مقایسه روش‌های مختلف کشت و رنگ آمیزی در تشخیص قارچ‌ها

دکتر شهلا شادزی[1]، دکتر صفر علی طالاری[2]، دکتر مصطفی چادگانی پور[1]، دکتر هادی صمصام شریعت[1]، جواهر چعاوی زاده[1]، دکتر جواد هاشمی[1]

خلاصه:

سابقه و هدف: به‌طور کلی تشخیص عفونت‌های قارچی به روش‌های مختلف کشت ورنگ‌آمیزی انجام می‌گیرد، به همین منظوراین پژوهش جهت مقایسه روش‌های مختلف کشت ورنگ‌آمیزی درتشخیص قارچ‌ها صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: تحقیق برروی ۱۰ گونه از قارچ‌های ساپروفیت (فرصت طلب)، درماتوفیت و مخمر که اغلب ازعوامل شایع بیماری‌های قارچی می‌باشند، با استفاده از رنگ آمیزی‌های لاکتوفنل تعیین شده بود، به روش توصیفی در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان طی‌سال ۱۳۷۳ به عمل‌آمد. برای کشت روی لام قارچ‌ها از محیط‌های واترآگار، سابرودکستروز آگار، میکوبیوتیک آگار، کورن میل آگار و نوترینت آگار و باروش‌های ریدل، میکرواسلاید،چاهکی، چسب اسکاچ وروش‌اصلاح شده واترآگار مورد بررسی قرار گرفت. لامل‌های تهیه شده مذکوربه‌طریقه‌گرم، گیمسا، رایت گیمسا، کاینیون‌اسیدفاست، متیلن‌بلو، رایت، آکریدین، کالکوفلورسفید، کونگو قرمز، پریودیک اسید شیف(PAS) ولاکتوفنل کاتن‌بلو رنگ‌آمیزی و با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها: تحقیق نشان‌دادعوامل‌قارچی‌سپه دونیوم،تریکوتسیوم،میکروسپوروم ژیپسئوم،کاندیداآلبیکانس، آسپرژیلوس وریزوپوس درروش‌اصلاح‌شده‌وا ترآگارومیکرواسلایدرشدبیشتری‌نسبت‌به‌سایرروش‌هاداشتند.درمورد اپیدرموفیتون‌فلوکوزوم روش‌اصلاح‌شده‌واترآگارودر مورد تریکوفیتون متاگروفیتیس روش ریدل مناسب‌تر بودند. در روش اصلاح شده گرم کاندیدا آلبیکانس، میکروسپوروم ژیپسئوم، اپی‌درموفیتون فلوکوزوم، تریکوفیتون متاگروفیتیس، نوکاردیا و اکتینومایس، در روش گیمسا سپه دونیوم، تریکوتسیوم، میکرو سپوروم ژیپسئوم، کاندیدا آلبیکانس، آسپرژیلوس، نوکاردیا و ریزوپوس، در روش اصلاح شده کاینیون اسیدفاست نوکاردیا، در روش متیلن بلو کلیه قارچ‌ها رنگ پذیری متوسط، در رنگ آمیزی رایت کاندیداآلبیکانس، در روش PAS کاندیدا آلبیکانس و آسپرژیلوس، در روش آکریدین نارنجی و روش کونگو قرمز کاندیدا آلبیکانس، اپیدرموفیتون فلوکوزوم بیشترین رنگ پذیری را داشتند.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل، روش‌های رنگ آمیزی گرم و گیمسا به عنوان بهترین روش رنگ آمیزی‌وکشت به‌روش اصلاح شده واترآگار به‌عنوان روش‌های انتخابی درتشخیص‌عفونت‌های‌قارچی‌تعیین گردید.

واژگان کلیدی: گرم، گیمسا، واترآگار، کاینیون‌اسید فاست، رایت

[1] - دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمان اصفهان- گروه قارچ و انگل شناسی

[2] - دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمان کاشان- گروه انگل شناسی

مقدمه

تشخیص بیماری‌های عفونی به ویژه قارچها به دلیل شیوع بالا، مسری بودن و ایجاد معضلات بزرگ بهداشتی در جوامع انسانی از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشند اما با پیشرفت‌های علمی و استفاده مستمر از روش‌های جدید علوم پزشکی پیش‌گیری و کنترل راههای انتقال، ایمن سازی و دارو درمان وضعیت فوق را به نحو مساعدی تغییر داده است(۱،۲).

افزایش شیوع عفونت‌های قارچی فرصت طلب در بین بیماران پیوندی و افراد با ایمنی سرکوب شده تهدیدکننده می‌باشد. درماتوفیت‌ها با شیوع ۲۰-۱۰ درصد کل جمعیت دنیا زمینه را جهت بررسی و مطالعه آنان فراهم نموده است(۲).

امروزه با وجود آزمایش های هیستولوژیک، بیوشیمیایی، تغذیه‌ای و سرولوژیک قابل دسترس، شناسایی قارچ‌های بیماری‌زا اغلب با تشخیص ویژگی‌های ساختمانی آنها در کشت و با مطالعات میکروسکوپی انجام می‌گیرد(۳)، مشاهده ساختار میکروسکوپی قارچ در حالت طبیعی و شناسایی عناصر قارچی با توجه به ویژگی‌های مرفولوژیک جهت تشخیص قارچ‌های بیماری‌زا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. قارچ‌های فرصت طلب و پاتوژن شایع و متداول در ایران، در آزمایشگاه‌ها به طور معمول با رنگ آمیزی گرم، لاکتوفنل کاتن بلو یا با استفاده از پتاس ۱۰ درصد به عنوان شفاف کننده تشخیص داده می‌شود و برای تعیین گونه، محیط‌های کشت Scc برای درماتوفیت‌ها و محیط S برای سایر قارچ‌ها به کار می‌رود.از آنجایی که تشخیص سریع میکروسکوپی جهت درمان بیماران از اهمیت خاصی برخوردار است، دستیابی به یک روش رنگ آمیزی مطلوب و مناسبترین روش کشت بر روی لام مزیتی در تشخیص و درمان بیماران است.

مطالعات دانشمندان در خصوص روش‌های کشت و رنگ آمیزی قارچ‌ها نتایج متفاوتی را نشان داده است به طوری که در مواردی گونه‌های خاصی از قارچ‌ها به روش کشت و رنگ آمیزی ویژه‌ای بهتر شناسایی می‌شوند(۴،۵،۶).

این مطالعه به منظور مقایسه روش‌های مختلف کشت و رنگ آمیزی در تشخیص قارچ‌های ساپروفیت، درماتوفیت و مخمرها در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان طی سال ۱۳۷۳ انجام گرفت.

نتایج این تحقیق می‌تواند در درمان افراد آلوده، پیش‌گیری از عفونت در جامعه و تعیین گونه‌های ارگانیسم در منطقه و در نهایت برنامه ریزی‌های مدونی در آزمایشگاه‌های قارچ شناسی جهت تشخیص صحیح و به موقع آنان مفید باشد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی، از ۱۰ گونه قارچ (ساپروفیت، درماتوفیت و مخمر) با ۱۱ روش رنگ آمیزی و ۷ روش کشت جهت مشاهده ساختمان کامل میکروسکوپی قارچ‌ها و درجه رشد آنان استفاده گردید. قارچ‌های مورد مطالعه شامل :

Candida Albicans, Micrsporum gypseum, Trichothecium SP, Sepedonium SP Trichophyton mentagrophytes, Epidermophyton fluccosum, Rhizopus SP, Aspergillus SP, Nocardia SP, Actinomyces SP

می‌باشند که قبلا از بیماران جدا، انتخاب و خالص سازی شدند و سپس، آزمایش مستقیم به روش تهیه لام با استفاده از هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد و یا محلول لاکتوفنل کاتن بلو به عمل می‌آمد.

برای خالص سازی نمونه‌ها از محیط سابورودکستروز آگار استفاده می‌شد سپس نمونه بر

روی محیط کشت‌های Scc و S، نوترینت آگار و کورن میل آگار به اضافه یک درصد نوبین ۸۰ با pH=۵/۶ کشت داده می‌شد و در دمای اتاق و رطوبت ۵۰-۴۰ درصد، به مدت ٤ تا ٦ هفته انکوبه می‌گردید(۷،۸) و هفته‌ای سه بار محیط‌های کشت از نظر رشد عوامل قارچی مورد بررسی قرار می‌گرفتند و پس از آن، از نمونه‌های رشد یافته کشت روی لام با روش‌های :

Hole making or culture chamber ,Ridle modified, Water agar, Scotch tape , Henrici

انجام گرفت . نمونه‌ها برای تشخیص درماتوفیتها بر روی محیط Scc و برای ساپروفیت‌ها در محیط S کشت داده شد (۹) .

پس از تهیه لام با روش‌های مذکور، رنگ آمیزی به روش های گرم ، گیمسا، کاپنیون اسید فاست، متیلن بلو، رایت، رایت گیمسا، پریودیک اسید شیف و لاکتوفنل کاتن بلو، آکریدین، کالکوفلورسفید، کونگو قرمز به عمل آمد.

در این مطالعه در صورتی که همه اجزای قارچ رنگ می‌پذیرفتند، عالی (۳+)، در صورتی‌که ۸۰ درصد اجزای آن رنگ پذیر بود ، خوب (۲+) و در صورتی که ۸۰- ۵۰ درصد رنگ پذیری داشتند ، متوسط (۱+) مد نظر قرار گرفتند .

محیط‌های مصرفی در این بررسی واتر آگار، سابورودکستروز آگار، میکوبیوتیک آگار ، کورن میل آگار از شرکت دیفکو و نوترینت آگار از شرکت مرک تهیه شد .

در روش کشت از نمونه‌های تازه و خالص استفاده می‌شد، به همین منظور نمونه‌ها به محیط های جدید سابورو دکستروز آگار انتقال می‌یافت. جهت کشت و پاساژ نمونه‌ها، لوله‌های کشت در پوش دار به کار می‌رفت و به مدت ٦-٤ هفته در حرارت اتاق نگهداری می‌شد . سپس از نمونه های خالص شده کشت روی لام به طرق واتر آگار، ریدل، نوار چسب اسکاچ، میکرو اسلاید، روش چاهکی، روش هنریسی (Henrici) و بالاخره روش کشت روی لام جهت نمایش مرفولوژی قارچ های مخمر مانند انجام می‌گرفت .

در این مطالعه بهترین درجه رشد در ظرف مدت ۱۵ روز عالی (۳+)، در ظرف مدت ۲۰ روز خوب (۲+) و در مدت بیش از ۲۰ روز متوسط (۱+) در نظر گرفته شد .

یافته‌ها

تحقیق برروی ۱۰ گونه قارچ و در ۲ روش کشت و ۱۱ روش رنگ‌آمیزی انجام گرفت . در جدول (۱) وضعیت کشت قارچ بر حسب روش کشت ارایه گردیده که روش اصلاح شده واتر آگار و میکرواسلاید به ترتیب در مقایسه با دیگر روش‌ها ، درجه رشد بیشتری را برای عوامل قارچی سپه دونیوم، تریکوتسیوم، میکروسپوروم ژیپسئوم، کاندیدا آلبیکنس، آسپرژیلوس و ریزوپوس از خود نشان دادند . در مورد اپیدرموفیتون فلوکوزم روش اصلاح شده واتر آگار به تنهایی و در مورد تریکوفیتون منتاگرو فایتیس به همراه روش ریدل رشد بیشتری را نشان داد .

جدول ۱- توزیع قارچ‌های مورد بررسی بر حسب وضعیت کشت به تفکیک روش کشت در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، سال ۱۳۷۳

قارچ / روش کشت	T.m	M.g	E.f	A	Rh	S	T	C.a	N
Water agar	+۳	+۳	+۳	+۳	+۳	+۳	+۳	+۳	+۳
Microslide culture	+۲	+۳	+۲	+۳	+۳	+۳	+۳	+۳	+۲
Riddel	+۳	+۲	+۳	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۱
Scotch Type	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۳
Hole making	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲
Yeast like	+۲	+۱	+۱	+۱	+۱	+۲	+۲	+۲	+۱
Henrici	+۲	+۱	+۱	+۱	+۱	+۲	+۲	–	+۱

Aspergillus SP = A E. fluccosum = E. f M . gypseum = M.g T.mentagrophytes = T . m
C .albicans = Ca Nocardia SP = N Trichothecium SP=T Rhizopus SP=Rh Sepedonium SP = S

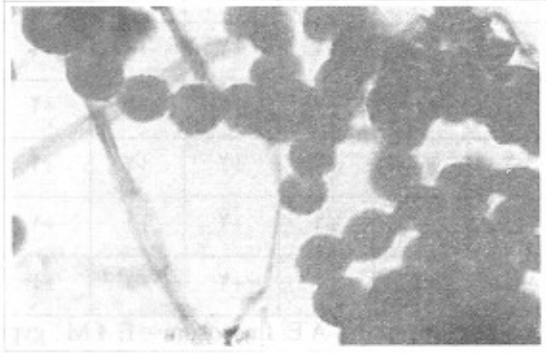
یافته‌های دیگر تحقیق نشان داد که میزان رنگ‌پذیری اجزای قارچ با استفاده از روش‌های مختلف رنگ‌آمیزی است، درجه رنگ‌پذیری دیواره یا محتویات سلول قارچهای مورد مطالعه متفاوت می‌باشد(جدول ۲).

جدول ۲ - توزیع قارچهای مورد مطالعه بر حسب رنگ‌پذیری به تفکیک نوع رنگ‌آمیزی در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، سال ۱۳۷۳.

قارچ / رنگ آمیزی	T.m	M.g	E.f	A	Rh	S	T	C.a	N	Act
Gram (Hucker M)	+۳	+۳	+۳	+۲	+۲	+۲	+۲	+۳	+۳	+۳
Giesma	+۲	+۳	+۲	+۳	+۳	+۳	+۳	+۳	+۳	+۲
Wright Giemsa	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۳	+۲	+۳	+۳	+۲
PAS	+۲	+۲	+۲	+۳	+۲	+۲	+۲	+۳	+۲	+۲
Wright	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۳	+۲	+۲
Lactophenol Catton blue	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۲
Kinyoun,s Acid fast	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۳	+۱
Methylen Blue	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱	+۱
Calcofluor White	–	–	+۱	+۳	–	+۱	–	+۲	+۱	–
Congored	–	–	+۲	–	–	+۲	–	+۲	+۱	–
Acridine Orange	–	–	+۲	–	–	+۱	–	+۲	+۱	–

Rhizopus SP=Rh Aspergillus=AE . fluccosum=E.f M.gypseum=M.g T mentagrophytes = T. m
Actinomyces = Act C.albicans = C.a Trichothecium=T Sepedoniun=S Nocardia = N

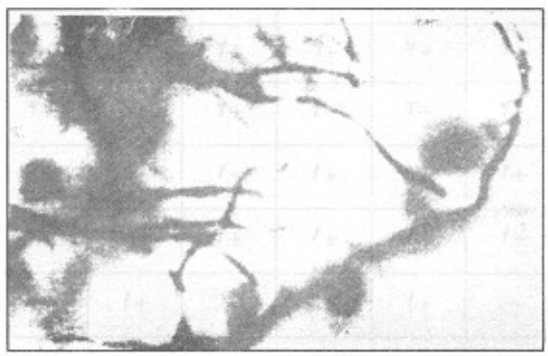
در روش اصلاح شده گرم(Hucker Modification)، کاندیدا آلبیکنس، میکروسپوروم ژیپسئوم، اپیدرموفیتون متاگروفایتیس، نوکاردیا و اکتینومایسس بیشترین درجه رنگ پذیری(۳+) ودر مورد آسپرژیلوس، ریزوپوس، سپه دونیوم و تریکوتسیوم درجه رنگ پذیری (۲+) مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱ - ساختمان میکروسکوپی Trichothecium (رنگ آمیزی Gram) (Huker modification)

در روش گیمسا، سپه دونیوم، تریکوتسیوم، میکروسپوروم ژیپسئوم، کاندیدا آلبیکنس، آسپرژیلوس، ریزوپوس و نوکاردیا بیشترین درجه رنگ پذیری (۳+) و در مورد اکتینومایسس، اپیدرموفیتون فلوکوزوم و تریکوفیتون متاکروفیتیس درجه خوب (۲+) مشاهده گردید.

در روش اصلاح شده کاینیون اسید فاست نوکاردیابیشترین درجه رنگ پذیری(۳+)ودرمورد بقیه قارچها کمترین درجه (۱+) دیده شد.(شکل ۲).

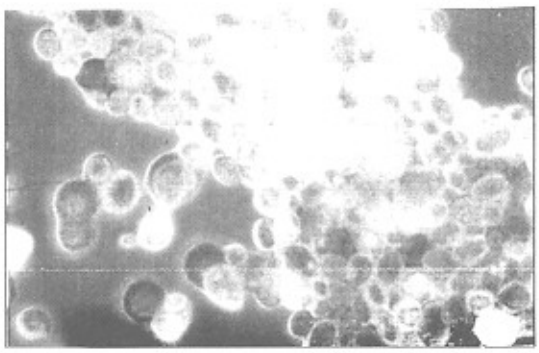


شکل ۲ - ساختمان میکروسکوپی Nocardia (رنگ آمیزی Kinyoun's Acid Fast) (modified)

درروش متیلن بلو، کلیه‌قارچ‌ها رنگ‌پذیری متوسط(۱+) نشان دادند،درروش رایت، درمورد کاندیدا آلبیکنس بیشترین درجه رنگ‌پذیری(۳+) ودر مورد بقیه قارچهادرجه خوب (۲+) مشاهده‌گردید . درروش پریودیک اسیدشیف کاندیدا آلبیکنس وآسپرژیلوس بیشترین درجه رنگ‌پذیری(۳+)و در موردبقیه‌قارچهادرجه خوب (۲+)دیده شد(شکل۳).

شکل ۳- ساختمان میکروسکوپی C.albicans (رنگ آمیزی PAS)

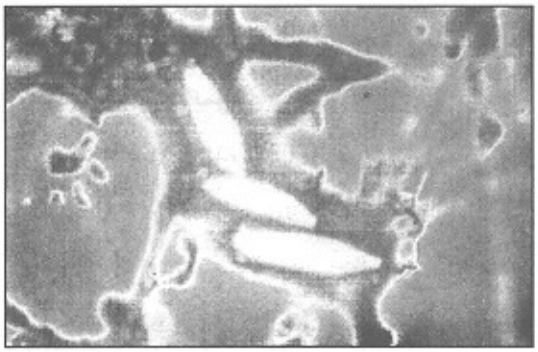
درروش لاکتوفنل کاتن بلو، کلیه قارچ‌ها دارای رنگ‌آمیزی خوبی بودند(۲+)،درروش کالکوفلور سفید درمورد آسپرژیلوس بیشترین درجه رنگ‌پذیری (۳+) و درمورد نوکاردیا، اپیدرموفیتون فلوکوزوم وسپه دونیوم کمترین درجه (۱+) به چشم خورد .درروش اکریدین نارنجی، اپیدرموفیتون فلوکوزوم وکاندیدا آلبیکنس بیشترین درجه رنگ‌پذیری [خوب (۲+)] ودر موردسپه‌دونیوم و نوکاردیاکمترین درجه [متوسط (۱+)] دیده شد. (شکل‌های ۴،۵).



شکل ٤- ساختمان میکروسکوپی C.albicance (رنگ آمیزی Acridine Orange)

در روش کونگو قرمز، کاندیدا آلبیکنس، ایپدرموفیتون فلوکوزوم و سپه دونیوم بیشترین رنگ‌پذیری [خوب (۲+)] و در مورد نوکاردیا کمترین درجه [متوسط (۱+)] دیده شد .

روش‌های اصلاح شده گرم و گیمسا در مقایسه با سایر روش‌های رنگ آمیزی ارجحیت دارند و می‌توان این دو روش را به عنوان بهترین روش معرفی نمود. در جدول (۳) بهترین روش‌ها رنگ آمیزی و کشت در مورد تک تک قارچ‌های مورد بررسی ذکر گردیده است.



شکل ۵- ساختمان میکروسکوپی M.gypseum (رنگ‌آمیزی Acridine Orange)

جدول ۳- بهترین روش‌های رنگ آمیزی و کشت به تفکیک نوع قارچ در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، سال ۱۳۷۳.

نوع قارچ	بهترین روش رنگ آمیزی	بهترین روش کشت
T.mentagrophytes	Gram(Hucker modification)	Water agar, Riddle method
M. gypseum	Gram, Giemsa (Hucker)	Water agar, Microculture
E. fluccosum	Gram (Hucker)	Water agar
Aspergillus	Giemsa,PAS, Calcofluor White	Water agar, Microculture
Rhizopus	Giemsa	Water agar, Microculture
Sepedonium	Giemsa, Wright-Giemsa	Water agar, Microculture
Trichothecium	Giemsa	Water agar, Microculture
C.albicans	Giemsa,PAS,Gram (Hucker) Wright, Wright-Giemsa	Water agar, Microculture
Nocardia	Giemsa, Gram (Hucker)Wright, Kinyoun Acid Fast, Wright – Giemsa	Water agar, Microculture
Actinomyces	Gram (Hucker)	

بحث

تحقیق نشان داد که برای قارچ‌های T.mentagrophytes و Nocardia SP و Actinomyces E.fluccosum و C.albicans بهترین روش رنگ آمیزی به روش اصلاح شده گرم و برای C.albicans ، Sepedonium SP، Aspergillus SP Trichothecium و Rhizopus SP بهترین روش رنگ آمیزی، Giesma و همچنین برای کلیه قارچ‌های مورد بررسی به جز Actinomyces SP و Nocardia SP بهترین روش کشت:

Microslid culture modified, Water agar بود.

در بررسی حاضر، در روش‌های کشت که از روش واترآگار استفاده شده بود به دلیل این که رطوبت به اندازه کافی و به طور یکنواخت جهت رشد قارچ تأمین می‌شد، در نتیجه اسپورزایی بهتری داشتند، همچنین واتر آگار را می‌توان حداقل به

مدت ۳ هفته بدون از دست دادن رطوبت در یخچال نگهداری نمود.

روش اصلاح شده واترآگار به دلیل سادگی و امکان استفاده از تعداد بیشتر لامل در یک پلیت و همچنین مقرون به صرفه بودن نسبت به سایر روش‌ها ارجحیت دارد(٦)، طبق مطالعات Harris اسپورزایی سوش‌های مورد بررسی حداکثر طی ۱۰ روز انجام گرفت و کیفیت اسپورزایی نمونه‌ها در این روش مطالعه بسیار خوب بود و تمام نمونه‌ها مورد بررسی سرعت و میزان رشد خوبی داشتند(٦)، در حالی که در روش‌های ریدل، چسب اسکاچ، هنریسی و روش کشت قارچ‌های مخمر مانند، به دلیل یکنواختی رطوبت در دوره انکوباسیون درجه رشد کمتری مشاهده گردید.

در رنگ آمیزی گرم طبق روش Bailey-Scotts (۸) عامل قارچی میکروسپوروم ژیپسئوم، اپیدرموفیتون فلوکوزوم، کاندیدا آلبیکنس، نوکاردیا، تریکوفیتون متاگروفیتیس، اکتینومایسس‌ها رنگ پذیری بسیار خوبی داشتند اما گونه‌های آسپرژیلوس، سپه دونیوم، تریکوتسیوم و ریزوپوس نسبت به سایر قارچ‌های مورد بررسی رنگ پذیری کمتری داشتند. علت تفاوت در رنگ پذیری قارچ‌های مختلف به دلیل تفاوت در ویژگی‌های دیواره سلولی آنها می‌باشد.

Halden و همکاران (۵) در تحقیق خود، تأثیر آن را بر درمانوفیت‌ها ۹۲ درصد گزارش کردند که این تفاوت را می‌توان به یکسان نبودن سویه‌های درمانوفیتی مورد استفاده در دو تحقیق نسبت داد.

در رنگ آمیزی اکریدین نارنجی، طبق روش Hick, Pickett, Chick, Bailey-Scott's (۸،۱۰،۱۱) اپیدر موفیتون فلوکوزوم و کاندیدا آلبیکنس رنگ پذیری خوب و گونه سپه دونیوم و نوکاردیا رنگ پذیری متوسطی داشتند و علت رنگ پذیری قارچ‌ها در این روش اتصال نوکلئیک اسید موجود در هسته آنها با اکریدین نارنجی می‌باشد.

در رنگ آمیزی کنگورد با استفاده از روش Slifkin, Yasaki (۱۳، ۱۲) اپیدرموفیتون فلوکوزوم، کاندیدا آلبیکنس و گونه سپه دونیوم رنگ پذیری خوبی داشتند و در مورد گونه نوکاردیا رنگ پذیری متوسط دیده شد. این رنگ آمیزی به ویژگی‌های دیواره سلولی قارچ‌ها وابسته می‌باشد.

در رنگ آمیزی گیمسا طبق روش McGinnis (١٤) عوامل قارچی گونه‌های سپه دونیوم، تریکوتسیوم، نوکاردیا، آسپرژیلوس، ریزوپوس، میکروسپوروم ژیپسئوم و کاندیدا آلبیکنس بهترین رنگ‌آمیزی را داشتند که علت آن را می‌توان به محتویات سلولی آنها نسبت داد زیرا در این روش دیواره‌های سلولی رنگ نمی‌گیرند و فقط محتویات سلولی قدرت رنگ پذیری دارند و این قدرت مستقیما به ویژگی‌های ساختمانی قارچ مرتبط است.

در رنگ آمیزی کاینیون اسید فاست با استفاده از روش Koneman, Bailey-Scotts (١٦، ١٥، ٨) گونه‌های نوکاردیا (دارای اسید فاست نسبی) رنگ پذیری بسیار خوبی داشتند در حالی که در مورد اکتینومایسس‌ها و سایر ارگانیسم‌های مورد بررسی رنگ پذیری کمتری مشاهده گردید و اسید فاست منفی بودند. قارچ‌ها به دلیل دارا بودن میکولیک اسید در دیواره سلولی خود، رنگ کربول فوشین را در خود نگه می‌دارند و درجه رنگ پذیری بستگی به ویژگی‌های دیواره سلولی آنها دارد.

در رنگ آمیزی پریودیک اسید شیف طبق روش Campbell و McGinnis (١٤) کاندیدا آلبیکنس و گونه آسپرژیلوس، به دلیل جذب رنگ توسط پلی ساکاریدهای جدار سلولی قارچ رنگ پذیری بسیار خوبی داشتند. در این روش پلی ساکاریدهای جدار سلول‌های قارچی رنگ می‌گیرند به این

صورت که فوشین بازیک موجب رنگ گرفتن قارچ‌ها شده و پریودیک اسید موجب هیدرولیز گردیدن آلدیدهای دیواره سلولی شده و آنها را با مواد شیف قابل ترکیب می‌سازد.

در روش رنگ آمیزی رایت- گیمسا طبق روش Bailey-Scott , Robert , Lennett (۱۸، ۱۷، ۸) و سایر همکاران، گونه سپه دونیوم، نوکاردیا و کاندیدا آلبیکنس رنگ پذیری بسیار خوبی داشتند.در این روش نیز رنگ پذیری وابسته به ویژگی‌های سلولی قارچ است.

با توجه به نتایج به دست آمده از روش‌های مختلف و مقایسه آنها با هم در یک جمع بندی کلی می‌توان اظهار نمود که: روش‌های رنگ آمیزی کالکو سفید، اکریدین نارنجی و کنگو قرمز به دلیل صرف هزینه زیاد و روش‌های پریودیک اسید شیف، اصلاح شده کاینیون اسید فاست و گیمسا- رایت به دلیل کارآیی کمتر،نسبت به روش‌های گرم، گیمسا و متیلن بلو به علت قدرت رنگ دهی محدود، برای عوامل قارچی مقرون به صرفه نیستند. روش لاکتوفنل کاتن بلو به دلیل سریع و آسان بودن، روش خوبی می‌باشد.

روش‌های رنگ آمیزی گرم و گیمسا به عنوان روش‌های سریع، آسان، دقیق در دسترس و مقرون به صرفه بودن جهت شناسایی قارچ‌خای پاتوژن معرفی می‌شوند.

در روش‌های کشت، روش اصلاح شده واتر آگار به دلیل سادگی و مقرون به صرفه بودن و امکان استفاده از تعداد بیشتری لامل دریک پلیت نسبت به دیگر روش‌ها برتری دارد و به عنوان روش انتخابی معرفی می‌گردد.

Reference:

۱- شادزی، ش. قارچ شناسی پزشکی، تهران: چاپ چهارم؛ ۱۳۶۸: ۵۳۳-۳۵۲، ۳۶۰، ۴-۳۸۲.

۲- ثمینی، م. فارماکولوژی (شیمی درمانی)، تبریز: چاپ دوازدهم. تبریز: چاپ افست چهر؛ ۱۳۶۲: ۶۰۷-۶۰۶.

3- Campbell Mary C., Stewart Joyce L. The Medical Mycology Handbook. 3, 161, 165, 168, 174-6, 361, 363, 365 ,382-385;1980

4- Evans EGV. and Richardson MD. Medical Mycology: A Practical approach. 1sted. Oxford: Oxford university Press; 1989:1-16, 19, 23, 60-61, 63, 263-267.

5- Haldane DJ. Robart E. A comparison of callcofluor white, potassium hydroxide, and culture for the laboratory diagonsis of superficial Fungal infection. Diagn Microbiol infect Dis. 1990; 13 (4): 337-9.

6- Harris JL. Modified method for fungal slide culture. J. Clin Microbiol. 1986; 24: 460-61.

7- Rippon, J. W. Medical Mycology. Third Edition. W. B. Saunders Company; 7, 45, 411, 566, 717; 1988.

8- Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology; 70, 72, 75, 77, 614, 683, 685-6, 711-12, A-42, A-43, A-44; 1990.

9- Kohlmeyer, J and Kohlmeyer E. Permanent Microscopic mounts. Mycologia; 64: 666-669; 1972.

10- Hick, E. W. Acridine organge fluorescent stain for fungi. Arch. Dermatol 83: 305-309; 1961.

11- Pickett, J. P, C.M. Bishop, E. W. Chick , and R. D. Baker, A simple Fluorescent stain for fungi Am. J. clin Pathol. 34: 197- 202; 1960.

12- Slifkin. M, Cumbie. R. Congo red as a flurochrome for the rapid detection of fungi. J. Clin Microbiol, May; 26 (5): 827-830;1988.

13- Yasaki, Y., M Miyake, M. Okudaria, J. Toriumi, T. Inoue, and M. Kodama. A study on the Candidá group in tissue with the apllicance of fluorescence Microscopy Acta

pathol, Jpn. 10: 65-73; 1960.

14- Mc Ginnis M. R. Laboratory Handbook of Medical Mycology New York, Academic Press; 100-102, 133-134, 136, 546, 553, 566, 619; 1980

15- Koneman Elmaer. W, Roberts Glenn D. Practical laboratory Mycology, Third edition. Williams and Wilkins; 21, 48, 189-192; 1985.

۱۶- اسکندری، ف: تشخیص آزمایشگاهی قارچ‌های مهم پزشکی، ص ۱۰-۹ انتشارات دانش پژوه، (۱۳۷۶).

17- Lennette E. H, Balows A., Hausler W. J. Jr and Truant J. P., editions Manual of Clinical Microbiology, ed3, Washington, DC. P: 27-40;1980.

18- Robert, G. D Laboratory diagnosis of fungal infections Hum. Pathol, 7: 161-168; 1976.