بسم الله الرحمن الرحيم

علم الفطريات الطبية

(الجزء العملي)

تأليف

أ. د. عبدالله بن صالح الخليل

أ. حميد أحمد محمد جوله **أ. جمال محمد علي خالد**

قسم النبات والأحياء الدقيقة – كلية العلوم – جامعة الملك سعود
الرياض – المملكة العربية السعودية

النشر العلمي والمطابع - جامعة الملك سعود

ص.ب ٦٨٩٥٣ -الرياض ١١٥٣٧-المملكة العربية السعودية

ⓒ جامعة الملك سعود، ١٤٣٢هـ (٢٠١١م)

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

الخليل، عبدالله بن صالح

علم الفطريات الطبية (الجزء العملي). /عبدالله بن صالح الخليل؛ حميد أحمد محمد جوله؛ جمال محمد علي خالد. – الرياض، ١٤٣٢هـ

٢١١ ص؛ ١٧×٢٤سم

ردمك: ٠ – ٨١١ – ٥٥ – ٩٧٨-٩٩٦٠

١- الفطريات أ. جوله، حميد أحمد محمد (مؤلف مشارك) ب. خالد، جمال محمد علي (مؤلف مشارك) ج. العنوان

ديوي ٢, ٥٨٩ ١٤٣٢/٤٤٩٣

رقم الإيداع ١٤٣٢/٤٤٩٣

ردمك: ٠ – ٨١١ – ٥٥ – ٩٧٨-٩٩٦٠

حكمت هذا الكتاب لجنة متخصصة، شكَّلها المجلس العلمي بالجامعة، وقد وافق المجلس العلمي على نشره بعد اطلاعه على تقارير المحكمين- في اجتماعه الثاني للعام الدراسي ١٤٣٠/١٤٣١هـ المعقود بتاريخ ١٤٣١/٧/٨هـ الموافق ٢٠/٦/ ٢٠١٠م.

إدارة النشر العلمي والمطابع ١٤٣٢هـ

مقدمة المؤلفين

Introduction

تعتبر الفطريات سهلة العزل isolation نسبياً، ولكن عملية التحديد والتعريف identification and determination أكثر أهميةً وصعوبة. وتعتبر عملية الإكثار ثم عملية التنقية والعزل من الخطوات الهامة جداً ولا بد من استخدام البيئات المناسبة وهناك عدة مركبات تضاف للبيئات أهمها:

١- إيروميوسين Aureomucin و كلورومايستين chloromycetin اللذان يعملان على تثبيط النمو الزائد للبكتيريا ويجعلان الأفضلية لنمو الفطريات، كما سُتخدم لنفس لغر السابق الروز بانجال.

٢- ويضاف السيكلوهكسيمايد cycloheximide لإعاقة نمو الفطريات غير الممرضة ويعرف بـ أكتيدايون Actidione ، وتنتجه البكتيريا الخيطية *Streptomyces griseus* وله القدرة على تثبيط تصنيع البروتين في الخلايا حقيقية النواة، و وجد أن أكثر الفطريات الممرضة والجلدية وفطريات الإصابات العميقة لا تتأثر بهذا المضاد الحيوي، ومع ذلك فإن نمو أكثر الفطريات المترممة في التربة soil saprophytic fungi تتأثر بهذا المضاد، ومن أمثلتها أجناس الـ *Aspergillus* و*Penicillium* و*Alternaria* . كما وجد أن نمو عدد من الفطريات الانتهازية يثبط أيضاً مثل أجناس الـ *Mucor* و *Fusarium*.

تنمو معظم الفطريات بشكل جيد عند درجة حرارة الغرفة (٢٥ °م) وتمتد عملية التنمية من ثلاثة أيام إلى أربعة أو ستة أسابيع فمعظم الفطريات الممرضة تنمو

ببطء شديد. تعتمد عملية تعريف العزلات الفطرية على عدة عوامل من أهمها:

- الشكل الظاهري للمستعمرات، والغزل الفطري، ولون المستعرة الفطرية والوصف الشامل للمستعمرة Topography ومعدل النمو rate of growth.
- خلفية المستعمرة reverse للاستدلال على إنتاج الصبغات.
- الدراسة المجهرية لمعرفة التراكيب الدقيقة، مثل حجم وشكل ومظهر وترتيب الأبواغ وأنواع الزوائد في الخيط الفطري types of hyphal appendages والتحورات الخيطيةhyphal modifications.

كما يجب مراعاة عدة عوامل تسبب اختلافات على مستوى السلالات منها نوع بيئة النموculture medium، وعمر المستعمرة النامية age of colony، وطور النمو phase of growth، ودرجة الحرارة temperature.

كيف يمكن الاستفادة من هذا الكتاب؟

تم التركيز في هذا الكتاب على التقنيات الهامة المستخدمة بشكل روتيني في معامل الفطريات الممرضة، وقد زود هذا الكتاب بعدة ملاحق هامة يجب على الطالب الرجوع لها عند الحاجة لتحضير المحاليل والصبغات والبيئات الهامة، كما زود الكتاب بدليل مصور لأهم الفطريات الممرضة يشمل خصائصها المزرعية وتحت المجهر وخصائصها في النسيج المصاب وبمجرد تطبيق وتعلم التقنيات سوف يرجع الطالب إلى الدليل لمقارنة نتائجه التي تحصل عليها مع الدليل. ومن الأمور الهامة التي يجب الإلمام بها طرق جمع العينات والتعامل معها ولهذا فقد زود الكتاب بملحق يتضمن أفضل الطرق العلمية التي من خلالها يستطيع الطالب جمع العينات الطبية والتعامل معها حتى إجراء الفحص، وتسجيل الملاحظات وكتابة تقرير عنها.

المؤلفون

الاختصارات

Abbreviations

Analytical Profile index (API) نظام الـ

Analytical Profile index, Enzymatic Activities (API ZYM) نظام الـ

Brain Heart Infusion Agar (BHIA) بيئة الـ

Brain Heart Infusion Broth (BHIB) بيئة الـ

Cerebrospinal fluid (CSF) سائل الحبل الشوكي

CGB Agar (L-Canavanine, Glycine, 2 Bromthymol Blue) Agar بيئة الـ

Corn Meal Agar (CMA) بيئة الـ

Dermatophyte Test Medium (DTM) بيئة الـ

Latex Agglutination Test (LAT) اختبار الـ

L-Canavanine, Glycine, 2 Bromthymol Blue Agar (CGBA) بيئة الـ

Malt Extract Agar (MEA) بيئة الـ

Periodic Acid Schiff (PAS) صبغة الـ

Potassium Hydroxide-Dimethyl Sulfoxide (KOH-DMSO) صبغة الـ

Potato Dextrose Agar (PDA) بيئة الـ

Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) بيئة الـ

المحتويات

الصفحة

مقدمة المؤلفين ..... هـ

الاختصارات ..... ز

قائمة الأشكال ..... ك

قائمة الجداول ..... م

قائمة الصور ..... س

الدرس العملي الأول: السلامة في معامل الفطريات الطبية ١

الدرس العملي الثاني: تعريف الفطريات الممرضة من خلال الصفات المجهرية ٥

الدرس العملي الثالث: الفحص المجهري المباشر للعينات الطبية ١١

الدرس العملي الرابع: تقنية الشرائح المزروعة ١٩

الدرس العملي الخامس: صبغ الأنسجة المصابة بالفطريات الطبية ٢٥

الدرس العملي السادس: تعريف الفطريات الممرضة من خلال الصفات المزرعية . ٣١

الدرس العملي السابع: قياس سرعة نمو الفطريات الممرضة ٣٧

الدرس العملي الثامن: تحفيز إنتاج الأبواغ في الفطريات الممرضة ٤٣

الدرس العملي التاسع: عزل وتعريف الفطريات الجلدية ٤٩

الدرس العملي العاشر: اختبار اختراق الشعر وموميض الشعر ٥٥

الدرس العملي الحادي عشر: عزل وتعريف خميرة الـ Cryptococcus Neoformans ... ٥٩
الدرس العملي الثاني عشر: فحص الخمائر الحقيقية ٦٥
الدرس العملي الثالث عشر: تعريف الفطريات الممرضة عن طريق الاختبارات السريعة ... ٧١
الدرس العملي الرابع عشر: الكشف عن الفطريات ثنائية التشكل ٧٧
الدرس العملي الخامس عشر: الكشف عن الخميرة المسببة لداء المستخفيات
بالطرق المناعية السريعة..... ٨٣
الدرس العملي السادس عشر: الكشف عن النشاط الإنزيمي للفطريات الممرضة
بالطرق السريعة ٨٩
الدرس العملي السابع عشر: اختبار حساسية الفطريات الممرضة للمضادات الفطرية ٩٥
الدرس العملي الثامن عشر: تعريف الفطريات الممرضة بواسطة الجزيئية الطرق
الجزيئية (الحمض النووي DNA) ١٠٣
المراجع ١١٣
الملاحق ١١٥
ملحق رقم (١): طرق جمع العينات ١١٧
ملحق رقم (٢): المحاليل والصبغات ١٣١
ملحق رقم (٣): البيئات وطرق تحضيرها ١٣٥
ملحق رقم (٤): أطلس الصور ١٤٥
ثبت المصطلحات ١٧٣
أولاً: عربي – إنجليزي ١٧٣
ثانياً: إنجليزي– عربي ١٩٠
كشاف الموضوعات ٢٠٧

قائمة الأشكال

الشكل رقم (١). مخطط مبسط لطريقة العلم التي يستفاد منها في طبع
الأبواغ ومشاهدتها بشكل دقيق تحت المجهر..... ٨
الشكل رقم (٢). خطوات توضح طريقة الزراعة على مكعب في طبق بتري ٢٢
الشكل رقم (٣). منظر جانبي لطبق بتري يوضح مكان أخذ المكعب ووضعه
على سطح البيئة الصلبة ٢٢
الشكل رقم (٣). مخطط يوضح أسس التفريق ما بين الفطريات الممرضة على
أساس سرعة النمو وتكون الأبواغ ٣٩

قائمة الجداول

الجدول رقم (١). النتيجة المتوقعة من شريط API 20C AUX
لخميرة *Trichsporon asahii* ٧٣
الجدول رقم (٢). الكواشف التجارية لتعريف داء المستخفيات والشركات
المنتجة ٨٥
الجدول رقم (٣). مكونات شريط البيئات واللون المتكون عند النتيجة
الموجبة ٩١

قائمة الصور

الصورة رقم (١). الاختبارات الكيموحيوية التي يمكن الحصول عليها من شريط API 20C AUX StriP ٧٣

الصورة رقم (٢). جهاز التدوير الحراري لإكثار المادة الوراثية المستهدفة (Primus 96 plus, Mwgag, (Biometra ، حيث تمت عملية الإكثار عن طريق تفاعل البلمرة المتسلسل (polymerase Chain Reaction) المعروف بـ PCR ، حيث تتم عملية برمجة الجهاز في التجربة السابقة على ٤٠ دورة عند ٩٨°م لمدة ١٥ ثانية و٤٠°م لمدة ٩٠ ثانية و ٧٢°م لمدة ١٠٠ ثانية..... ١٠٩

الصورة رقم (٣). جهاز الترحيل (الهجرة) الكهربائية لفصل الحزم المتكونة على مادة الأجروز (Electrophoresis, Amersham Pharmacia, Biotech.) ١٠٩

الصورة رقم (٤). جهاز تصوير الحزم المتكونة على الأجاروز وتخزينها بواسطة الأشعة فوق البنفسجية باستخدام نظام الـ UVP gel documentation system..... ١١٠

الصورة رقم (٥). صورة لفرد حزم DNA بعد عمليات الإكثار والترحيل الكهربائي والتصوير بواسطة الأشعة فوق البنفسجية..... ١١٠