เอกสารประกอบการสอนหัวข้อปฏิบัติการเรื่อง
Fungal infection

วิชา MD 532 109 Skin and Related Connective Tissues ผิวหนังและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เกี่ยวข้อง

จัดทำโดย ผศ. ดร. กิตติพันธุ์ เสมอพิทักษ์ ผศ.ดร. ฐิติมา นุตราวงศ์ และ ผศ.ดร. กัญญลักษณ์ ชัยคำภา

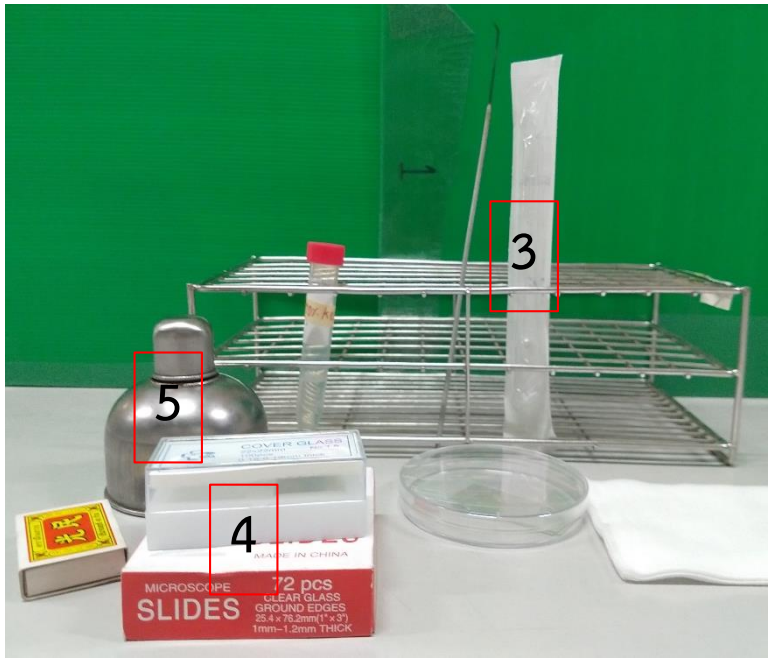
วัตถุประสงค์ เพื่อให้นักศึกษา

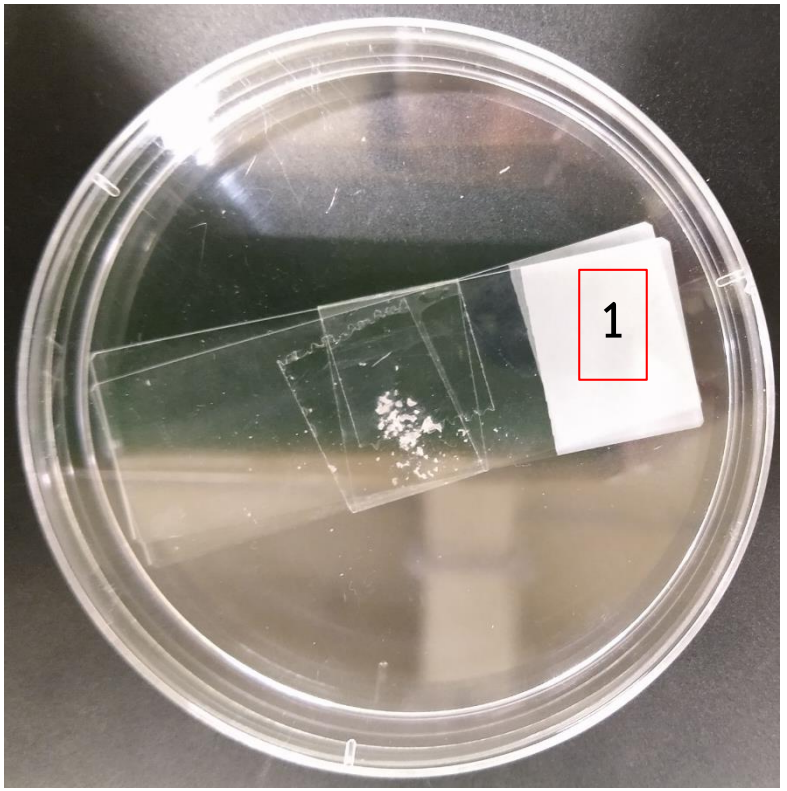
1. ตรวจหาเชื้อราจากสิ่งส่งตรวจโดยการทา KOH preparation ได้
2. บอกลักษณะของเชื้อราที่พบจากสิ่งส่งตรวจโดยวิธี KOH preparation ได้
3. ระบุกลุ่มของเชื้อราและวินิจฉัยโรคติดเชื้อราจากลักษณะของเชื้อราที่พบในสิ่งส่งตรวจได้
4. เตรียมตัวอย่างเชื้อรากลุ่ม Dermatophytes เพื่อศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธี tease mount technique ได้
5. บอกลักษณะรูปร่างและโครงสร้างของเชื้อราสายกลุ่มนี้จากการตัวอย่างที่เตรียมได้

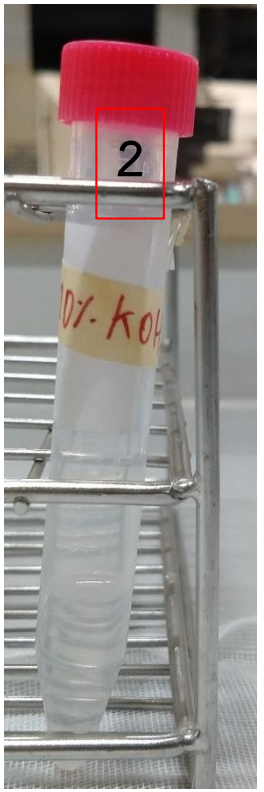
การทดลองที่ 1 KOH preparation

วัสดุอุปกรณ์

1. Skin scraping ของผู้ป่วยโรคติดเชื้อราที่ผิวหนัง**<u>โรคกลากหรือโรคเกลื้อน</u>** ใน glass slide 2 แผ่นที่ประกบกัน
2. 10-20% KOH
3. Dropper
4. Glass slide และ cover glass
5. ตะเกียงแอลกอฮอล์

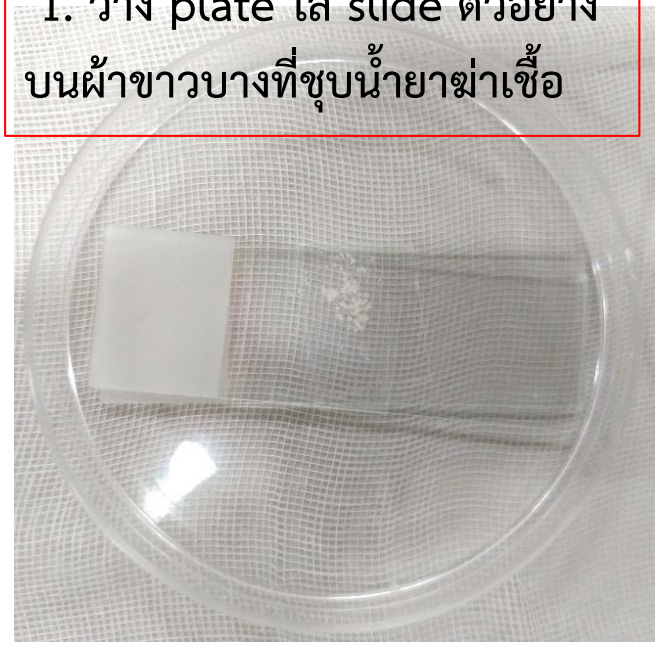




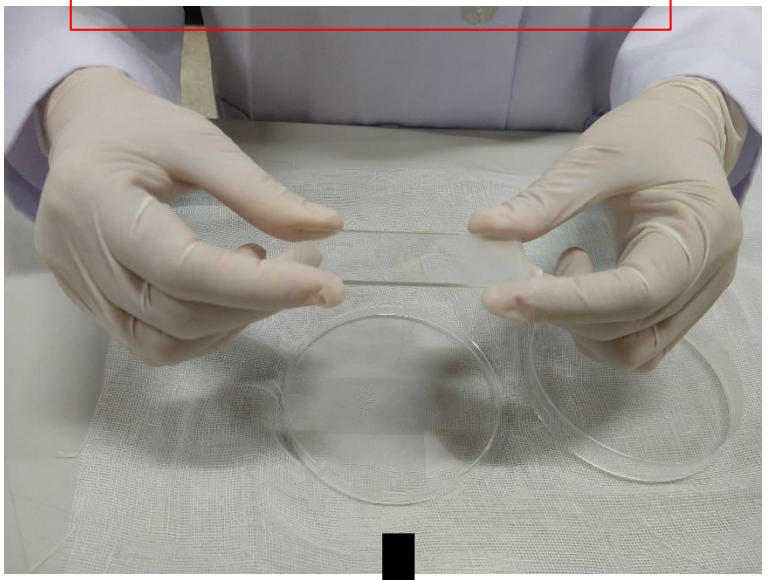


ขั้นตอนการทำ KOH preparation

1. วาง plate ใส่ slide ตัวอย่าง บนผ้าขาวบางที่ชุบน้ำยาฆ่าเชื้อ

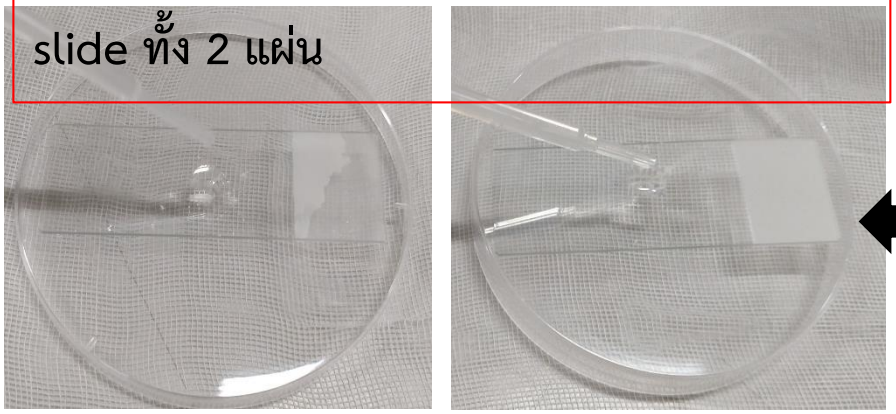


2. แกะ slide ที่ประกบกันออก

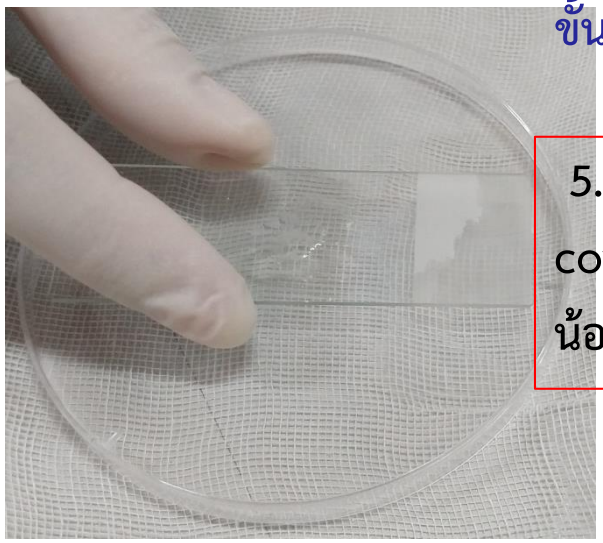


3. จะได้ตัวอย่างติดอยู่บน slide 2 แผ่น (ถ้าตัวอย่างติดบน slide แผ่นเดียว ก็ทำแค่แผ่นเดียวเท่านั้น)

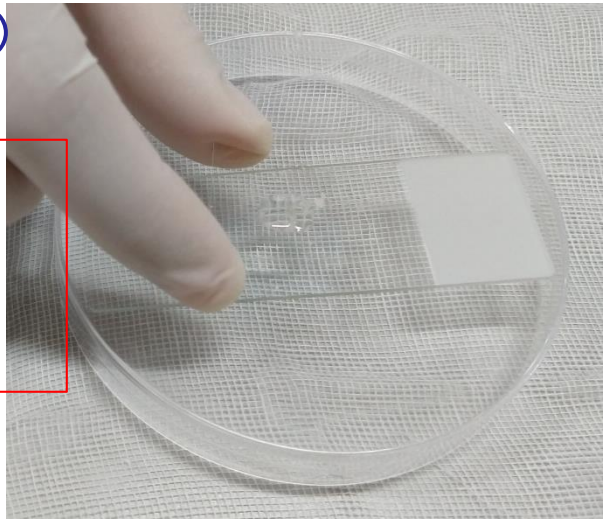
4. หยด 10% KOH 1 หยด บนตัวอย่างใน slide ทั้ง 2 แผ่น

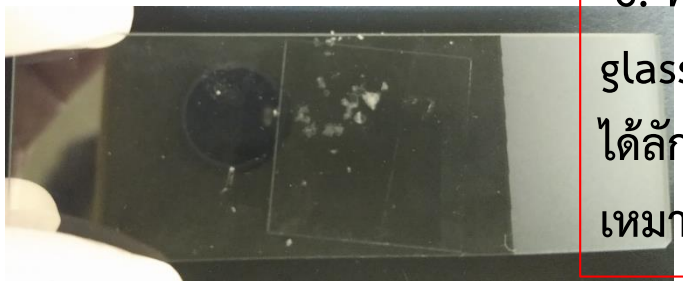


ขั้นตอนการทำ KOH preparation (ต่อ)



5. ปิดทับตัวอย่างบนทั้ง 2 slide ด้วย cover glass พยายามให้เกิดฟองอากาศน้อยที่สุด



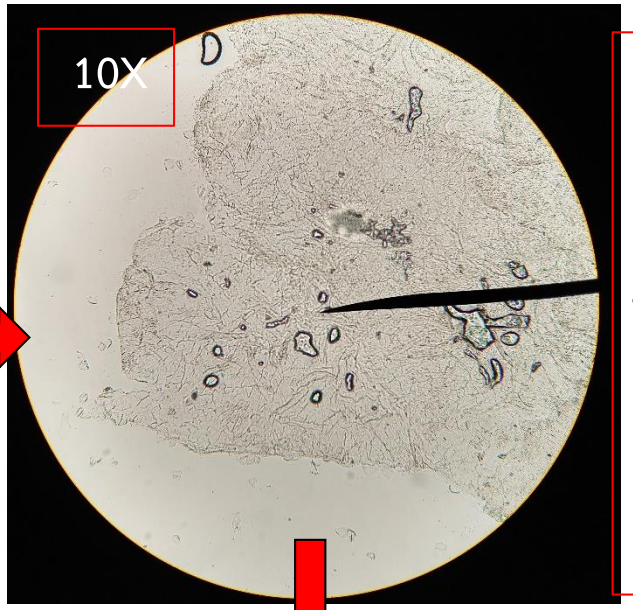


6. ทำความสะอาดขอบ cover glass ที่มี 10%KOH ล้นออกมา ให้ได้ลักษณะตัวอย่างใน slide ที่เหมาะสมดังรูป

7. นำ slide ตัวอย่างทั้งสองแผ่น ผ่านไฟให้อุ่น แล้ววางทิ้งไว้ 2-3 นาที ก่อนตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

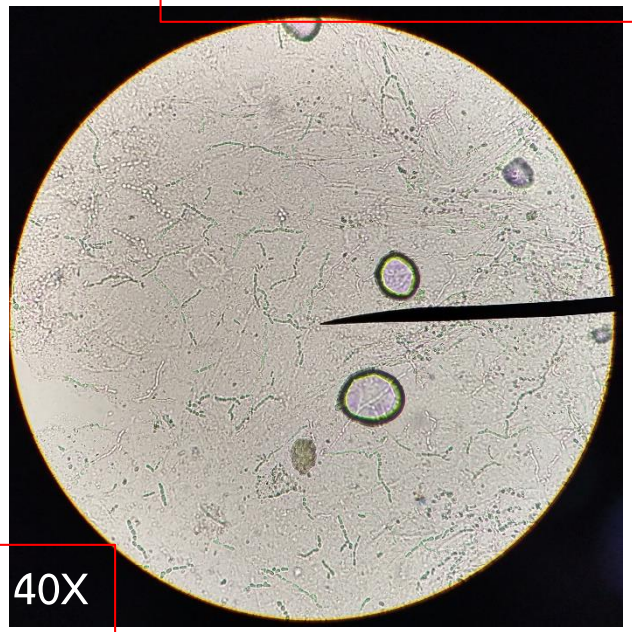
ขั้นตอนการทำ KOH preparation (ต่อ)

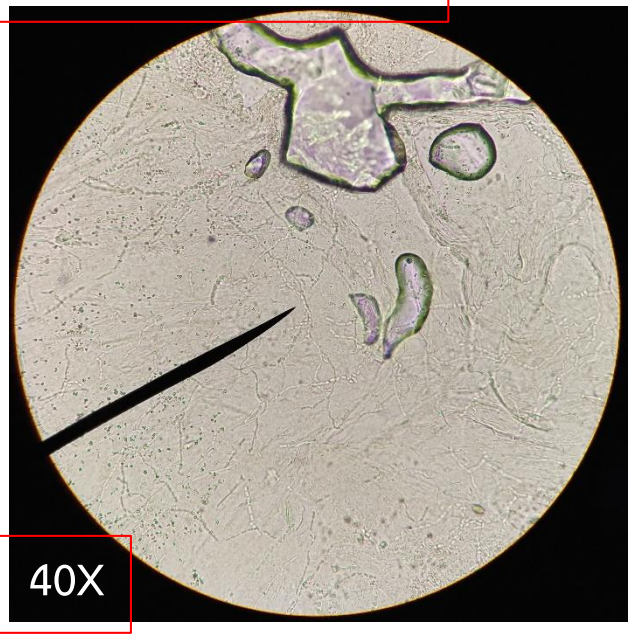
8. ตรวจ slide ตัวอย่างทั้งสองแผ่นด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้ objective lens 10X ปรับให้ได้จุดโฟกัสที่เห็นภาพตัวอย่างชัดเจน



9. ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์ objective lens 10X ที่โฟกัสเห็นภาพตัวอย่างชัดเจน แล้วจึงเพิ่มกำลังขยายไปที่ objective lens 40X

10. ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์ objective lens 40X ที่โฟกัสเห็นภาพตัวอย่างชัดเจน





ผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลองที่ 1 KOH preparation

1. รูปลักษณะของ skin scraping ที่พบจากการทำ KOH preparation

1.1 พบลักษณะโครงสร้างของเชื้อราหรือไม่ ถ้าพบมีลักษณะเป็นอย่างไร

.....

.....

.....

.....

รูปจากกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

2. จงยกตัวอย่างโรคที่ให้ผล KOH preparation ดังภาพ <u>ในขั้นตอนที่ 10</u>

.....

.....

3. ภาพ <u>ในขั้นตอนที่ 10</u> จะบอกชื่อกลุ่ม หรือ species ของเชื้อราสาเหตุของโรคได้หรือไม่ เพราะเหตุใด

.....

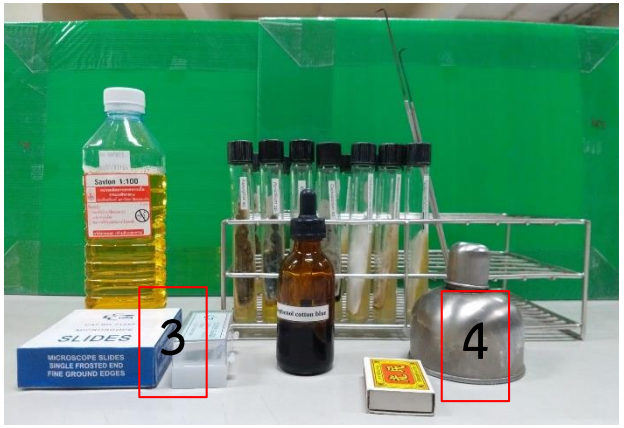
.....

.....

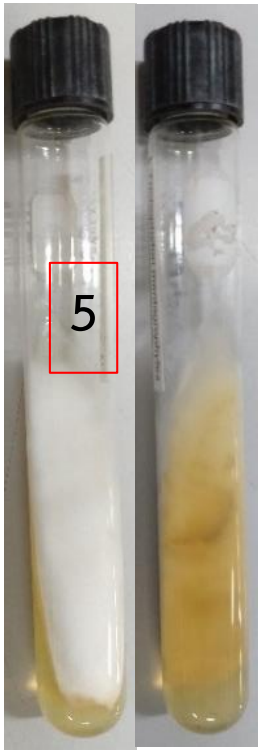
การทดลองที่ 2 การศึกษารูปร่างลักษณะของ Dermatophytes

วัสดุอุปกรณ์

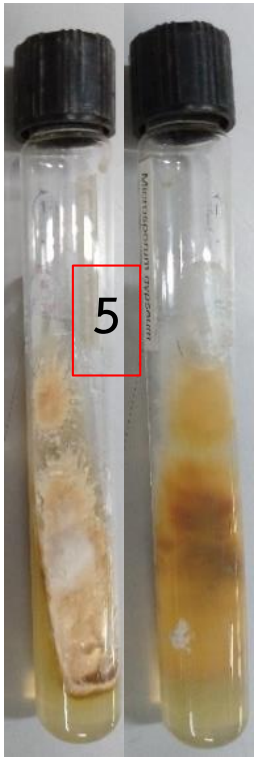
1. Teasing needle
2. สี lactophenol cotton blue
3. สไลด์แก้ว และ cover glass
4. ตะเกียงแอลกอฮอล์
5. เชื้อรา Dermatophytes 3 species (กลุ่มละ 1 ชนิด)



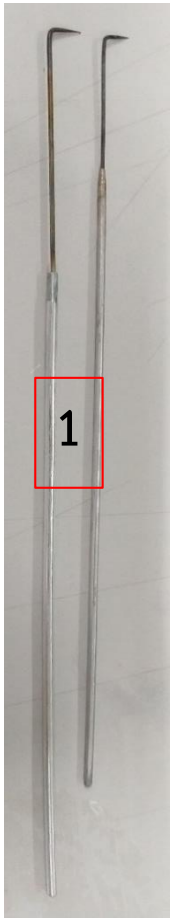
Trichophyton mentagrophyte



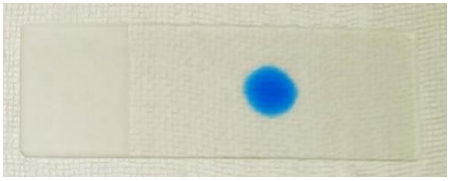
Microsporum gypseum



Epidermophyton floccosum

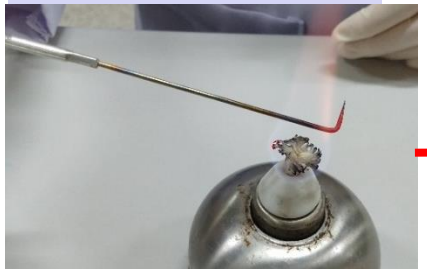


Lactopheno cotton blue

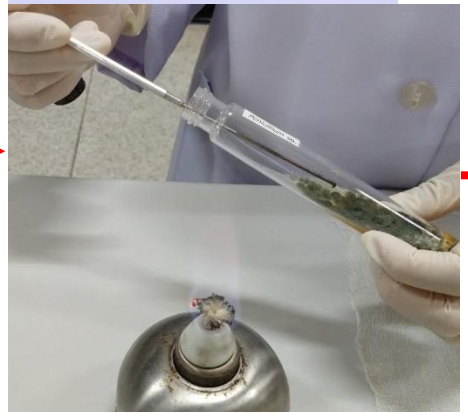


วิธีทำ Tease mount mold โดยใช้ teasing needle และ sterile technique

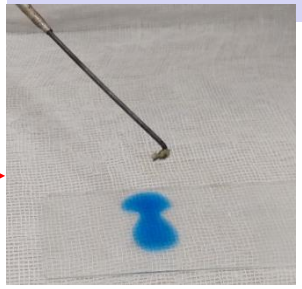
1. เผา needle ก่อนใช้



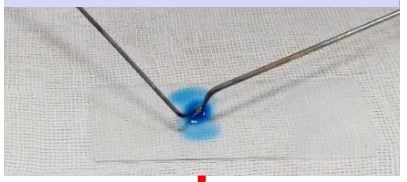
2. เขี่ยเชื้อราสายจาก



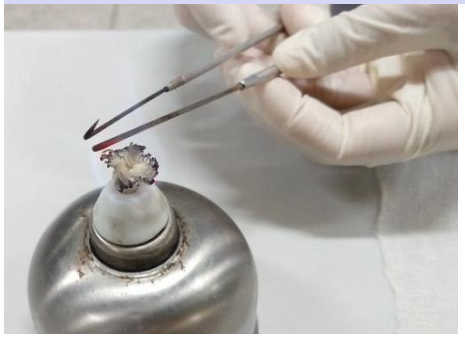
3. วางชิ้นส่วนของเชื้อรายบนหยดสี



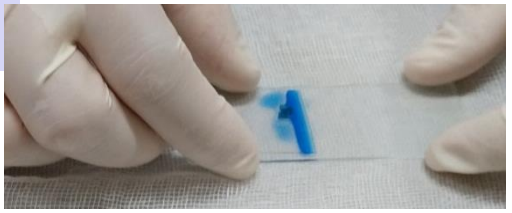
4. ใช้ needle อีกหนึ่งอันมาช่วยเขี่ยกระจายเชื้อราสาย

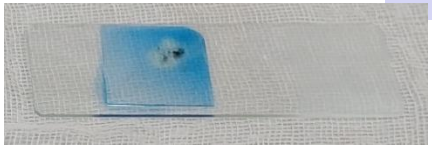


5. เผาไฟ needle เพื่อฆ่าเชื้อ



6. ปิด cover slip



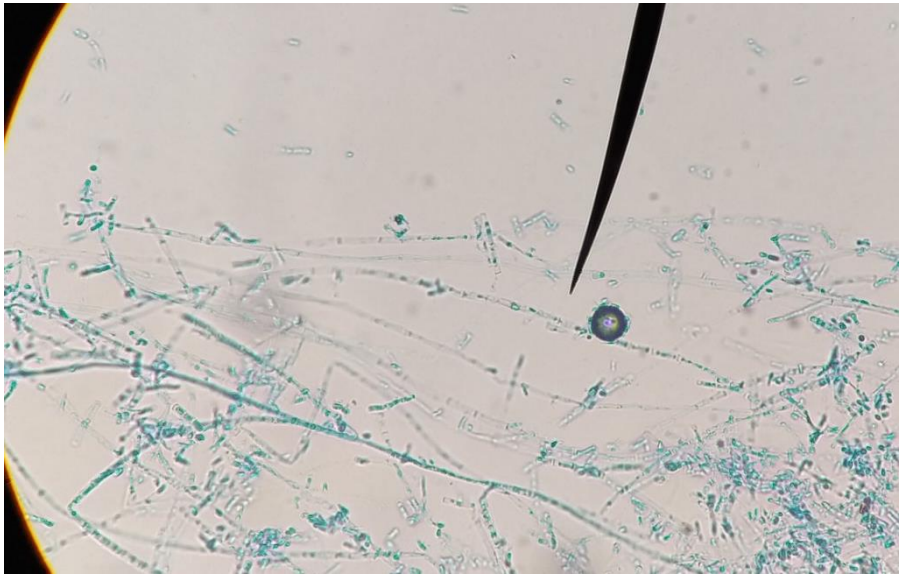


7. ศึกษารูปร่าง ลักษณะ และการติดสีของราสายด้วย objective lens: 10X, 40X

ผลการทดลองที่ 2

Trichophyton mentagrophyte
ลักษณะโคโลนี บน PDA

ลักษณะจากกล้องจุลทรรศน์ objective lens 40X



ผลการทดลองและคำถามท้ายการทดลองที่ 2

1. รูปลักษณะของ dermatophyte ที่พบจากกล้องจุลทรรศน์
2. อธิบายลักษณะที่พบ

.....

.....

3. ลักษณะที่พบใช้ในการบอก species นี้ได้หรือไม่ เพราะเหตุใด

.....

.....

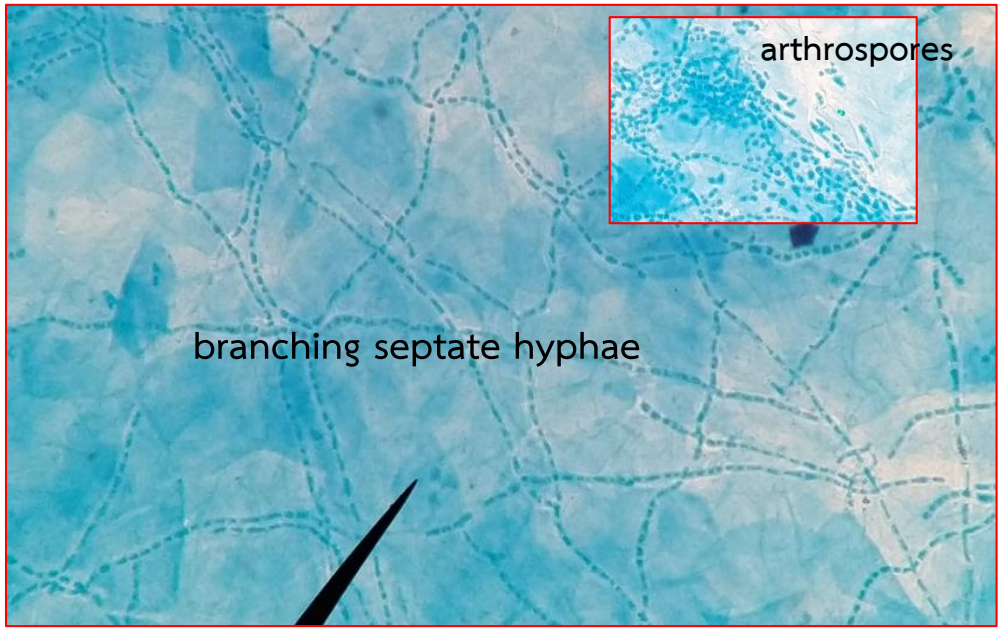
รูปจากกล้องจุลทรรศน์ที่
กำลังขยาย 400 เท่า

การสาธิต 1 Tissue form ของโรคกลากและโรคเกลื้อน

กลาก

(Dermatophytosis, Tinea or Ring worm)

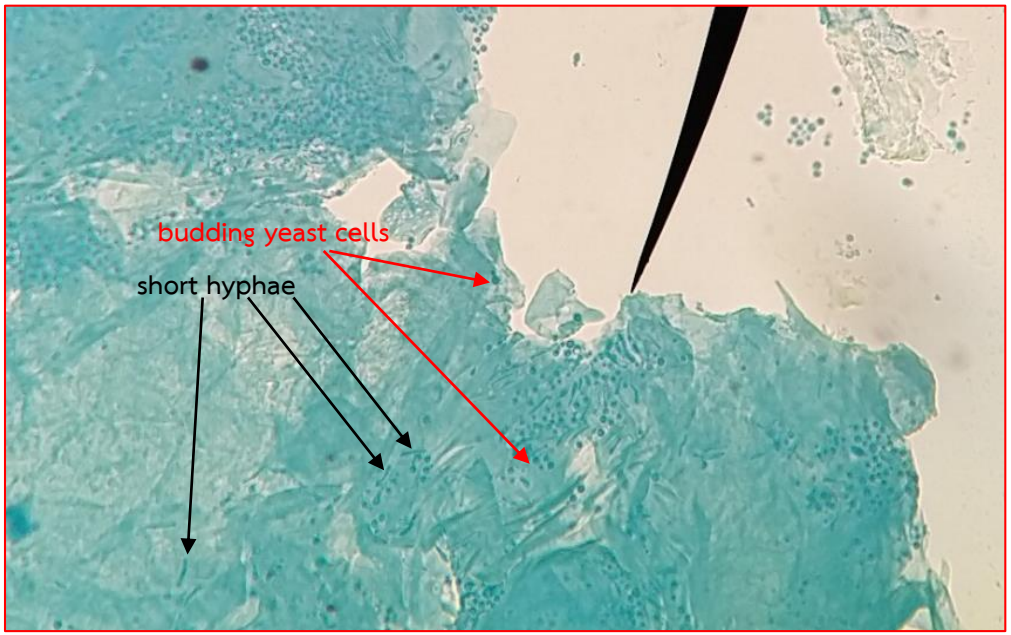
KOH prep. & Lactophenol cotton blue



เกลื้อน

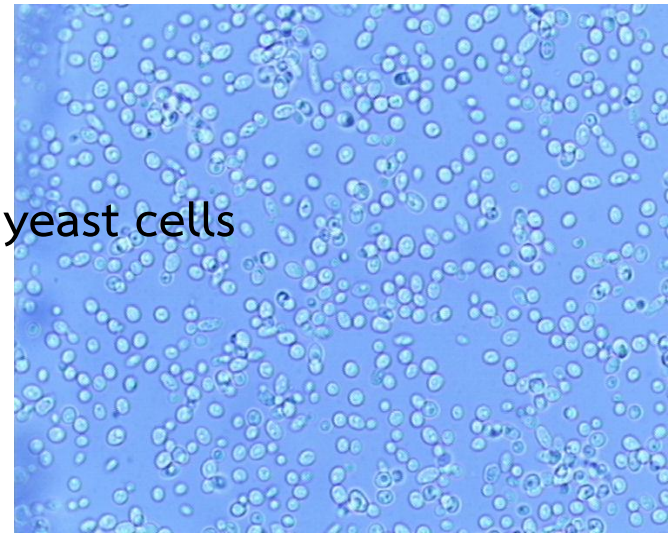
(Tinea versicolor)

KOH prep. & Lactophenol cotton blue

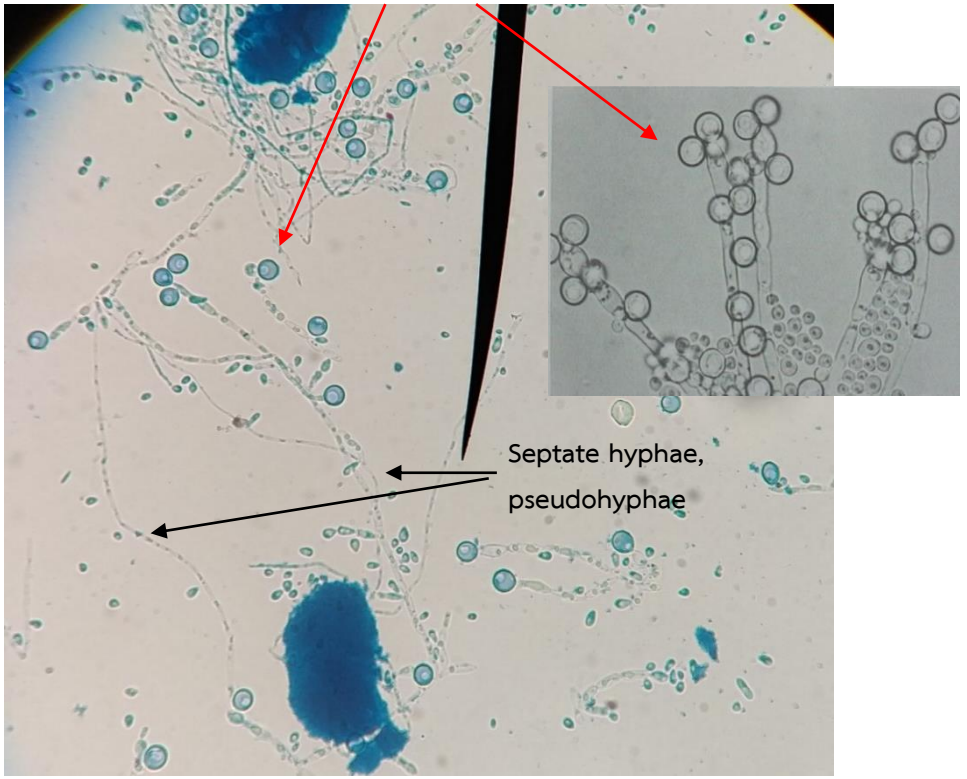


การสาธิต 2 ลักษณะที่ใช้ระบุชนิด ของ *Candida albicans*

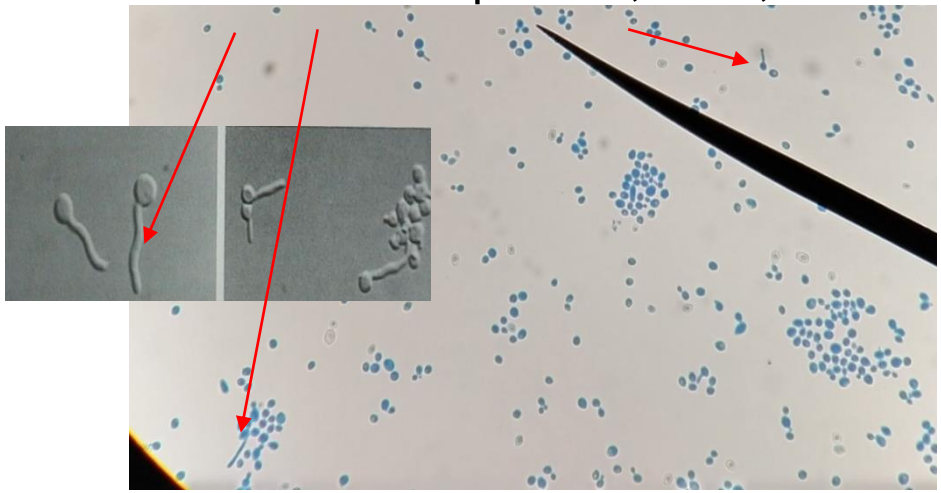
1. Budding yeast cells



2. Chlamydospores on Corn meal agar



3. Germ tubes in plasma, 37°C, 3 hrs.



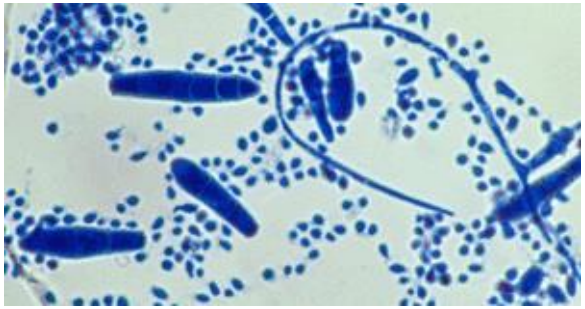
การสาธิต 3 ลักษณะของ Dermatophytes 3 ชนิด

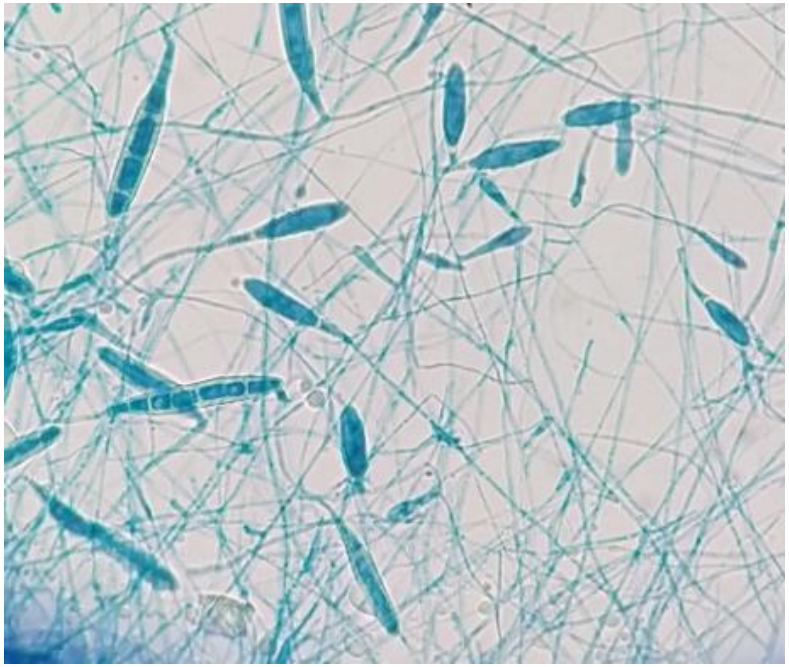
จากกล้องจุลทรรศน์ objective lens 40X

Trichophyton spp.:

septate hyphae,

macroconidia, microconidia





การสาธิต 3 ลักษณะของ Dermatophytes 3 ชนิด

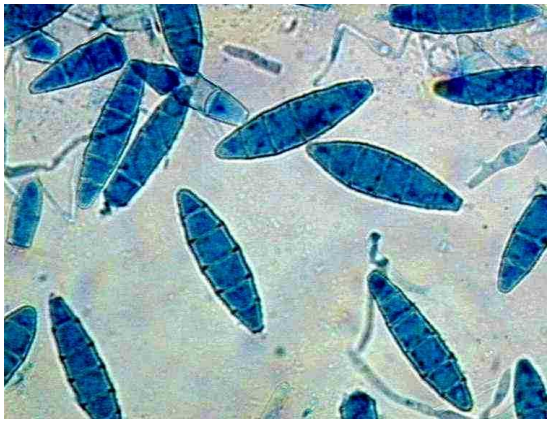
จากกล้องจุลทรรศน์ objective lens 40X

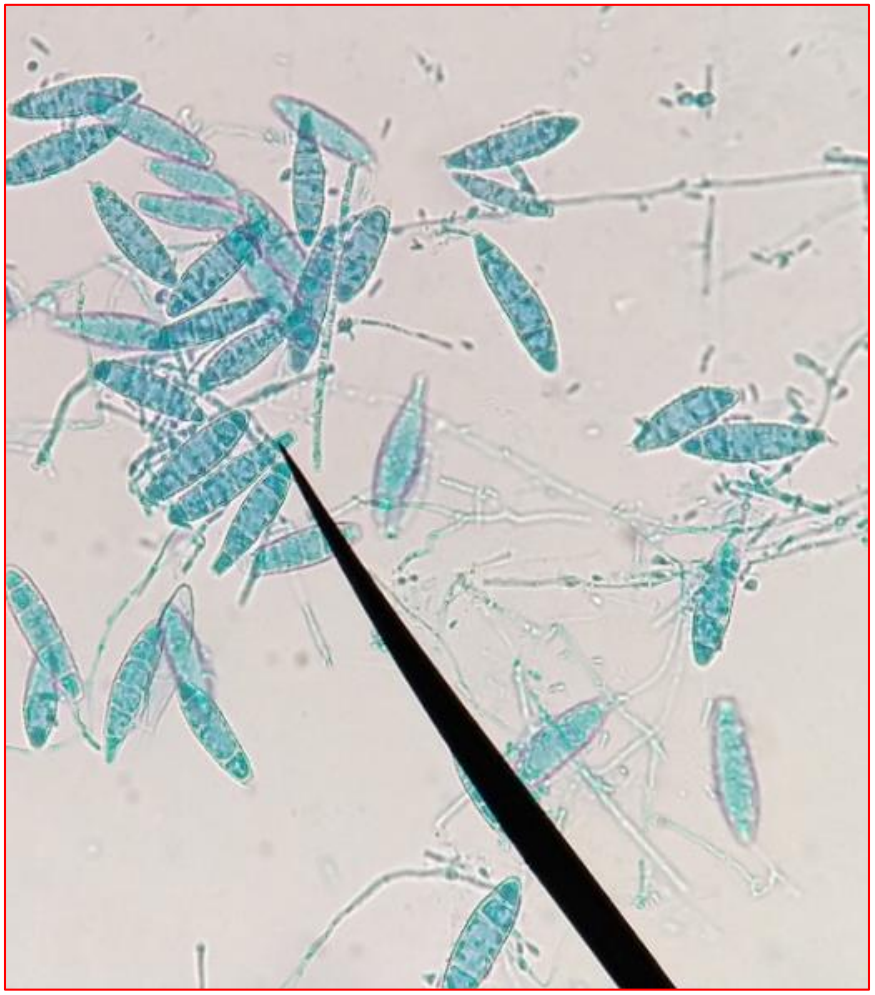
Microsporum gypseum:

septate hyphae,

macroconidia,

microconidia





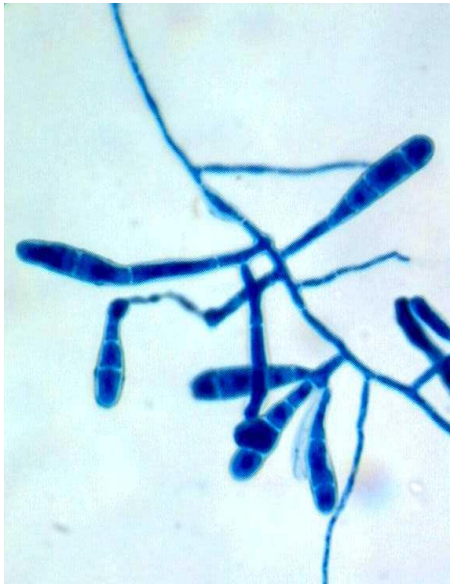
การสาธิต 3 ลักษณะของ Dermatophytes 3 ชนิด

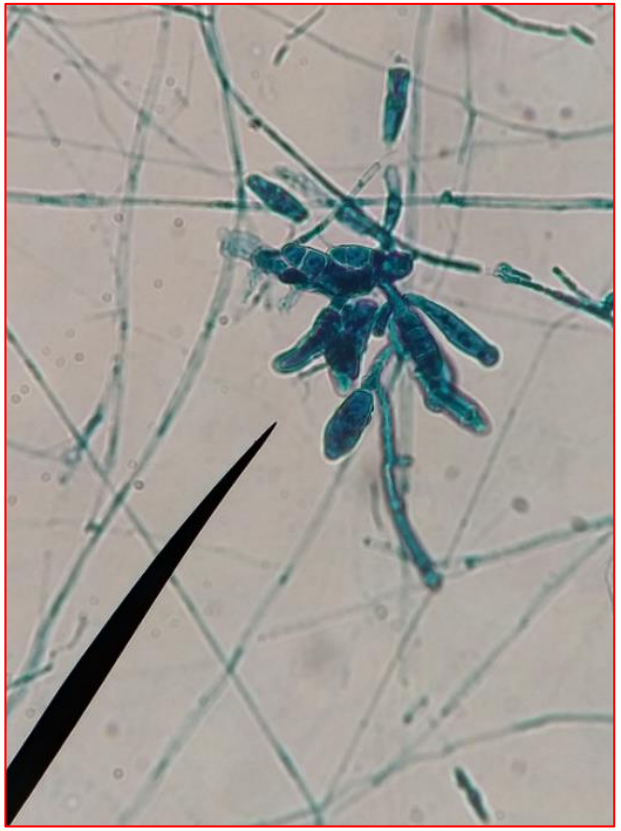
จากกล้องจุลทรรศน์ objective lens 40X

Epidermophyton floccosum:

septate hyphae,

macroconidia





Quiz

What are these diseases?

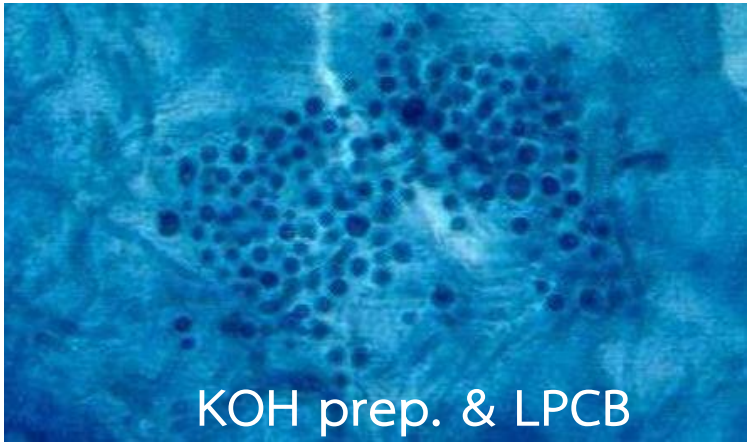
A. Tinea versicolor

B. Tinea nigra

C. Tinea corporis

D. Piedra

E. Pityriasis versicolor



What are these diseases?

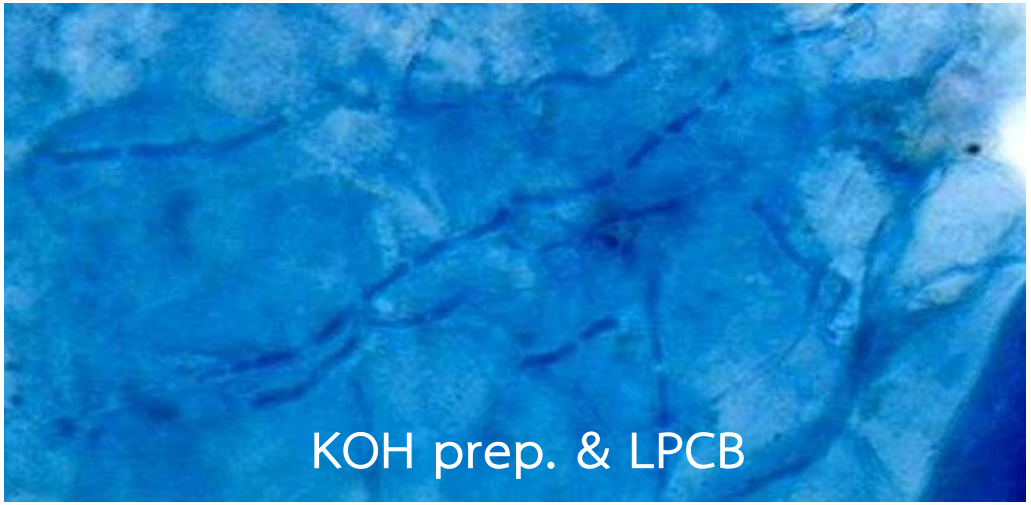
A. Tinea favosa

B. Tinea capitis

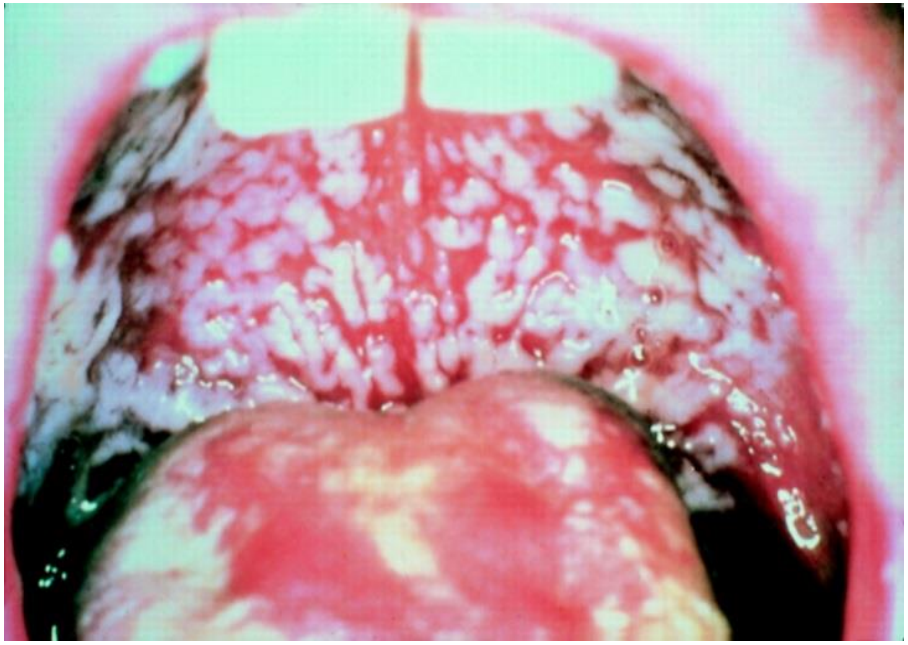
C. Tinea corporis

D. Tinea mannuum

E. Tinea pedis



www.exodontia.info



What is this disease?

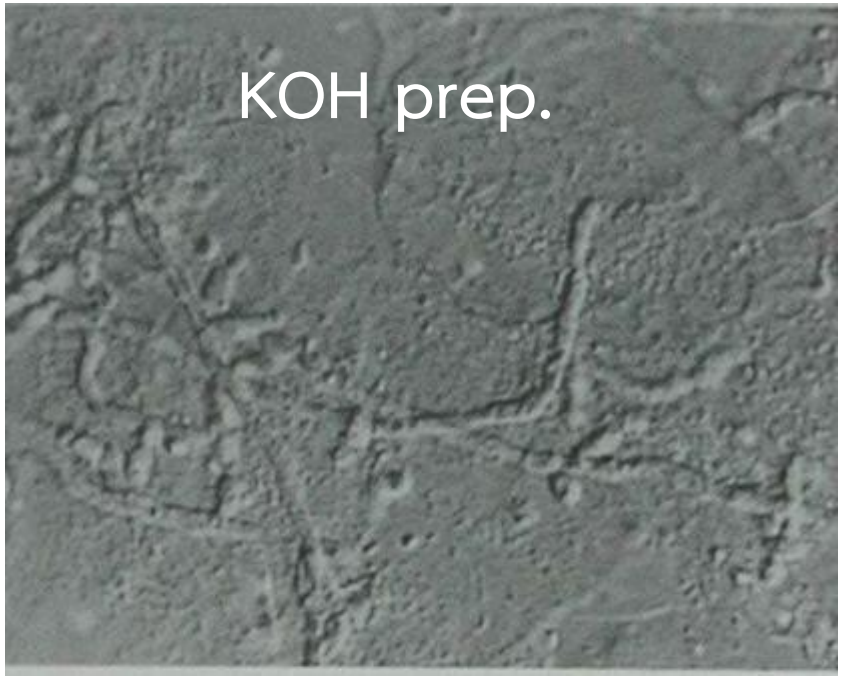
A. Onychomycosis

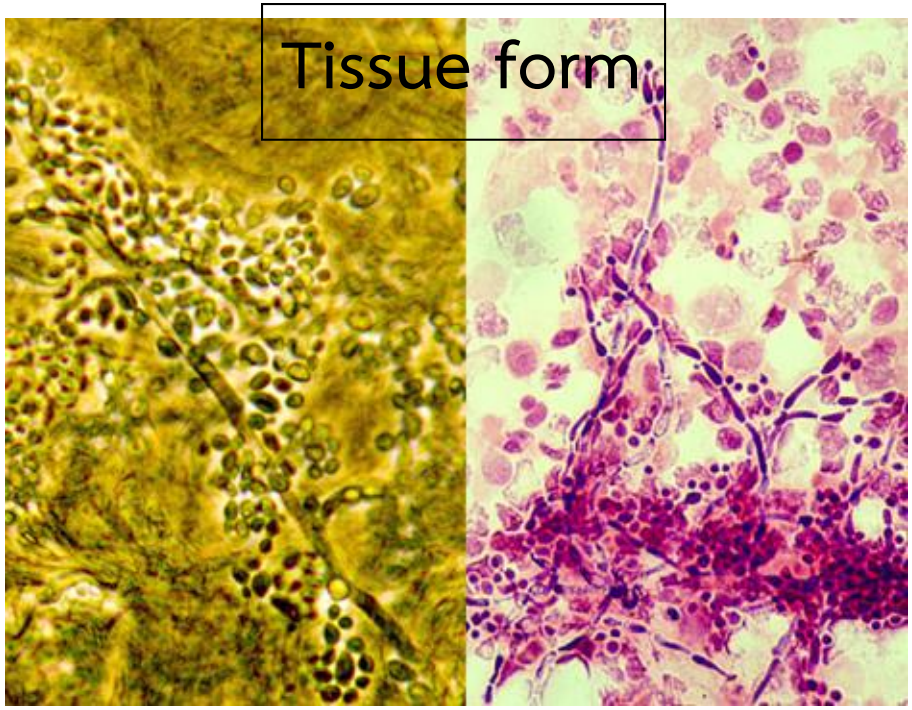
B. Paronychia

C. Oral candidiasis

D. Tinea favosa

E. Cryptococcosis





What is this disease?

A. Tinea imbricata

B. Tinea nigra

C. Candidiasis

D. Tinea unguium

E. Cryptococcosis