

YÜZEYSEL MANTAR ENFEKSİYONLARINDA DOĞRUDAN MİKROSKOPİK İNCELEME VE DEĞERLENDİRME

Tanım

Mikroskopik inceleme, yüzeysel mantar enfeksiyonlarına (dermatofit, kandida enfeksiyonları ve pitriyazis versikolor) tanı koymak için kullanılan basit, hızlı ve ucuz bir yöntemdir.

Gereçler

- 1-Lam, lamel
- 2-%10-30'luk KOH (potasyum hidroksit) solüsyonu
- 3-Steril bistüri ucu veya körleştirilmiş saplı bistüri, penset
- 4-Petri kutusu
- 5-Kağıt havlu veya kurutma kağıdı
- 6-Eldiven (gerektiğinde kullanmak üzere)
- 7-Alev kaynağı (deneyim kazanınca ve laboratuvar şartları uygun ise)
- 8-Işık mikroskopu

Uygulama

- 1-Hasta, yapılacak işlem konusunda bilgilendirilmelidir.
- 2-İşlem sırasında oral mukoza ve genital bölge çevresinde çalışırken korunmak amacı ile eldiven kullanılabilir.
- 3-Deri, kıl, tırnak, oral ve genital mukozadan örnekleme yapılabilir.

a) Deriden örnekleme yapılırken, körleştirilmiş saplı bistüri, bir bistüri ucu veya tercihen bir lamın kenarı ile diğer bir lam üzerine skuamalar kazınarak toplanır (bistüri ucu veya saplı bistüri birden fazla hastada kullanılacak ise her seferinde alevden geçirilmeli veya yeni steril bistüri ucu açılmalıdır).

- Dermatofit enfeksiyonu şüpheli lezyonlarda keskin sınırdan örnek alınmalıdır.
- Veziküler tipte mantar enfeksiyonunda, kazınabilecek skuam olmadığı durumlarda, vezikülün çatısı sivri uçlu bir makas ile veya bir lamın köşesi ile kaldırılarak vezikül içine bakan yüzeyinden kazıma yapılır veya vezikül çatısı kesilerek incelenir. Vezikül sıvısında mantar yapılarını saptamak mümkün değildir.
- Kandida enfeksiyonu şüpheli lezyonlarda tercihen satellit lezyonlardan örnek alınmalıdır.
- Pitriyazis versikolor enfeksiyonu şüpheli lezyonlarda birkaç lezyon yüzeyinden kazıma işlemi yapılır.

b) Oral veya genital mukozadan, tahta dil baskısı ya da lam kullanılarak sürüntü örneği alınabilir.

c) Tırnak tutulumunda örnekleme yapılırken, lam örnek alınacak tırnağın altına tutulur.

- **Distal tırnak tutulumunda** hasta tırnağın altından distalden yapılan ilk kazıma materyali atıldıktan sonra, olabildiğince proksimaline doğru ilerleyerek, bistürinin sivri kısmı veya lam köşesi ile, özellikle kolay ufalanan kalınlaşmış tırnak altından olabildiğince küçük taneli (toz gibi) kazıntı materyali alınır.
- Daha nadir görülen **yüzeysel veya proksimal tırnak tutulumunda**, enfekte görünümlü bölgeden, tırnak yüzeyinden ilk kazıma materyali atılıp, biraz daha derinden alınan kazıma materyali lam üzerinde toplanır.

Israrlı klinik şüpheye rağmen doğrudan kazıma yöntemi ile negatif sonuç alınması durumunda, tırnak distal kısmı kesilip parça halinde içerisinde KOH bulunan bir cam tüpte 24 saat bekletilir. Tırnağın tümüyle erimesi sağlandıktan sonra santrifüj edilip çöküntü lama yayılarak incelenebilir. Bu yöntem ile daha fazla miktarda tırnak incelenerek mantar yapılarını görme olasılığı arttırılmış olur.

d) Saçlı deri veya sakal tutulumunda, lezyon alanındaki skuamaların yanısıra lezyon üzerindeki kırık ve yapısı bozuk görünen birkaç kıl örneği incelenmek üzere bir penset ile çekilir. İnflamatuvar tipte penset ile çekilen kılın kolaylıkla gelmesi, incelemek için uygun bir örnek olduğunu gösterir. Favusta ise saç ve lezyon alanındaki kabuk yapıları incelenebilir.

4-Lam üzerinde toplanan materyal, bir araya getirilip bir lamel ile örtülür. **DİKKAT!** Nemli ortamda uzun süre bekleyen lam ve lamel kutuları içinde, camlar arasında, gözle fark edilmeyecek küf mantarları üreyip, sonucu etkileyebilirler. Bu olasılığı engellemek için lamı bir kağıt havlu ile sildikten sonra kullanmak uygun olacaktır.

5-Lam üzerinde toplanan materyal üzerine veya lamel örtüldükten sonra kenarından, damlalıklıkla % 10-30'luk KOH damlatılır ve KOH'un lam ile lamel arasında iyice dağıldığından emin olunur.

6-Hazırlanan örnek, KOH'un keratini eritmesi ve selülozdan oluşan mantar yapılarının görülebilir hale gelmesi için, bir kağıt havlu üzerinde açıkta veya içinde ıslak sünger bulunan bir petri kutusu içinde 15-30 dakika bekletilir. Örnek lam, laboratuvar şartları uygun ve emniyetli ise alevden geçirilerek (kaynama noktasına gelmeden) beklemeden de mikroskopta incelemek için hazır hale getirilebilir. Ancak, yeni başlayanlar için ısıtma işlemi önerilmez, deneyim kazandıkça ve şartlar uygunsa zaman kazandırabilir. Tırnaktan alınan materyal iri taneli ise erimenin sağlanabilmesi için bekleme süresi en az yarım saat olmalıdır. İncelenecek materyal saç ise, kıl cismi bütünlüğünün bozulmadan incelenebilmesi için 5-10 dakika beklenmesi yeterlidir.

7-Örnek, mikroskopta incelenmeden hemen önce, bir parça kağıt havlu ile lamelin üzerine nazikçe bastırılır. Böylece materyal inceltirilerek mantar yapılarının daha iyi görülmesi sağlanır. Takiben önce x10'luk büyütme ile incelenecek alan bulunur. Daha sonra x40'luk büyütme ile bu alan daha ayrıntılı bir şekilde incelenir ve hif yapıları değerlendirilir. İncelemeler sırasında mikroskobun ışık miktarı azaltılır ve mantar yapılarını görebilmek için inceleyen göze uygun olarak mikrovida ile sürekli küçük hareketlerle netlik sağlanır. İnceleme işlemi bitince, mikroskop tablasına sıvaşan KOH temizlenmelidir.

Yorum

Dematofit enfeksiyonlarında mikroskopik olarak, tek tek veya bir arada bulunan, farklı uzunluklarda, ince ağaç dalları gibi kıvrıntılı ve dirseklenmeler yapan genellikle septalı hifler görülür (Şekil 1).

Saç incelemelerinde mantar hif ve sporlarının endotriks (kıl cismi içinde), ektotriks (kıl cismi çevresinde), endoektotriks (kıl cismi içinde ve çevresinde) yerleştiği gözlenir (Şekil 2).

Pitriyazis versikolor'da etken olan *Malassezia furfur*, mikroskop altında tek tek veya yığın halinde bulunan, yuvarlak veya oval, çift cidarlı sporlar ve septalarla ayrılmış, kıvrık ve dallanmış, dermatofitlere kıyasla daha kısa hifler şeklinde görülür (Şekil 3).

Kandida enfeksiyonlarında alman sürüntü veya kazıntı materyallerinde mikroskop altında, saptalı hifler ve septasız pseudohifler görülür (Şekil 4).

Yeni başlayanlar için yanlış pozitif yorumlara yol açabilecek artefakt görünüşler olabilir. Bunlar hava kabarcıkları, KOH kristalleri (ısıtma sırasında veya açıkta uzun süre bekleyen örneklerde oluşabilir), giyisi veya pamuk artığı mikrofibriller olabilir (Şekil 5). Bu yapılar şekilde de görüldüğü gibi kıvrıntısız genellikle düz ve septasız yapılardır. Bir diğer yanlış pozitif yoruma yol açan durum "mozayik mantar" görünümüdür. Bazen boynuzsu hücrelerin yüzeyinde kalan lipid tabakası, poligonal yapılardan oluşan bir görünüm vererek mantar hiflerini anımsatabilir (Şekil 6). Ancak işlem ile ilgili deneyim arttıkça artefaktlar kolayca tanınabilir. Yeni başlayan uzmanlık öğrencileri genellikle her gün uygulamak kaydı ile yaklaşık 2-3 ayda mantar yapılarını tanımak ve artefaktı ayırt edebilmek becerisini kazanırlar.

Doğrudan mikroskopik inceleme ile kesin tanı konulamadığı ve mantar cinsinin saptanması gerektiği durumlarda ve araştırmalarda kültür yöntemine başvurulabilir.