---|
| مالاشیت سبز | ۵ گرم |
| آب مقطر | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

ابتدا پودر مالاشیت گرین را در آب مقطر می‌ریزند و تا زمان حل شدن کامل، به آرامی حرارت می‌دهند. سپس محلول رنگ را با استفاده از فیلتر صاف می‌کنند.

b. **محلول استوک ۲/۵ درصد فوشین بازی**

| | |
|---|---|
| فوشین بازی | ۲/۵ گرم |

1- Wirtz stain ; schaeffer-fulton modified

| | |
|---|---|
| اتانول | ۱۰۰ میلی‌لیتر |

برای تهیه محلول کاری فوشین بازی، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول استوک ۲/۵ درصد را با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق می‌کنند.

**روش کار**

ابتدا گسترشی از مخمّر را با قرار دادن آن در قطره‌ای از آب مقطر، تهیه می‌کنند. گسترش را پس از خشک شدن آن در هوا، با استفاده از حرارت تثبیت می‌کنند. لام را مدت ۶۰ تا ۹۰ ثانیه در محلول آبی ۵ درصد مالاشیت سبز قرار می‌دهند و ۳ الی ۴ بار تا زمان شروع تبخیر رنگ از روی لام، حرارت می‌دهند. در صورت نیاز، در این مرحله، مالاشیت گرین اضافی باید روی لام ریخته شود. لام را به مدت ۶۰ ثانیه با آب جاری می‌شویند و به مدت ۳۰ ثانیه در محلول کاری فوشین بازی ۰/۲۵ درصد به عنوان رنگ زمینه قرار می‌دهند. در ادامه، لام را با آب جاری می‌شویند و در هوا خشک می‌کنند. در پایان لام را از نظر وجود آسکوسپور با عدسی روغنی میکروسکوپ، بررسی می‌کنند.

**معرف دی‌آزونیوم بلو B**[1]

از معرف دی‌آزونیوم بلو B برای تفکیک و متمایز کردن مخمّرهای با تمایل آسکومیستی از مخمّرهای با تمایل بازیدیومیستی استفاده می‌شود.

**ترکیب**

| | |
|---|---|
| دی آزونیوم بلو B | ۱۵ میلی‌گرم |
| بافر تریس (۰/۲۵ مولار، pH ۷) | ۱۵ میلی‌لیتر |

**روش تهیه**

پودر دی‌آزونیوم بلو B را در بافر تریس حل و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند. معرف حداکثر تا ۳۰ دقیقه پس از تهیه باید مصرف شود. در صورتی که رنگ معرف به رنگ زرد تیره در آید، بی‌فایده و بیهوده خواهد بود.

1- Diazonium blue B reagent



## روش‌های حفظ و نگهداری قارچ‌ها

آزمایشگاه‌های تحقیقاتی باید برای هدف‌های آموزشی و پژوهشی، کشت‌های مربوط به قارچ‌های بیماری‌زا و ساپروفیت را حفظ و نگهداری کنند. هرنوع ایزولهٔ قارچی تحت بررسی باید در گروه قارچ‌های نگهداری شده در آزمایشگاه قرار گیرد. در این موارد، قارچ‌ها باید به صورتی نگهداری شوند که علاوه بر حفظ توانایی حیات آنها، از تخریب، تغییر یا موتاسیون قارچی نیز جلوگیری شود. در ادامه، برخی از رایج‌ترین تکنیک‌های نگهداری قارچ‌ها در شرایط آزمایشگاهی بررسی خواهند شد.

**انتقال مکرر (دوره‌ای) روی محیط‌های جامد شیب‌دار**[1]

بیشتر قارچ‌ها را می‌توان به صورت زنده و با روش محیط جامد شیب‌دار نگهداری کرد. در این روش، اسپورهای به‌دست آمده از کشت‌های کهنه با فاصله‌های زمانی منظم به محیط‌های شیب‌دار تازه منتقل می‌شوند. هرچند این روش یک روش مشکل و وقت‌گیر است، اما تاکنون بسیاری از قارچ‌ها در سراسر جهان به همین ترتیب، در آزمایشگاه نگهداری شده‌اند. روش محیط جامد شیب‌دار، بویژه در قارچ‌های شدیداً اسپورزا[2] نظیر گونه‌های *آسپرژیلوس* و *پنی‌سیلیوم* و همچنین بیشتر گونه‌های مخمّری، روشی مناسب است. البته، در این روش احتمال ایجاد شدن آلودگی، از بین رفتن توانایی حیات قارچ، آلوده شدن به جرب‌ها و در پایان از دست رفتن ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک یک قارچ وجود دارد. روش کشت دوره‌ای روی محیط جامد شیب‌دار، برای نگهداری دراز مدت درماتوفیت‌ها، قارچ‌های رنگی بیماری‌زا، هیستوپلاسما کپسولاتوم، بلاستومایسس درماتیتیدیس، کوکسیدیوئیدس ایمیتیس و پاراکوکسیدیوئیدس برازیلینسیس مناسب نیست. انتقال دوره‌ای این قارچ‌ها در محیط‌های کشت، یا از بین رفتن توانایی اسپورزایی در دوره‌های دراز مدت، همراه خواهد بود. در انتخاب نوع محیط کشت، محیطی مطلوب‌تر خواهد بود که بتواند تولید کونیدیوم یا اسپور را به شدت تحریک کند و زمینه‌ای برای تولید شدن میسلیوم‌های هوایی ایجاد نکند. برای به حداقل رساندن

1- Agar slant method 2- Highly sporulating fungi

زمینه‌های تولید شدن میسلیوم استریل[1] در کشت‌های مجدد، حجم تلقیحی قارچ باید از توده‌های کونیدیوم تشکیل شده و بدون میسلیوم‌های هوایی و رویشی باشد. از محیط‌های گوناگون برای کشت انواع قارچ‌ها استفاده شده است که در این میان، محیط‌های سابورو اگار و عصارهٔ مالت اگار برای مخمّرها مناسب هستند. هرچند، کشت‌ها را می‌توان در دمای ۲۴ تا ۲۶ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری کرد، اما توانایی حیات بیشتر قارچ‌ها، در پی نگهداری کشت‌ها در دمای ۲ تا ۵ درجهٔ سانتی‌گراد، افزایش خواهد یافت و در این شرایط، تغییرات قارچی به حداقل میزان ممکن خواهد رسید. در صورتی که قارچ‌های رشته‌ای در دمای آزمایشگاه نگهداری شوند، هر ۴ تا ۶ هفته باید یک‌بار به محیط کشت تازه منتقل شوند. در کشت‌های نگهداری شده در یخچال، انتقال کشت‌ها هر ۳ تا ۶ ماه یک‌بار کافی خواهد بود. بیشتر کشت‌های نگهداری شده در لوله‌های در پیچ‌دار، به ۱ یا حداکثر ۲ بار تجدید کشت در هر سال نیاز خواهند داشت. البته، در پیچ لوله‌ها، برای جلوگیری از ایجاد شدن شرایط بی‌هوازی باید به صورت نیم پیچ قرار داده شود. لوله‌های درپیچ‌دار برای نگهداری قارچ‌های موکورال پیشنهاد نمی‌شود؛ زیرا برخی از این قارچ‌ها نسبت به دی‌اکسیدکربن جمع شده در لوله‌های مذکور، طی دورهٔ نگهداری، حساس هستند. پیش از تجدید کشت باید از خالص بودن پرگنه‌های قارچی مطمئن شد. در برخی موارد، پرگنه‌های باکتریایی در زیر پرگنه‌های قارچی، بدون این‌که شناسایی شوند، مخفی می‌مانند و حتی مواردی از وجود توأم دو قارچ متفاوت، با میزان رشد و رنگ مشابه گزارش شده است. اسپورهای قارچی هوابرد، بویژه در مورد قارچ‌هایی نظیر *پنی‌سیلیوم*، *آسپرژیلوس* و *کلادوسپوریوم* می‌توانند به پنبه و برچسب لوله‌های آزمایش متصل شوند و پس از رشد،کشت‌ها را آلوده کنند. به همین دلیل، آزمایشگاه باید به طور مرتب از نظر آلودگی‌های قارچی کنترل شود. قبل از هر تجدید کشت، باید از خلوص کشت‌ها، با استفاده از یک میکروسکوپ مطمئن شد.

1- Sterile mycelia



**نگهداری در آب مقطر**

بسیاری از قارچ‌های رشته‌ای و مخمّرهای بیماری‌زا را می‌توان به مدت بیش از ۱ سال بدون ایجاد شدن هرگونه تغییر مورفولوژیک یا فیزیولوژیک در آب مقطر نگهداری کرد. اولین بار، محققی به نام کاستلانی[1] در حین مطالعهٔ قارچ‌های بیماری‌زای انسان، این روش را ابداع کرد و تا به امروز نیز از روش مزبور برای نگهداری قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی و سایر قارچ‌ها استفاده می‌شود. روش نگهداری در آب مقطر ساده است و نیازی به تجهیزات گران قیمت ندارد. در این روش، ابتدا ۲ تا ۳ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، به کشت فعال قارچ مورد نظر اضافه می‌شود و اسپورهای قارچی با یک لوپ استریل از سطح محیط کشت جدا می‌شوند. سوسپانسیون اسپور تهیه شده در آب مقطر با یک پیپت استریل به ویال‌های استریل برچسب‌دار منتقل می‌شود. در مخمّرها، کمتر از یک لوپ مخمّری به طور مستقیم از پرگنه مخمّر به یک ویال حاوی ۲ تا ۳ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، انتقال داده می‌شود. درب ویال‌ها برای جلوگیری از ایجاد شدن آلودگی و تبخیر آب مقطر باید به خوبی محکم شود. ویال‌ها را می‌توان در یخچال یا در دمای آزمایشگاه نگهداری کرد. در صورتی که حجم آب داخل ویال از ۲ میلی‌لیتر کمتر شود، باید به ویال آب مقطر استریل اضافه کرد. برای تهیه کشت مجدد از قارچ‌های نگهداری شده در آب مقطر، ابتدا ویال حاوی قارچ را با الکل تمیز می‌کنند و پس از تکان دادن و بازکردن درب ویال، میزان ۰/۱ تا ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچی در شرایط استریل به محیط‌های کشت جامد یا مایع انتقال داده می‌شود. کشت‌های مجدد را در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند.

**روش انجماد**

منجمد کردن قارچ‌ها در لوله‌های کشت یکی از روش‌های سادهٔ نگهداری قارچ‌ها است. برای این کار، کشت‌های در مرحلهٔ رشد فعال قارچ‌های رشته‌ای را در لوله‌های درپیچ‌دار حاوی محیط کشت جامد شیب‌دار کشت می‌دهند و در فریزر ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌کنند.

1- Castellani

بسیاری از قارچ‌ها را می‌توان بدون ایجاد شدن هرگونه تغییر اساسی به مدت یک سال، با این روش نگهداری کرد. مخمّرهای مختلف را می‌توان با وجود گلیسرول منجمد کرد. برای این کار، سلول‌های مخمّری روی اسلانت‌های سابورو اگار به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت کشت داده می‌شوند و سوسپانسیون مخمّری در ویال‌های کوچک حاوی ۱ تا ۲ میلی‌لیتر گلیسرول ۵۰ درصد تهیه می‌شود. ویال‌ها در دمای ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند. برای تهیه کشت مجدد، مقدار ناچیزی از کشت منجمد شده با یک آنس تلقیح استریل از لوله‌های کشت یا ویال‌ها خارج و روی محیط‌های قارچ‌شناسی کشت داده می‌شود. کشت‌ها تا زمان رشد در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند. لوله‌ها و ویال‌ها برای جلوگیری از ذوب شدن، باید بلافاصله به فریزر برگردانده شوند.

**انجماد و ذخیره‌سازی در نیتروژن مایع**

روش انجماد در نیتروژن مایع، برای نگهداری طولانی مدت بیشتر قارچ‌های بیماری‌زا بسیار ایده‌آل است. بسیاری از قارچ‌ها اعم از مولد و غیرمولد اسپور را می‌توان با این روش به مدت ۵ سال و یا بیشتر، بدون پدید آمدن هر نوع اثر سوء جانبی، نگهداری کرد. برای این کار، ابتدا ۱ میلی‌لیتر از محیط انجماد گلیسرول لاکتوز[1] به محیط کشت قارچ منتقل می‌شود. سپس، اسپورها و قطعات میسلیوم با یک لوپ استریل از سطح پرگنه جدا می‌شوند. در پایان، حدود ۰/۵ تا ۰/۸ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور به ویال‌های در پیچ‌دار ۲ میلی‌لیتری از جنس پلی‌پروپیلن منتقل می‌شود و ویال‌ها در محفظه‌های مخصوص فلزی در داخل نیتروژن مایع با دمای ۱۹۰- درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده می‌شوند. برای کشت مجدد قارچ، ویال‌ها را به سرعت در بن‌ماری ۳۷ درجه از حالت انجماد خارج می‌کنند (در عرض ۱ تا ۲ دقیقه) و سوسپانسیون اسپور را با یک پیپت استریل به محیط کشت مناسب انتقال می‌دهند. از معایب این روش، هزینهٔ بالا و فضای زیاد مورد نیاز برای نگهداری تجهیزات یخچالی است.

1- Glycerol lactose freezing medium



**روش پوشانیدن با روغن**

در روش پوشانیدن با روغن[1]، یک پرگنه تازه رشد کرده روی محیط کشت شیب‌دار مناسب، با روغن معدنی استریل[2] پوشانیده می‌شود. از این روش برای نگهداری برخی از زایگومیست‌ها و فرم‌های میسلیومی ناتوان در اسپورزایی به فراوانی استفاده می‌شود. برای این‌که رطوبت راکاملاً از روغن معدنی حذف کنند، نمونهٔ روغن را ابتدا به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد اتوکلاو می‌کنند و سپس برای ۱ تا ۲ ساعت دیگر در یک فور خشک در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار می‌دهند. روغن پس از سرد شدن، در شرایط استریل و با یک پیپت به محیط کشت انتقال داده می‌شود، به طوری که تمام سطح شیب‌دار کشت قارچ را فرا گیرد و تا مرز یک سانتی‌متر بالاتر از رأس سطح شیب‌دار برسد. کشت‌های پوشانیده شده با روغن به روش فوق، در وضعیت عمودی (ایستاده) در دمای آزمایشگاه یا در یخچال نگهداری می‌شوند. با این روش، بسیاری از قارچ‌های بیماری‌زا را می‌توان به مدت ۲ سال، بدون ایجاد شدن هر نوع تغییر، نگهداری کرد. این روش برای نگهداری طولانی مدت درماتوفیت‌ها پیشنهاد نمی‌شود.

**روش آبگیری و انجماد در خلأ (لیوفلیزاسیون)**

روش آبگیری و انجماد در خلأ[3] برای نگهداری قارچ‌های رشته‌ای و مخمّرها بسیار مناسب است. این روش علاوه بر اقتصادی بودن، مناسب‌ترین روش نگهداری برای بسیاری از قارچ‌ها است. از مزایای این روش، در مقایسه با سایر روش‌ها، حفظ توانایی حیات کشت‌های قارچی برای مدت زمان طولانی، ایجاد حداقل تغییرات در استرین قارچ، نبودن امکان آلودگی کشت‌ها و نیاز به فضای بسیارکم برای نگهداری آمپول‌های کشت است. با استفاده از این روش، می‌توان بسیاری از قارچ‌های رشته‌ای و مخمّرهای بیماری‌زا را به مدت ۳۰ تا ۴۰ سال (حداقل ۱۰ سال) بدون ایجاد شدن هر نوع تغییر بویژه در توانایی حیات قارچ نگهداری کرد. در این روش، محلول ۲۰ درصد (وزنی - حجمی) از شیر بدون چربی استریل[4] در شرایط استریل به کشت بالغ قارچ در لوله آزمایش اضافه و سطح پرگنه برای تهیه سوسپانسیون اسپور با یک لوپ استریل هم

1- Oil-sealing technique 2- Sterile mineral oil
3- Freeze-drying or lyophilization 4- Skim milk

زده می‌شود. سوسپانسیون اسپور باید حاوی حداقل $10^6$ اسپور در هر میلی‌لیتر باشد. در ادامه، با یک پیپت مویین، حجمی برابر ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور را به لوله‌های شیشه‌ای پیرکس استریل با ابعاد ۶ در ۱۰۰ میلی‌متر منتقل می‌کنند. مشخصات قارچ مورد نظر باید با جوهر مخصوص روی این لوله‌ها ثبت شود. دهانهٔ لوله‌ها، برای جلوگیری از آلوده شدن، با پنبهٔ استریل مسدود می‌شود. لوله‌های حاوی سوسپانسیون اسپور، برای منجمد شدن در محفظهٔ انجماد حاوی اتانل ۹۵ درصد یا اتیلن گلایکول منومتیل اتر[1] با دمای ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده می‌شوند. برای لیوفلیزه کردن نمونه‌ها بدون ایجاد اختلال در توانایی حیات قارچ، میزان خلأ نهایی باید در سطح پایین‌تر از ۵۰ میکرومتر جیوه (ترجیحاً ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر جیوه) تنظیم شود. پس از لیوفلیزاسیون، دهانهٔ لوله‌ها، برای حفظ شرایط خلأ با دستگاه مخصوص مسدود و لوله‌ها در یخچال نگهداری می‌شوند.

### تهیهٔ مونته‌های دائمی قارچی

همان‌طور که در فصل‌های گذشته نیز مطرح شد، قارچ‌ها را به روش کشت روی لام[2]، روی محیط‌های کشت مناسب در سطح لام میکروسکوپی کشت می‌دهند و در این شرایط، ساختمان‌های تولید مثلی قارچ به بهترین وجه دیده می‌شوند. لام‌های تهیه شده به این روش را می‌توان تا مدتها نگهداری کرد. با این‌حال، احتمال تبخیر لاکتوفنل کاتن بلو از فضای بین لام و لامل، یا از هم گسیختگی ساختمان‌های قارچی در اثر فشارهای وارده روی لامل وجود دارد. به همین دلیل، می‌توان از لام‌های تهیه شده از طریق کشت روی لام، مونته‌های دائمی تهیه کرد. در این‌باره معمولاً به صورت زیر عمل می‌شود.

۱ـ لام تهیه شده از طریق روش کشت روی لام را به مدت چند دقیقه در محلول کولودیون[3] غوطه‌ور می‌سازند.

۲ـ لام را پس از خارج کردن از محلول کولودیون خشک می‌کنند و برای رنگ‌آمیزی به مدت ۱۵ دقیقه در داخل محلول لاکتوفنل کاتن بلو قرار می‌دهند.

1- Ethylene glycol monomethyl ether
2- Slide culture method
3- Collodion



۳ـ عمل آبگیری طی مراحل مختلف، شامل شستشو در اتانل ۷۰ درصد (بسیار سریع)، اتانل ۹۵ درصد (۱۰ دقیقه)، استن ـ زایل (۱۰ دقیقه) و زایل انجام می‌شود.

۴ـ پس از اتمام مرحلهٔ آبگیری، بلافاصله مادهٔ مونته کننده نظیر اِنتلان[1] و یا کانادا بالزام[2] و لامل را روی لام قرار می‌دهند و بدین ترتیب، یک لام میکروسکوپی دائمی تهیه می‌کنند.

## آزمون فصل ششم

**۱ـ استفاده از کدام یک از معرف‌های زیر، در مواردی که تعداد ارگانیسم در نمونه اندک است، مناسب‌تر است؟**

الف) کالکوفلوئور سفید — ب) هیدروکسید پتاسیم ـ جوهر پارکر

ب) هیدروکسید پتاسیم ـ دی‌متیل سولفوکساید — د) جوهر هندی

**۲ـ در کدام یک از روش‌های رنگ‌آمیزی زیر، قارچ به رنگ قهوه‌ای تیره و زمینهٔ بافت به رنگ سبز روشن است؟**

الف) پریودیک اسید شیف — ب) گریدلی فانگوس

ج) گوموری متنامین سیلور — د) موسی کارمین مایر

**۳ـ مناسب‌ترین و معمول‌ترین محلول مونته کنندهٔ قارچ‌ها کدام است؟**

الف) پتاس ـ فلوکسین — ب) معرف شیرز

ج) لاکتوفوشین — د) لاکتوفنل کاتن بلو

**۴ـ کدام یک از روش‌های رنگ‌آمیزی زیر برای بررسی تولید آسکوسپور در مخمرها ایده‌آل است؟**

الف) گیمسا — ب) ویرتز

ج) کالکوفلوئور سفید — د) گریدلی فانگوس

**۵ـ در کدام یک از روش‌های نگهداری قارچ‌ها در شرایط آزمایشگاهی، حداقل تغییرات در استرین‌های قارچی نگهداری شده ایجاد خواهد شد؟**

الف) پوشانیدن توسط روغن — ب) انجماد و ذخیره‌سازی در نیتروژن مایع

ج) لیوفلیزاسیون — د) نگهداری در آب مقطر

**۶ـ از کدام یک از ترکیبات زیر در تهیهٔ مونته‌های دائمی قارچی استفاده می‌شود؟**

الف) کولودیون — ب) سیکلوهگزامید

ج) مرتیولات سدیم — د) گلیسرول



## منابع:


۱ـ امامی تبریزی، مهین (۱۳۷۳) تشخیص و جداسازی عامل قارچی بیماریزای لارو زنبور عسل در ایران. *مجلهٔ پژوهش و سازندگی*، شمارهٔ ۲۵، صفحات ۱۰۵ تا ۱۰۷.

۲ـ شمس قهفرخی، معصومه (۱۳۷۷) مقایسهٔ ساختار آنتی‌ژنی گونه‌های میکروسپورم *کانیس* و *اکوئینوم* و ارزیابی نقش آنها در بروز پاسخ‌های ایمنی، *رسالهٔ دکتری تخصصی* (P.h.D) *قارچ شناسی*، دانشکدهٔ علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس.

۳ـ علّامه، عبدالامیر؛ رزّاقی ابیانه، مهدی (۱۳۸۰) *مایکوتوکسین‌ها*، انتشارات دانشگاه امام حسین (ع)، چاپ اول.

4. Ainsworth, G.C., and Austwick, P.K.C.(1973) *Fungal Diseases of Animals*, 2nd Edition., C.A.B. London.

5. Baron, E.J., and Finegold, S.M. (1990) *Diagnostic Microbiology*, Eighth Edition, CRACOM Corporation, Baltimore.

6. Bossche, H. V., Odds, F. C., and Kerridge, D. (1993) *Dimorphic Fungi in Biology and Medicine.* Plenum Press, New York.

7. Bruno, D.W., and Wood , B.P. (1999) *Saprolegnia* and other oomycetes. In : *Fish Diseases and Disorders*; Volume 3: *viral, bacterial and fungal infections* (Woo, P.T.K. and D.W.Bruno), CAB International Publishing , New York, pp. 599- 660.

8. Chandler, F. W., Kaplan, W., and Ajello, L. (1989) *A Colour Atlas and Textbook of the Histopathology of Mycotic Diseases*. Wolf Medical Publications Ltd., London.

9. Collier, L., Balows,A., and Sussman , M. (1998) *Topley & Wilsons Microbiology and Microbial Infections;* Volume4*: Medical Mycology* (Ajello,L.,and R.J. Hay),Ninth Edition, Oxford University Press, Inc., New York.

10. Deacon, J.W. (1997) *Modern Mycology*. Third Edition, Blackwell

Science, Ltd., New York.

11. Dvorak, J., and Otcenasek, M. (1969) *Mycological Diagnosis of Animal Dermatophytoses*. DR. W Junk N.V., Publishers,.

12. Evans , E.G.V., and Richardson, M.D. (1989) *Medical Mycology, a practical approach* . IRL Press, Eynsham, Oxford.

13. Fisher, F., and Cook, N.B. (1998) *Fundamentals of Diagnostic Mycology* . Harcourt Brace Jovanovich, Inc., Philadelphia.

14. Fraser, C.M., Bergeron, J.A., Mays, A., and Aiello, S. E. (1991) *The Merck Veterinary Manual*. Seventh Edition, MERCK & CO., Inc., Rahway, N.J., U.S.A.

15. Frey , D., Oldfield, R.J., and Bridger, R.C. (1985) *A Colour Atlas of Pathogenic Fungi*. Wolf Medical Publications, Ltd., 3rd impression.

16. Gow, N.A.R., and Gadd, G.M., (1995) *The Growing Fungus*. Chapman & Hall, London.

17. Howard, D.H. (1985) *Fungi Pathogenic for Humans and Animals* (in three parts), Marcel Dekker, Inc., New York, Basel.

18. Khulbe, R.D. (2001) *A Manual of Aquatic Fungi (Chytridiomycetes & Oomycetes)*, Daya Publishing House, Delhi,India.

19. Kibbler, C.C., Mackenzie, D.W.R., and Odds, F.C. (1996) *Principles and Practice of Clinical Mycology*. John Wiley & Sons, Chichester.

20. Kratochrilova, A.K. (1990) *Yeast and Yeast-like Organisms*. VCH Publishers, New York.

21. Kwon-Chung, K.J., and Bennett, J.E. (1992) *Medical Mycology*. Lea & Febiger, Inc., Philadelphia, London.

22. Malik, B.S. (1992) *A Laboratory Manual of Veterinary Bacteriology, Mycology and Immunology*. Third Edition, CBS Publishers, Shahdara, Delhi, India.



23. McGinnis, M.R. (1980) *Laboratory Handbook of Medical Mycology*.Academic Press, Inc., New York.

24. McVicar, A.H. (1999) *Ichthyophonus* and related organisms. In: *Fish Diseases and Disorders*; Volume 3: *viral , bacterial and fungal infections* (Woo, P.T.K and D.W.Bruno), CAB International Publishing, New York , pp. 661-688.

25. Noga, E. J. (1993) Fungal and algal diseases of temprate freshwater and estuarine fishes. In: *Fish Medicine* (Stoskopf, M.K.), W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 278-283.

26. Orpin, C.G. (1993) Anaerobic Fungi. In: *Stress Tolerance of Fungi* (Jennings, D.H.) ,Academic Press, London, pp. 257-273.

27. Pascoe, R.R.R., and Knottenbelt, D. C. (1999) *Manual of Equine Dermatology*. WB. Saunders, New York.

28. Pitt, J.I., and Hocking, A.D. (1999) *Fungi and Food Spoilage*. Second Edition, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.

29. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., and Carter, G.R. (1994) *Clinical Veterinary Microbiology*. Section 3: *Mycology*. Wolf Publishing, pp. 367-438.

30. Rebell, G., and Taplin, D. (1970) *The Dermatophytes*. 2nd edition, University of Miami Press, Coral Gables, Florida.

31. Ribes, J.A., Vanover-sams , C.L., and Baker, D.J. (2000) Zygomycetes in human disease. *Clinical Microbiology Reviews*. **13**: *236-301*.

32. Rippon , J.W. (1988) *Medical Mycology*: *The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. Harcourt Brace Jovanotvich , Inc., Philadelphia.

33. Roberts , G. D. (1990) Laboratory methods in basic mycology, In: *Diagnostic Microbiology* (Baron, E.J. and Finegold, M.) , 8th edition, The

C.V. Mosby Company, ST. Louis, pp. 681-775.

34. Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C. and Filtenborg, O. (2000) *Introduction to Food and Airborne Fungi.* 6th Edition, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, The Netherlands.

35. Turner, W.B., and Aldridge, D.C. (1983) *Fungal Metabolites II.* Academic Press, London.

36. Wentworth, B.B. (1988) *Diagnostic Procedures for Mycotic and Parasitic Infections.* 7th Edition, American Public Health Association, Washington, DC.

37. Anaissie E.J., Mc Ginnis,R.M. and pfaller,M.A.(2003) *Clinical Mycology*, First Edition, Churchill Livingstone, New York.

38. Allameh,A.,Razzaghi Abyaneh,M.,Shams,M,Rezaee,M.B. and Jaimand,K (2001) Effects of neem Leaf extract on production of aflatoxines and activities of falty acied synthase, isocitrate dehydrogenase and glutathione s-transferase in *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia* **154**:*79-84.*

39. Shams Ghahfarokhi:, M., Goodarzi, M., Razzaghi Abyaneh,M., Al - Tiraihi, T. and Seyedipour, G.(2004) Morphological evidences for onion - induced growth inhibition of Trichophyton *rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. *Fitoterapia* **75***: 645-655.*

40.Rasooli, I. and Razzaghi - Abyaneh, M.(2004) Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* . *Food Control* **15***:479-483.*

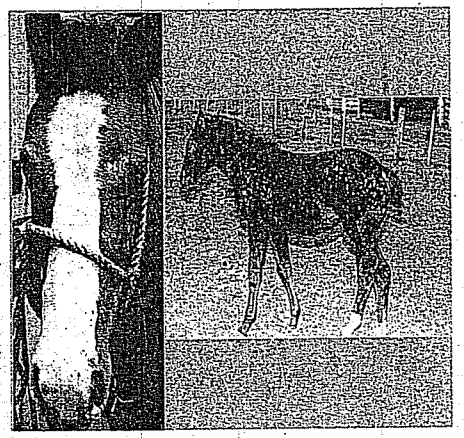
41. Razzaghi - Abyaneh, M., Allameh,A., Tiraihi,T., Shams - Ghahfarokhi, M. and Ghorbanian ,M.(2005) Morphological atterations in toxigenic *Aspergillus parasiticus* exposed to neem (*Azadirachta indica*) Leaf and seed aqueous extracts. *Mycopathologia* **159:** *565-570*



# تصاویر رنگی ضمیمه



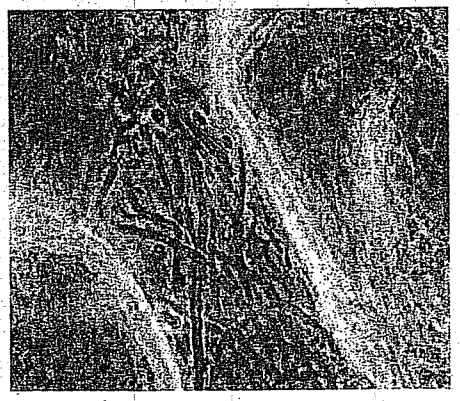
تصویر ۱-۱



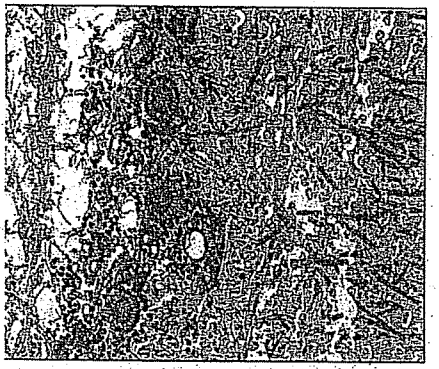
تصویر ۱-۲



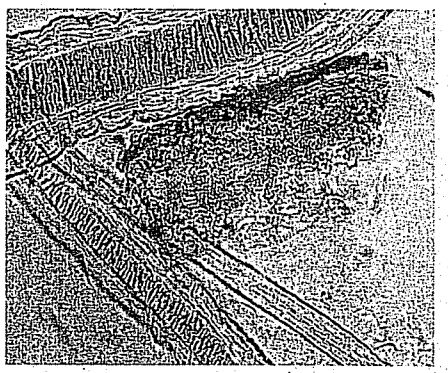
تصویر ۱-۳



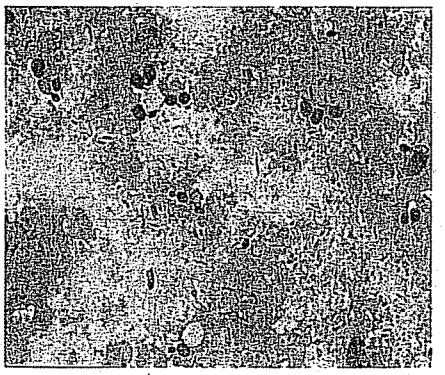
تصویر ۱-۴



تصویر ۱-۶



تصویر ۱-۵

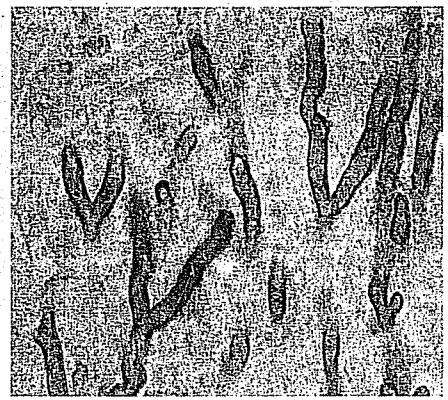


تصویر ۱-۸

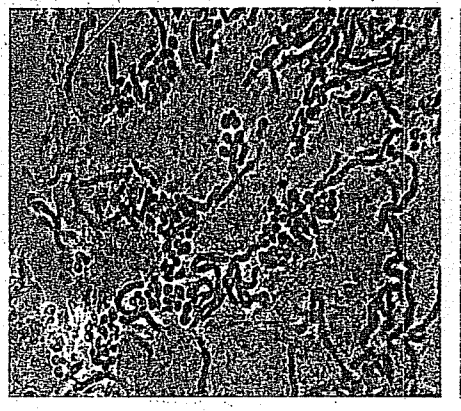


تصویر ۱-۷

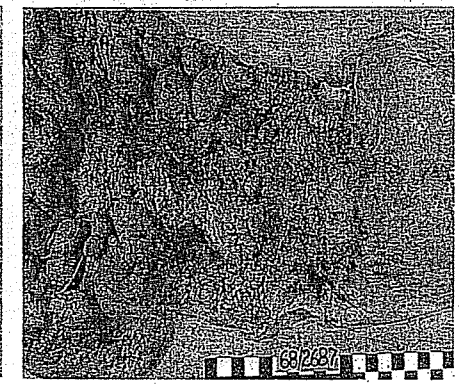




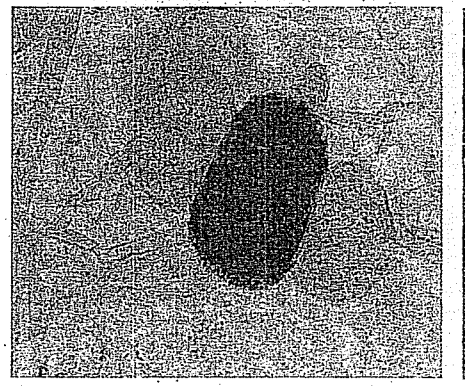
تصویر ۱-۱۰



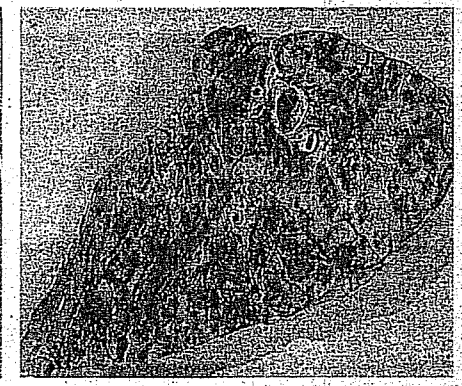
تصویر ۱-۹



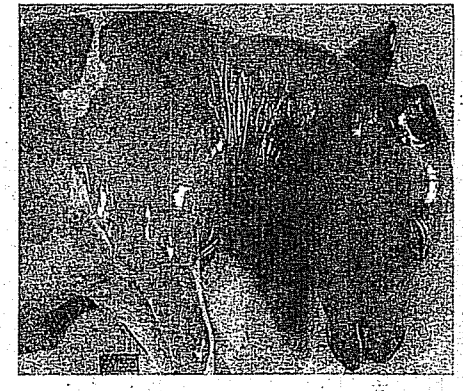
تصویر ۱-۱۲



تصویر ۱-۱۱



تصویر ۱-۱۴



تصویر ۱-۱۳

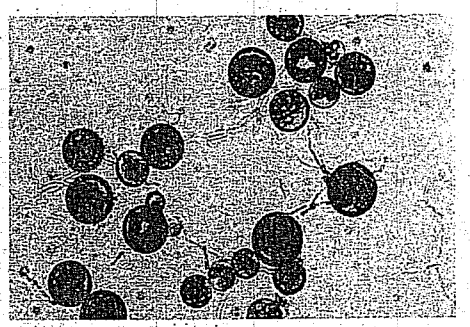


تصویر ۱-۱۶



تصویر ۱-۱۵

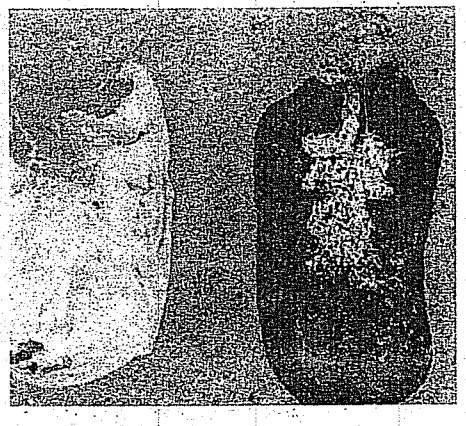




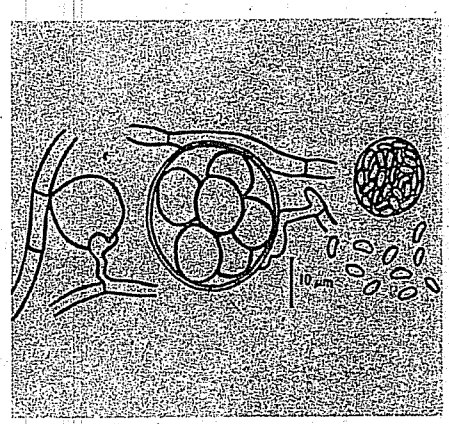
تصویر ۱-۱۸



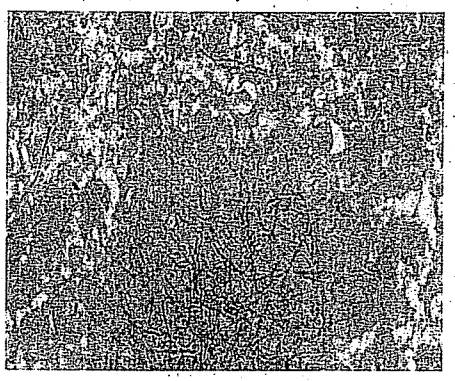
تصویر ۱-۱۷



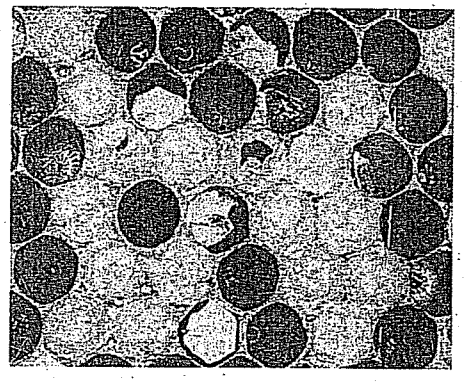
تصویر ۱-۱۹



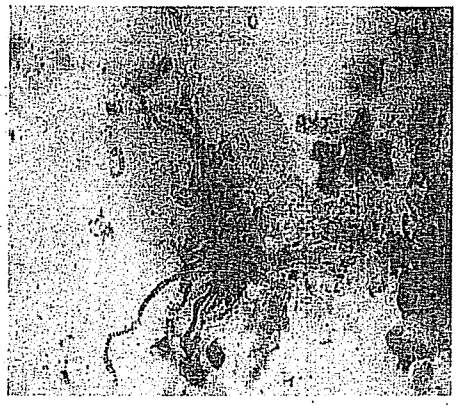
تصویر ۱-۱۸



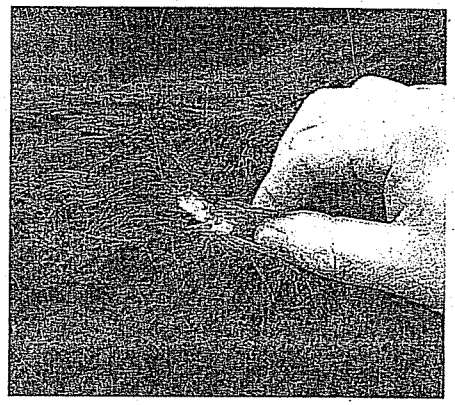
تصویر ۲-۱



تصویر ۱-۲۰

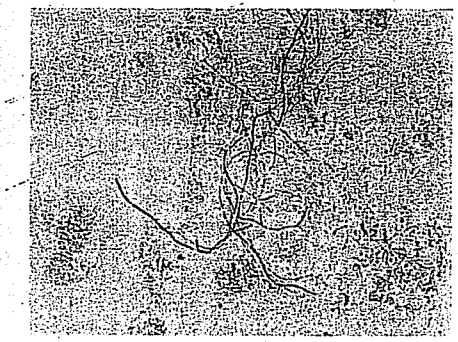


تصویر ۲-۳

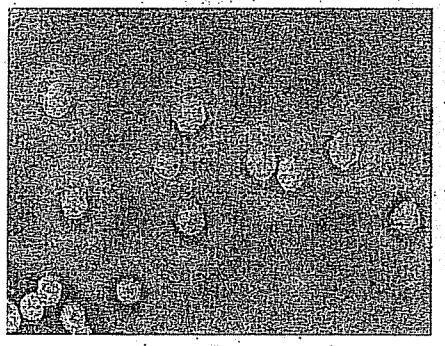


تصویر ۲-۲

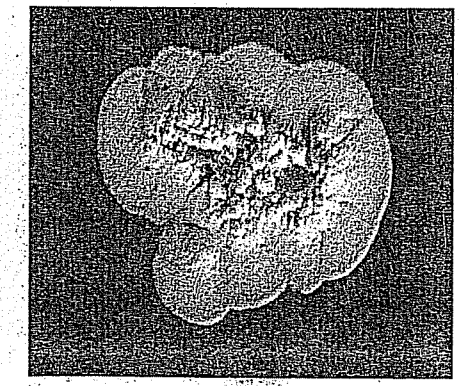




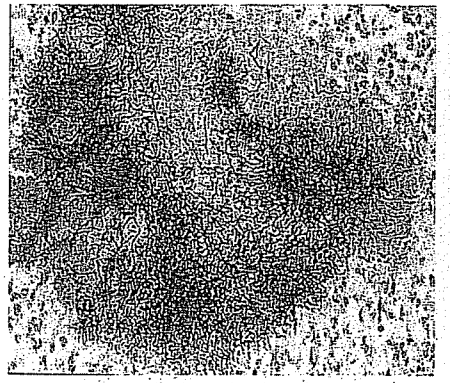
تصویر ۲-۵



تصویر ۲-۴



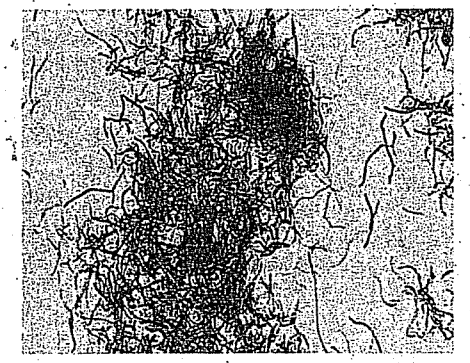
تصویر ۲-۷



تصویر ۲-۶



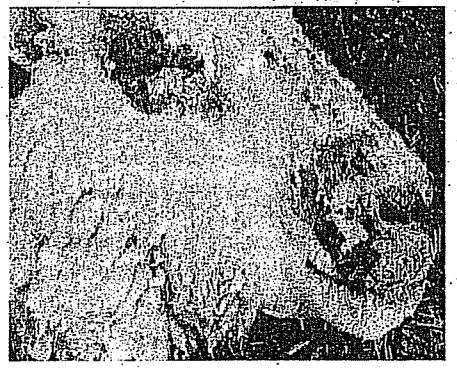
تصویر ۲-۱



تصویر ۲-۸



تصویر ۲-۱



تصویر ۲-۲



## واژه‌نامه


| | | |
|---|---|---|
| *Absidia* | ۵۰ | آبسیدیا |
| Adiaspore | ۷۵ | آدیاسپور |
| Adiaspiromycosis | ۷۵ | آدیا سپیرومایکوزیس |
| Latex particle agglutination test | ۳۹ | آزمون اگلوتیناسیون ذرات لاتکس |
| Allergic bronchopulmonary aspergillosis | ۲۴ | آسپرژیلوز برونکوپولموناری آلرژیک |
| Invasive aspergillosis | ۲۵ | آسپرژیلوز مهاجم |
| Chronic necroziting aspergillosis | ۲۴ | آسپرژیلوز نکروزه دهندهٔ مزمن |
| Aspergillosis | ۲۲،۲۶ | آسپرژیلوزیس |
| *Aspergillus parasiticus* | ۲۲ | آسپرژیلوس پارازیتیکوس |
| *Aspergillus terreus* | ۲۲ | آسپرژیلوس ترئوس |
| *Aspergillus flavus* | ۲۲ | آسپرژیلوس فلاووس |
| *Aspergillus fumigatus* | ۲۲،۲۶،۲۷،۱۶۰ | آسپرژیلوس فومیگاتوس |
| *Aspergillus niger* | ۲۲ | آسپرژیلوس نایجر |
| *Aspergillus nidulans* | ۲۲ | آسپرژیلوس نیدولانس |
| *Ascosphaera apis* | ۸۸،۸۹،۹۰ | آسکوسفرا آپیس |
| *Aphanomyces* | ۸۰ | آفانومایسس |
| Aflatoxicosis | ۲۲ | آفلاتوکسیکوز |
| *Acantamoeba polyphaga* | ۳۶ | آکانتامویا پلی‌فاگا |
| *Epidermophyton* | ۹ | اپیدرموفیتون |
| *Sporothrix schenckii* | ۵۷،۵۹،۱۶۱ | اسپوروتریکس شنکئی |
| Sporotrichosis | ۵۷،۵۹ | اسپوروتریکوزیس |
| Sclerotic body | ۶۰،۱۶۲ | اسکلروتیک بادی |
| *Scopolariopsis* | ۱۳۳،۱۵۰ | اسکوپولاریوپسیس |
| *Scolecobasidium humicola* | ۶۱ | اسکولکوبازیدیوم هومیکولا |
| Ectothrix | ۱۷ | اکتوتریکس |
| *Actinomyces israelii* | ۱۰۱ | اکتینومایسس اسرائیلی |
| *Actinomyces bovis* | ۱۰۰،۱۰۵ | اکتینومایسس بوویس |
| *Actinomyces suis* | ۱۰۰ | اکتینومایسس سوئیس |
| *Actinomyces viscosus* | ۱۰۰ | اکتینومایسس ویسکوزوس |

| | | |
|---|---|---|
| *Actinomyces hordeovulneris* | ۱۰۰ | اکتینومایسس هوردئوولنزیس |
| Actinomycosis | ۱۰۰،۱۰۴ | اکتینومایکوزیس |
| Actinomycetes | ۱۰۰،۱۰۳ | اکتینومیست‌ها |
| *Exophiala pisciphila* | ۶۱،۸۵ | اگزوفیالا پیسی‌فیلا |
| *Exophiala jeanselmei* | ۶۱،۸۴ | اگزوفیالا جنسلمئی |
| *Exophiala salmonis* | ۶۱،۸۴ | اگزوفیالا سالمونیس |
| Facial eczema | ۱۲۶ | اگزمای صورت |
| Exophialiosis | ۸۴ | اگزوفیالیوزیس |
| *Emmonsia parva* | ۷۶ | امونسیا پاروا |
| *E.parva var.parva* | ۷۶ | امونسیا پاروا واریتهٔ پاروا |
| *E.parva var. crescens* | ۷۶ | امونسیا پاروا واریتهٔ کرسنس |
| *Emmonsia brasiliensis* | ۷۷ | امونسیا برازیلینسیس |
| *Emmonsia ciferrina* | ۷۷ | امونسیا سیفرینا |
| Entomophthoromycosis | ۵۵ | انتوموفتوورومایکوزیس |
| Endothrix | ۱۷ | اندوتریکس |
| Anthropophilic | ۷ | انسانگرا |
| *Ichthyophonus hoferi* | ۶۵،۸۱،۸۶ | ایختیوفانوس هوفری |
| Ichthyophoniasis | ۸۶ | ایختیوفونیازیس |
| *Basidiobolus ranarum* | ۵۵ | بازیدیوبولوس راناروم |
| *Bipolaris spicifera* | ۶۱ | بای‌پولاریس اسپیسیفرا |
| *Branchiomyces demigrans* | ۸۴ | برانشیومایسس دمیگرانس |
| *Branchiomyces sanguines* | ۸۴ | برانشیومایسس سانگوئینس |
| Branchiomycosis | ۸۴ | برانشیومایکوزیس |
| *Blastomyces dermatitidis* | ۴۷،۱۶۰ | بلاستومایسس درماتیتیدیس |
| Blastomycosis | ۴۷ | بلاستومایکوزیس |
| Chalkbrood disease | ۸۸ | بیماری لاروگچی |
| *Prototheca zopfii* | ۹۲ | پروتوتکا زوپفی |
| *Prototheca wickerhamii* | ۹۲ | پروتوتکا ویکرهامی |
| *Paecilomyces lilacinus* | ۷۰ | پسیلومایسس لیلاسینوس |
| *Paecilomyces Variotii* | ۷۰ | پسیلومایسس واریوتی |





| | | |
|---|---|---|
| Periodic acid - schiff | ۲۷،۱۶۰،۲۱۷ | پریودیک اسید شیف |
| Mycotic pneumonia | ۲۳،۲۷ | پنومونی قارچی |
| *Penicillium marneffei* | ۷۱ | پنی‌سیلیوم مارنفئی |
| *Pithomyces chartarum* | ۱۲۶ | پیتومایسس چارتاروم |
| *Pythium insidiosum* | ۷۲،۷۹ | پیتیوم اینسیدیوزوم |
| Pityrosporosis | ۴۰ | پیتروسپوروزیس |
| *Pityrosporum canis* | ۴۰ | پیتروسپوروم کانیس |
| Pythiosis | ۷۲ | پیتیوزیس |
| *Trichosporon capitatum* | ۴۳ | ترایکوسپورون کاپیتاتوم |
| *Trichosporon cutaneum* | ۴۳ | ترایکوسپورون کوتانئوم |
| *Trichosporon beigelii* | ۴۲ | ترایکوسپورون بژلی |
| *Trichophyton* | ۹،۱۸ | ترایکوفیتون |
| Indian ink | ۱۶۳ | جوهر هندی |
| Zoophilic | ۷ | حیوانگرا |
| Geophilic | ۷ | خاک گرا |
| *Dactylaria constricta* | ۶۱ | داکتیلاریا کانستریکتا |
| Dermatophytes | ۳،۹،۱۱،۱۵۰،۱۶۱ | درماتوفیت‌ها |
| Dermatophylosis | ۴،۱۰۶ | درماتوفیلوزیس |
| *Dermatophylus congolensis* | ۱۸،۱۰۶،۱۰۸،۱۱۲ | درماتوفیلوس کونگولنسیس |
| *Rhizopus* | ۵۰ | رایزوپوس |
| *Rhizomucor* | ۵۰ | رایزوموکور |
| Haalstra's method | ۱۱۱ | روش هالسترا |
| Dichotomous hyphae | ۲۵،۲۷ | ریسه‌های دو شاخه |
| Rhinosporidiosis | ۶۵ | رینوسپوریدیوزیس |
| *Rhinosporidium seeberi* | ۶۵،۱۶۲ | رینوسپوریدیوم سیبری |
| Zygospore | ۴۹ | زایگوسپور |
| Zygomycosis | ۴۹،۵۳ | زایگومایکوزیس |
| Zygomycetes | ۵۳،۱۶۰ | زایگومیست‌ها |
| *Geotrichum candidum* | ۷۴ | ژئوتریکوم کاندیدوم |
| Geotrichosis | ۷۴ | ژئوتریکوزیس |

| | | |
|---|---|---|
| *Saprolegnia parasitica* | ۷۸،۸۲،۸۳ | ساپرولگنیا پارازیتیکا |
| *Saprolegnia diclina* | ۸۲ | ساپرولگنیا دیکلینا |
| Saprolegniasis | ۷۸ | ساپرولگنیازیس |
| *Pseudallesheria boydii* | ۶۳ | سودآلشریا بویدی |
| Favus | ۱۷ | فاووس |
| Phenol oxidase | ۳۶ | فنل اکسیداز |
| *Phoma* | ۶۱ | فوما |
| *Phialophora verrucosa* | ۶۱ | فیالوفورا وروکوزا |
| *Filobasidiella neoformans* | ۳۵ | فیلوبازیدیلّا نئوفورمنس |
| Dematiaceous fungi | ۶۰ | قارچ‌های رنگی |
| *Calcofluor white* | ۱۵۶،۱۵۷،۲۰۶ | کالکوفلوئور سفید |
| *Candida albicans* | ۲۹،۳۲،۳۳،۱۵۷،۱۶۰ | کاندیدا آلبیکنس |
| *Candida parapsilosis* | ۳۰ | کاندیدا پاراپسیلوزیس |
| *Candida tropicalis* | ۳۰ | کاندیدا تروپیکالیس |
| *Candida krusei* | ۳۰ | کاندیدا اکروزوئی |
| *Candida guillermondi* | ۳۰ | کاندیدا اگیلرموندی |
| *Candida lusitani* | ۳۰ | کاندیدا لوسیتانی |
| Candidiasis | ۲۹،۳۲ | کاندیدیازیس |
| CHROM agar Candida | ۳۴ | کروم اگار کاندیدا |
| Chromoblastomycosis | ۶۰ | کروموبلاستومایکوزیس |
| Cryptococcosis | ۳۵،۳۸ | کریپتوکوکوزیس |
| *Cryptococcus albidus* | ۳۵ | کریپتوکوکوس آلبیدوس |
| *Cryptococcus laurentii* | ۳۵ | کریپتوکوکوس لائورنتی |
| *Curvularia geniculata* | ۶۳ | کورولاریا جنیکولاتا |
| *Coccidioides immitis* | ۴۵،۱۶۱ | کوکسیدیوئیدس ایمیتیس |
| Coccidioidomycosis | ۴۵ | کوکسیدیوئیدومایکوزیس |
| *Conidiobolus coronatus* | ۵۵ | کونیدیوبولوس کروناتوس |
| Griseofulvin | ۲۱ | گریزوئوفولوین |
| Strawberry foot rot | ۱۰۶ | گندیدگی سم توت‌فرنگی شکل |
| Gomori methenamine silver (GMS) | ۱۶۰،۲۱۰ | گوموری متنامین سیلور |





| | | |
|---|---|---|
| Lactophenol cotton blue | ۲۱۳ | لاکتوفنل کاتن بلو |
| Epizootic lymphangitis | ۶۷ | لمفانژیت واگیردار |
| *Loboa loboi* | ۶۶ | لوبوآ لوبوئی |
| Lobomycosis | ۶۶ | لوبومایکوزیس |
| *Malassezia pachydermatis* | ۴۰،۱۶۰ | مالاسزیا پاکی‌درماتیس |
| *Madurella grisea* | ۶۳ | مادورلّا گریزآ |
| *Madurella mycetomatis* | ۶۳ | مادورلّا مایستوماتیس |
| *Malassezia furfur* | ۴۲ | مالاسزیا فورفور |
| Mycetoma | ۶۳ | مایستوما |
| Mycotxicosis | ۳،۱۲۳،۱۲۵،۱۲۷ | مایکوتوکسیکوزیس |
| Mycotoxin | ۳،۱۲۳،۱۲۵،۱۲۷ | مایکوتوکسین |
| Dermatophyte test medium (DTM) | ۱۹،۱۳۹،۱۷۷ | محیط آزمون درماتوفیت |
| Germ tube test medium | ۱۷۸ | محیط آزمون لولهٔ زایا |
| Brain - heart infusion agar | ۱۳۹،۱۶۹ | محیط اگار عصارهٔ مغز و قلب |
| Kelley's agar | ۱۸۰ | محیط اگار کلی |
| Modified converse medium | ۱۷۳ | محیط تبدیلی تغییر یافته |
| Aspergillus differential medium | ۱۶۹ | محیط تفریقی آسپرژیلوس |
| Czapek's agar | ۱۷۶ | محیط چاپکس اگار |
| Rice grain medium | ۱۸۹ | محیط دانهٔ برنج |
| mDixon's agar | ۴۱،۱۹۹ | محیط دیکسون تغییر یافته |
| Potato dextrose agar | ۱۸۷ | محیط سیب‌زمینی‌دکستروز اگار |
| Malt extract agar | ۱۸۲ | محیط عصارهٔ مالت اگار |
| Yeast extract - Phosphate agar | ۱۹۵ | محیط عصارهٔ مخمّر ـ فسفات اگار |
| Phenoloxidase medium | ۱۸۸ | محیط فنل اکسیداز |
| Modified martin's medium | ۱۸۲ | محیط مارتین تغییریافته |
| Sabouraud dextrose | ۱۴۰،۱۹۰ | محیط سابورودکستروز اگار |
| Hartley digest agar | ۶۸ | محیط هارتلی دایجست اگار |
| *Mortierella* | ۵۰ | مورتیرلّا |
| *Mortierella wolfii* | ۵۱،۵۲ | مورتیرلّا ولفی |
| Mayer's mucicarmine | ۲۱۶ | موسی کارمن مایر |

| | | |
|---|---|---|
| *Microsporum* | ۹ | میکروسپوروم |
| Natamycin | ۲۱ | ناتامایسین |
| *Nocardia asteroides* | ۱۱۳،۱۱۵،۱۱۷،۱۶۵ | نوکاردیا آستروئیدس |
| *Nocardia brasiliensis* | ۱۱۳ | نوکاردیا برازیلینسیس |
| *Nocardia caviae* | ۱۱۳ | نوکاردیا کاوه‌ای |
| Nocardiosis | ۱۱۳ | نوکاردیوزیس |
| *Histoplasma farciminosum* | ۶۷ | هیستوپلاسما فارسیمینوزوم |
| *Histoplasma capsulatum* | ۴۳،۱۶۱ | هیستوپلاسما کپسولاتوم |
| Histoplasmosis | ۴۳،۶۸ | هیستوپلاسموزیس |