

A review on invasive aspergillosis in patients admitted to intensive care unit with emphasis on diagnostic methods

Mohammad Taghi Hedayati¹, Sadegh Khodavaisy¹, Masoud Aliali²

¹ Department of Medical Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received 16 Jan, 2010 ; Accepted 11 May, 2010)

Abstract

The genus *Aspergillus* is ubiquitous filamentous fungi with a wide distribution in nature. The species of *Aspergillus* are associated with a varied spectrum of diseases including allergy, superficial colonization and invasive infection in humans. Invasive aspergillosis (IA) is a serious and fulminate mycosis in immuno-deficient individuals. Over the last decade, IA has also been reported as a fungal infection in critically ill patients, admitted to ICU with high morbidity and mortality rate. However, long term admission in ICU, treatment with immuno-suppressive agents caused by increasing incidence of IA in the ICU. It is expressed that delay in proper diagnosis, no timely treatment and the presence of different underlying diseases and neutropenia are the important reasons of high mortality in these patients.

In spite of advances in diagnosis and treatment of IA, it appears that the occurrence of IA in ICU patients is due to lack of estimation and proper diagnosis of disease. In addition to traditional methods, using the specialized methods such as PCR, evaluation of serological markers including Galactomannan and β -D Glucan in different types of specimens, is necessary to show the true rate of IA risk in ICU patients and also to have a proper program for hygienic and preventive actions.

Along with the increase in the number of ICU units comes a surge in admission of patients in these centers, but because there was no such study in Iran, we reviewed the papers in this field to consider different aspects of IA with emphasis on diagnostic methods.

Key words: Invasive Aspergillosis, intensive Care Units, galactomannan, PCR

J Mazand Univ Med Sci 2009; 20(74): 99-112 (Persian).

مروری بر آسپرژیلوزیس تهاجمی در بیماران بستری شده در بخش مراقبت‌های ویژه با تاکید بر روش‌های تشخیصی

مسعود علیایی^۲صادق خداویسی^۱محمد تقی هدایتی^۱

چکیده

آسپرژیلوس از قارچ‌های رشته‌ای با انتشار بسیار وسیع در طبیعت می‌باشد. گونه‌های آسپرژیلوس طیف وسیعی از بیماری‌ها مثل آلرژی، آلودگی‌های سطحی و عفونت‌های تهاجمی را در انسان ایجاد می‌کنند. آسپرژیلوزیس تهاجمی بیماری شدید و کشنده‌ای می‌باشد که غالباً در افراد مبتلا به ضعف ایمنی اتفاق می‌افتد. بر اساس نتایج مطالعات انجام شده در طول یک دهه اخیر آسپرژیلوس تهاجمی بعنوان یکی از عفونت‌های قارچی و با مرگ و میر بالا در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه گزارش شده است. اگر چه با بستری شدن طولانی مدت بیماران دچار وضعیت وخیم در بخش مراقبت‌های ویژه و همچنین استفاده از داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی در این بیماران انتظار می‌رود که شیوع آسپرژیلوس تهاجمی همچنان رو به افزایش باشد. به تأخیر افتادن تشخیص قطعی، عدم درمان مناسب و به موقع وجود بیماری‌های مختلف زمینه‌ای و نوتروپنی از دلایل بالا بودن مرگ و میر بیماری ذکر گردیده است. علیرغم پیشرفت‌های اخیر در تشخیص و درمان بیماری، ظهور آسپرژیلوس تهاجمی در بخش مراقبت‌های ویژه معمولاً ناشی از نبود پیش بینی و تشخیص درست بیماری می‌باشد. استفاده از تکنیک‌های تشخیصی مثل PCR و ارزیابی آنتی ژن‌های گالاکتومانان و β -D-glucan به وسیله روش‌های سرولوژی در نمونه‌های مختلف علاوه بر روش‌های سنتی تشخیصی ضروری می‌باشد تا بتوان تصویر بهتری از جمعیت بیماران در معرض خطر آسپرژیلوس تهاجمی و برنامه‌ریزی‌های لازم جهت اقدامات بهتر بهداشتی و پیشگیرانه داشت. با عنایت به افزایش تعداد بخش مراقبت‌های ویژه در کشور و همینطور افزایش تعداد پذیرش بیماران در این بخش‌ها و همینطور عدم وجود مطالعه‌ای در این زمینه در مقاله حاضر سعی شده است با مرور بر تازه‌ترین بررسی‌های انجام شده بر روی آسپرژیلوزیس تهاجمی به جنبه‌های مختلف آن با تاکید بر روش‌های تشخیصی پرداخته شود.

واژه‌های کلیدی: آسپرژیلوزیس تهاجمی، بخش مراقبت‌های ویژه، PCR، گالاکتومانان

مقدمه

مواردی حتی از وسایل و تجهیزات اتاق‌های عمل نیز جدا شده است (۱-۳). علاوه بر آن در مطالعه‌ای دیگر مشخص گردید که خاک گلدان‌های موجود در بیمارستان‌ها نیز می‌تواند منبع مهمی برای آسپرژیلوس باشد (۴).

آسپرژیلوس از قارچ‌های رشته‌ای با انتشار بسیار وسیع در طبیعت می‌باشد. مطالعات قبلی ما نشان داده است که آسپرژیلوس از جمله شایع‌ترین قارچ‌های موجود در هوای داخل بیمارستان‌ها و منازل می‌باشد که در

این تحقیق طی شماره ۷۱-۸۸ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت شده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است.

مؤلف مسئول: محمد تقی هدایتی - ساری: جاده خزرآباد، مجتمع پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
E-mail: hedayat2001@yahoo.co.uk

۱. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲. گروه عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۲۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۹/۲/۱۳ تاریخ تصویب: ۸۹/۲/۲۱

می‌باشد (۹،۱۱) که اکثراً بعلت عدم اثبات تشخیص بیماری در مراحل اولیه آلودگی و بدنال آن شروع دیر هنگام درمان‌های ضد قارچی برای بهبود وضعیت بیماران می‌باشد (۹،۱۰).

تشخیص بیماری با استفاده از تصاویر رادیولوژی در اثر تظاهرات غیر طبیعی مثل آتلاکتازی و همچنین تنفس مصنوعی در اکثر بیماران محدود بوده و علائم Halo sign و Air-crescent که بیشتر در بیماران نوتروپنیک مشاهده می‌شود دارای حساسیت کم و حدود ۵ درصد می‌باشند (۱۲). اغلب روش‌های تشخیصی دیگر نیز مثل بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و کشت نمونه‌های بافتی بعلت وضعیت‌های زمینه‌ای بیماران مثل ترومبوسیتونی و شرایط وخیم کلینیکی که مانع استفاده از روش‌های تهاجمی مثل بیوپسی می‌شود غیر عملی می‌باشند. بعلاوه در بازنگری نمونه‌های مثبت اعلام شده توسط کشت و بررسی‌های سیتوپاتولوژیک اکثراً دارای نتایج منفی بوده و این روش‌ها حساسیت لازم را برای تعیین آلودگی خصوصاً در مراحل اولیه عفونت دارا نمی‌باشند (۱۳). بدلیل محدودیت این روش‌های تشخیصی و کشف‌گی بسیار بالای این بیماری، در سالیان اخیر استفاده از روش‌های غیر وابسته به کشت بر پایه تعیین آنتی ژن آسپرژیلوس در نمونه‌های بالینی بسیار مفید تشخیص داده شده است (۱۴-۱۶). این روش‌ها پزشکان را در تشخیص بیماری در مراحل اولیه، شروع هرچه سریعتر درمان‌های مؤثر، اصلاح نوع درمان، پیگیری پیشرفت بیماری و اثر داروهای تجویزی و سایر اقدامات کلینیکی توانمند می‌سازند.

با عنایت به افزایش تعداد بخش مراقبت‌های ویژه در کشور و همینطور افزایش تعداد پذیرش بیماران در این بخش‌ها که غالباً زمینه مناسب برای ابتلا به انواع بیماری‌های قارچی فرصت طلب را پیدا می‌نمایند و همینطور عدم وجود مطالعه‌ای در زمینه عفونت‌های

گونه‌های آسپرژیلوس طیف وسیعی از بیماری‌ها مثل آلرژی، آلودگی‌های سطحی و عفونت‌های تهاجمی را در انسان ایجاد می‌کنند (۵،۶). درگیری‌های ریوی بسیار معمول می‌باشند ولی انتشار سیستمیک به سایر ارگان‌های بدن نیز رخ می‌دهد. آسپرژیلوزیس تهاجمی (Invasive Aspergillosis) عفونت شدید و کشنده‌ای است که در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی، نوتروپنی، گرانولوماتوز مزمن، بدخیمی‌های خونی، دریافت کنندگان پیوند مغز استخوان، سلول‌های بنیادی و سایر بافت‌ها، دریافت طولانی مدت استروئیدها و آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده می‌شود (۴). آسپرژیلوس تهاجمی حتی در بیماران فاقد هر گونه ریسک فاکتور مشخص و نیز بیماران دچار وضعیت وخیم که به مدت طولانی در بخش مراقبت‌های ویژه بستری می‌شوند نیز رخ می‌دهد (۷) که با مرگ و میر بسیار بالا در این بیماران همراه می‌باشد (۸،۹). در یک مطالعه ۶/۷ درصد بیماران بخش مراقبت‌های ویژه علائم آسپرژیلوزیس تهاجمی را نشان دادند در حالی که ۶۴ درصد این بیماران فاقد ریسک فاکتورهای کلاسیک بیماری آسپرژیلوس تهاجمی بودند (۸). این یافته‌ها در برخی مطالعات دیگر نیز مورد تأیید قرار گرفته است (۹،۱۰).

با توجه به شرایط ویژه بیماران بستری شده در بخش مراقبت‌های ویژه، تشخیص اولیه و اختصاصی بیماری جهت شروع درمان‌های ضد قارچی بسیار ضروری بوده و نیازمند تکنیک‌های تشخیصی با ارزش و مناسب می‌باشد ولی با وجود پیشرفت‌های حاصل شده در روش‌های تشخیصی، این بیماری هنوز خوب و به موقع تشخیص داده نشده و تشخیص قطعی آن قبل از مرگ بیمار و قبل از تکثیر فراوان عامل قارچی با مشکل صورت می‌گیرد (۷). بقای بیماران علیرغم استفاده از داروهای ضد قارچی جدید مثل کاسپوفانجین و وریکونازول به طور کلی کم و در حدود ۵۰-۳۰ درصد

قارچی در این گروه از بیماران در مقاله حاضر سعی شده است با مرور بر تازه‌ترین بررسی‌های انجام شده بر روی آسپرژیلوز تهاجمی بعنوان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر بیماران بستری شده در بخش مراقبت‌های ویژه به جنبه‌های مختلف آن با تاکید بر روش‌های تشخیصی سریع و درمان بیماری پرداخته شود.

خصوصیات کلینیکی و انسیدانس آسپرژیلوس تهاجمی:
آسپرژیلوس تهاجمی یک آلودگی شدید و فرصت طلب در بیماران دچار نوتروپنی، اختلالات خونی، گرانولوماتوز مزمن و دریافت کنندگان ارگان‌های مختلف (۱۶،۱۱) و یکی از بزرگترین مشکلات بیماران دارای نقص سیستم ایمنی با میزان کشندگی بسیار بالا می‌باشد (۹). حدود ۸۰-۹۰ درصد آسپرژیلوس تهاجمی بصورت بیماری ریوی می‌باشد که علاوه بر آن درگیری سینوس‌ها نیز شایع می‌باشد (۶). علایم بالینی معمولاً غیر اختصاصی بوده و با دیگر علت‌های پنومونی‌های بیمارستانی تفاوت ندارد. علامت‌ها شامل تب، افزایش ترشحات تنفسی، افزایش نیاز به اکسیژن و خلط خونی می‌باشد. بیماران با وضعیت وخیم که به مدت طولانی در بخش مراقبت‌های ویژه بستری می‌شوند اغلب دچار انفیلتراسیون ریوی، آتلاکتازی، سندرم دیسترس حاد تنفسی می‌شوند در حالیکه بیماران با بیماری‌های ریوی قبلی (نظیر انسداد مزمن ریوی) نیز ممکن است به وسیله رادیولوژی قفسه سینه و با آشکار شدن حفراتی که از قبل دارند شناسایی شوند. بیماری آسپرژیلوس تهاجمی در بخش مراقبت‌های ویژه بر اساس واکنش‌های میزبان-پاتوژن دارای چند تظاهر کلینیکی می‌باشد (۱۹،۱۸). فراوانترین واکنش کلونیزاسیون در مسیرهای هوایی می‌باشد که در بیماران دارای نقص در کلیرانس موکوسیلاری و تغییرات ساختاری دیواره پروتئین‌ها به وجود می‌آید (۲۰). این تغییرات تقریباً در اکثر بیمارانی که از سیستم‌های تنفس مصنوعی استفاده می‌کنند وجود دارد و بطور قابل محسوسی آنها را مستعد کلونیزاسیون

آسپرژیلوس می‌کند و در صورت نقص شدید سیستم ایمنی در این بیماران آسپرژیلوس تهاجمی توسعه پیدا می‌کند. فرم دوم واکنش‌های آلرژیک می‌باشد که ریه‌ها و سینوس‌ها در اکثر افراد مبتلا درگیر می‌گردد و بصورت فراوان حتی در محیط خارج از بخش مراقبت‌های ویژه نیز وجود دارد. شایع‌ترین شکل بیماری حالت تهاجمی می‌باشد که در اشخاص با نقص در سیستم ایمنی مشاهده می‌شود و در بیشتر از ۹۰ درصد موارد ریه و سینوس‌ها مکان درگیری می‌باشد. حالت تهاجم شدید به عروق در افراد نوتروپنیک دیده می‌شود در حالیکه اینفیلتراسیون حفره‌ای شایع‌ترین حالت در بیماران دریافت کننده استروئید، بیماران دچار انسداد مزمن ریوی، سیروز و دریافت کنندگان پیوند عضو می‌باشد (۲۲،۲۱). شکل‌های دیگر بیماری که کمتر دیده می‌شود شامل اندوکاردیت، عفونت زخم، مدیاستینیت و استئومیلیت می‌باشد. از نشانه بسیار بد بیماری، عفونت سیستم عصبی مرکزی می‌باشد که در اثر انتشار خونی اتفاق می‌افتد که در چنین مواقعی ریه شایع‌ترین محل اولیه عفونت می‌باشد. گسترش عامل بیماری می‌تواند از طریق سینوس‌ها و یا بعد از جراحی‌های عصبی نیز رخ دهد (۲۳).

در مطالعات صورت گرفته شیوع آسپرژیلوس تهاجمی در بیماران با وضعیت بحرانی بسیار متفاوت بوده است (۲۵،۲۴،۱۳). به دلایل متعدد تعیین انسیدانس واقعی آسپرژیلوس تهاجمی نیز مشکل می‌باشد؛ زیرا اولاً جداسازی کلونیزاسیون از عفونت در موارد کشت مثبت از نظر حضور آسپرژیلوس هنوز یک بحث مجادله‌ای است. ثانیاً آزمایشات اتوپسی که شاید تنها راه تشخیص قطعی بیماری می‌باشد بطور روتین انجام نمی‌شود. ثالثاً علامت مشخصه رادیولوژیکی IA معمولاً در بیماران غیر نوتروپنیک حضور ندارد. با این حال در بررسی‌های انجام شده شیوع بیماری در بخش مراقبت‌های ویژه از ۰/۳ درصد تا ۱۹ درصد گزارش و پیش‌بینی شده است که سرعت مرگ و میر نیز در این

بیماران بیشتر از ۸۰ درصد باشد (۲۳) به تأخیر افتادن تشخیص قطعی، عدم درمان مناسب و به موقع و وجود بیماری‌های مختلف زمینه‌ای از دلایل بالا بودن مرگ و میر بیماری ذکر شده است (۲۵).

در ایران اگرچه مطالعه اختصاصی بر روی شیوع بیماری در بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه صورت نگرفته است ولی نتایج انتشار یافته چند مطالعه اخیر بر روی بیماران با ضعف سیستم ایمنی ظهور آسپرژیلوس تهاجمی را در این بیماران نشان داده است (۳۲-۲۶). در مطالعه بدیعی و همکاران در شیراز در طی سال‌های ۲۰۰۴ الی ۲۰۰۶ از ۱۹۴ بیمار مبتلا به بدخیمی‌های خونی ۷/۲ درصد آنها آسپرژیلوس تهاجمی را نشان دادند در این مطالعه شایع‌ترین گونه جدا شده، آسپرژیلوس فلاووس بود (۳۳). همین محققین در مطالعه‌ای دیگر شیوع عفونت قارچی تهاجمی را در بیماران ایمنونوساپرس ۱۷/۷ درصد گزارش نمودند که آسپرژیلوس بعد از کاندیدا دومین عامل شایع ایجاد کننده بیماری بود (۳۴). در مطالعه‌ای دیگر در تهران از ۲۴۱۰ فرد دریافت کننده پیوند کلیه ۲۱ مورد عفونت قارچی تهاجمی گزارش گردید که ۳ مورد آن ناشی از آسپرژیلوس بود (۳۵). در تازه‌ترین نتایج منتشر شده شریف پور و همکاران ۱۳ مورد عفونت قارچی تهاجمی را در ۵۹۵ دریافت کننده پیوند کلیه گزارش نمودند که آسپرژیلوس شایع‌ترین عامل بیماری‌زای جدا شده بود (۳۶).

موارد آسپرژیلوس تهاجمی براساس تعریف و دسته‌بندی EORTC¹:

بیماری‌های قارچی تهاجمی به دلیل بالا بودن میزان کشندگی از لحاظ تشخیصی بسیار مورد توجه می‌باشند. وجود یک تعریف مشخص و واضح از این عفونت‌ها جهت مطالعات کلینیکی و تحقیقاتی بسیار لازم و مفید می‌باشد. سازمان اروپایی درمان و تحقیقات سرطان /

(EORTC)، موسسه بین‌المللی آلرژی و گروه مطالعه‌ای بیماری‌های قارچی (MSG²) با هدف تشخیص بیماری‌های تهاجمی در افراد در معرض خطر و همچنین طراحی مطالعات کارآزمایی بالینی جهت بررسی داروهای جدید و استراتژی‌های مدیریتی، یک تعریف استاندارد شده‌ای جهت عفونت‌های تهاجمی قارچی برای تحقیقات اپیدمیولوژیکی و کلینیکی وضع نموده است. در این تعریف افراد مورد شک به بیماری آسپرژیلوزیس تهاجمی براساس فاکتورهای میزبان، معیارهای کلینیکی و قارچ‌شناسی در سه دسته Proven، Probable، Possible و در جدول شماره ۱ و ۲ خلاصه گردیده است (۳۷).

روش‌های تشخیصی

امروزه بیماری آسپرژیلوس تهاجمی بعنوان یک عفونت فرصت طلب در بیماران با وضعیت وخیم دست کم گرفته می‌شود (۳۹،۴۰). در دو مطالعه با انجام کالبدشکافی بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه نشان داده شد که عفونت‌های قارچی تهاجمی از شایع‌ترین مواردی می‌باشد که تشخیص آنها از دست می‌رود (۴۱،۴۲). این درحالی است که تشخیص در مراحل اولیه بیماری جهت درمان موفق بسیار ضروری می‌باشد و با توجه به وضعیت ویژه افراد بستری شده در بخش مراقبت‌های ویژه نیازمند تکنیک‌های تشخیصی با ارزش و اختصاصی در مراحل ابتدایی بیماری می‌باشد، ولی به علت سرکش بودن بیماری و نبود علائم و نشانه‌های مشخص در مراحل ابتدایی و انجام آزمایشات تشخیصی

جدول شماره ۱: دسته‌بندی افراد مورد شک به بیماری آسپرژیلوزیس تهاجمی بر اساس تعریف EORTC- MSG

مشاهده هایف قارچی در بررسی‌های هیستوپاتولوژی، سیتولوژی و آزمایش مستقیم نمونه‌های به دست آمده از طریق آسپیراسیون یا بیوپسی؛ کشت مثبت از نمونه‌های به دست آمده با روش‌های استریل	Proven
از نواحی استریل و مشکوک به عفونت از طریق مشاهدات رادیولوژیکی و کلینیکی (این موارد شامل نمونه‌ها برداشت شده از لاواژ برونکو آلوئولار، حفرات سینوسی بینی و ادرار نمی‌شود)؛	
کشت خون مثبت با عدم تغییر عامل پس از تکرار	

1. European Organisation for Research and Treatment of Cancer
2. Mycoses Study Group

با استفاده از تصاویر رادیولوژی خصوصاً در بیماران نوتروپنیک با ضعف شدید سیستم ایمنی در اثر تظاهرات غیرطبیعی مثل آتلاکتازی و همچنین تنفس مصنوعی و وضوح کمتر علایم رادیولوژیکی بدلیل اختلالات ایمنولوژیکی در این بیماران کمتر مورد استفاده قرار می گیرد. علایم Air-crescent sign و Halo sign که بیشتر در بیماران نوتروپنیک مشاهده می شود در بیماران این بخش دارای حساسیت کم و حدود ۵ درصد می باشد (۴۵،۴۴).

از اشکال مشاهده شده در سی تی اسکن است که به صورت ابهام اطراف یک گره یا انفیلتراسیون ناشی از تهاجم ارگانسم به رگ بوده و اکثراً در بیماران دچار نوتروپنی طولانی مدت مشاهده می شود.

استفاده از روش های تشخیصی کشت نمونه های بافتی و بررسی های هیستوپاتولوژیک بعلاوه وضعیت های زمینه ای بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه مثل ترومبوسیتوپنی و شرایط وخیم کلینیکی که مانع استفاده از روش های تهاجمی مثل بیوپسی می شود، محدود می باشد. همچنین حساسیت این روش ها در نمونه های ریوی بیماران حدود ۳۰ درصد بوده و از طرفی هم زمان مورد نیاز برای بررسی اکثر کشت ها حداقل ۴۸ ساعت می باشد که جهت تشخیص بیماری در مراحل اولیه مناسب نمی باشد (۱۲). اگرچه کشت مثبت می تواند نشان دهنده بیماری آسپرژیلوس تهاجمی باشد و اغلب اولین کلید تشخیصی در بیماران با وضعیت وخیم می باشد (۴۶) ولی این روش قادر به تفريق بين فرم های تهاجمی و کلونیزاسیون از هم نبوده و ارزش اخباری مثبت آن نیز متفاوت و بستگی به وضعیت سیستم ایمنی بیمار دارد که در بیماران فاقد نوتروپنی از ۲۰ تا ۶۰ درصد می باشد (۱۲). بعلاوه در بازنگری نمونه های مثبت اعلام شده توسط کشت و بررسی های هیستوپاتولوژیک اکثراً دارای نتایج منفی بوده و این روش ها حساسیت لازم را برای تعیین آلودگی خصوصاً در مراحل اولیه عفونت دارا نمی باشند (۴۶) آزمایش مستقیم میکروسکوپی نیز در صورت مثبت بودن کشت با ارزش است و دیدن هایف با تیغه های میانی

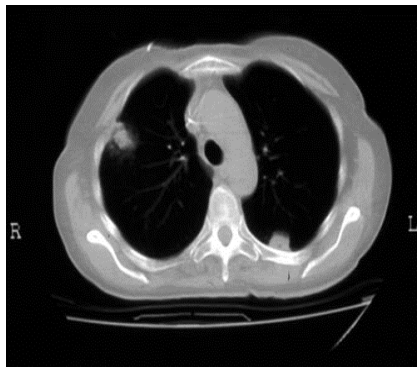
حداقل ۱ معیار فاکتور میزبان، ۱ معیار کلینیکی و ۱ معیار قارچ شناسی	Probable
حداقل ۱ معیار فاکتور میزبان و ۱ معیار کلینیکی با عدم حضور معیار قارچ شناسی	Possible

جدول شماره ۲: جزئیات مربوط به عوامل میزبان، معیارهای بالینی و قارچ شناسی بر اساس تعریف EORTC-MSG

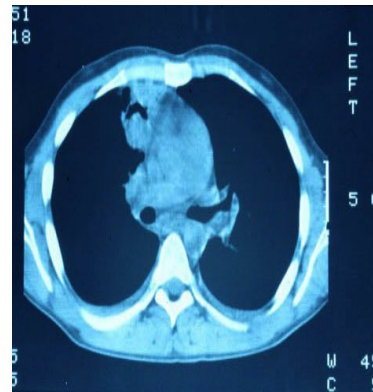
-نوتروپنی (نوتروفیل کمتر از $10^3 \times 500$ در لیتر برای بیشتر از ۱۰ روز) -دریافت کنندگان پیوند سلول های بنیادی آلوژنیک -استفاده طولانی مدت از کورتیکو استروئید ها (بجز بیماران با آسپرژیلوز) فاکتورهای میزبان برونکوپولمونر آرژیک با میانگین حداقل دوز ۳ میلی گرم برای هر کیلو گرم در روز پردنیزون به مدت بیشتر از ۳ هفته -درمان با دیگر داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی نظیر TNF-α blockers، سیکوسپورین و آنتی بادی های مونوکلونال اختصاصی (مثل Alemtuzumab) یا آتالوگ های نوکلوزید در طول ۹۰ روز قبل * بیماری قارچی قسمت های تحتانی دستگاه تنفسی -وجود حداقل ۳ علامت از ۳ علایم سی تی اسکن: -ضایعات متراکم، نامحدوده و دیواره مشخص با یا بدون علامت Halo sing -نشانه Air-crescent -حفره * تراکو برونشیت: -اولسر تراکو برونشیت، ندول، غشاء کاذب، پلاک یا اسکار مشاهده شده در بررسی های برونکوسکوپی معیارهای بالینی * عفونت های سینوسی بینی تصویر نشان دهنده سینوزیت و وجود حداقل یکی از ۳ علامت زیر -دردهای حاد موضعی (شامل درد های کشیده شده به سمت چشم) -زخم بینی با اسکار سیاه -گسترش از سینوس پارانازال به استخوانهای مجاور، از جمله به درون حلقه چشم عفونت سیستم عصبی مرکزی: وجود حداقل یکی از ۲ علامت -مشاهده زخم های کانوئی در تصویر -افزایش ضخامت منژینی در سی تی اسکن یا MRI * آزمایش مستقیم (سایتولوژی، مشاهده مستقیم یا کشت) قارچ های رشته ای در نمونه های خلط، لایوژ برونکو آلوئولار، شستوی برنشی یا نمونه آسپیره سینوس که با یکی از موارد زیر نمایان شود -وجود عناصر قارچی نشان دهنده قارچ های رشته ای -مثبت شدن کشت مجدد قارچ رشته ای مشخص معیارهای قارچ شناسی آزمایشات غیر مستقیم (جستجوی آنتی ژن، یا ترکیبات دیواره سلولی) -جستجوی آنتی ژن گلاکومانان در پلاسما، سرم، لایوژ برونکو آلوئولار یا مایع مغزی نخاعی -جستجوی β-D Glucan در سرم	
--	--

اضافی، اغلب به تأخیر می افتد و در کل تشخیص قطعی این بیماری قبل از تکثیر فراوان قارچ و یا قبل از مرگ بیمار به ندرت صورت می پذیرد (۴۳). همانطور که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است، روش های مختلف کشتی و راه های سریع غیر کشتی برای تشخیص بیماری آسپرژیلوس تهاجمی به کار برده می شوند. تشخیص بیماری

نشان دهنده احتمال بالای بیماری تهاجمی باشند، وابسته هستند (۴۷-۴۹).



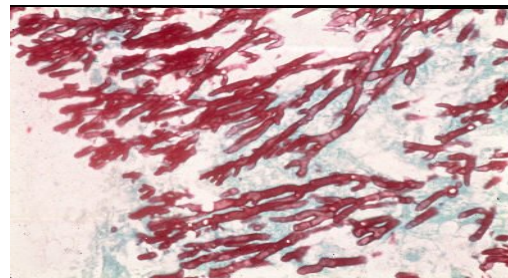
احتمال بیماری تهاجمی را افزایش می‌دهد. این پروسه‌های تشخیصی بیشتر به اطلاعات غیر مستقیمی که



شکل شماره ۱: (سمت چپ) Halo sign و (سمت راست) Air-crescent sign در سی تی اسکن

مراقبت‌های ویژه غیر ممکن بوده و خطرهای فراوانی را برای بیمار ایجاد می‌کند.

بعلت محدودیت این روش‌های تشخیصی و کشندگی بسیار بالای بیماری، می‌توان از روش‌های تشخیصی غیرکشتی و سریع مثل تعیین آنتی ژن گالاکتومانان، β 1-3-D-glucan و روش PCR که حساسیت بالایی داشته و پزشکان را در تشخیص بیماری در مراحل اولیه و شروع هرچه سریعتر درمان‌های مؤثر، اصلاح نوع درمان، پیگیری پیشرفت بیماری و اثر داروهای تجویزی و سایر اقدامات کلینیکی توانمند می‌سازند استفاده کرد. در بخش مراقبت‌های ویژه از روش تعیین آنتی ژن β 1-3-D-glucan به خاطر ارزش اخباری مثبت پایین و نتایج مثبت کاذب زیاد ناشی از واکنش متقاطع با دیگر عوامل باکتریایی و قارچی استفاده نمی‌شود (۵۰). روش تعیین گالاکتومانان در سرم بطور وسیعی در بیماران دچار نوتروپنی، بدخیمی‌های خونی، دریافت کنندگان پیوند مغز استخوان آلونژنیک و سلول‌های بنیادی مورد ارزیابی قرار گرفته است (۵۱، ۵۷، ۳۹، ۴۲). آنتی ژن گالاکتومانان پلی ساکاریدی است که در ترکیبات دیواره سلولی آسپرژیلوس وجود دارد و در طی تهاجم به بافت از هایف قارچ آزاد می‌شود. از آنجا که این آنتی ژن یک کربوهیدرات محلول در آب است می‌توان آنرا علاوه بر سرم



شکل شماره ۲: هایف رنگ آمیزی شده قارچ آسپرژیلوس در بافت

در بررسی نتایج کشت در بیماران در معرض خطر بالای عفونت، ۶۰ درصد گیرندگان پیوند مغز استخوان آلونژنیک، ۵۰ درصد بیماران دچار سرطان خون، ۶۰ درصد افراد دچار نوتروپنی و ۳۰ درصد بیماران دچار سوء تغذیه با بیماری آسپرژیلوزیس تهاجمی در ارتباط بودند. درحالی‌که در ۱۰-۳۰ درصد بیمارانی که در معرض خطر حد متوسط عفونت بودند مثل ۲۰ درصد افراد مبتلا به HIV، ۱۰ درصد افراد مصرف کننده کورتیکواستروئید، ۲۰ درصد افراد دریافت کننده پیوند اعضا، آسپرژیلوزیس تهاجمی بر اساس کشت مثبت از قسمت‌های غیر استریل بدن آن‌ها تشخیص داده شد (۴۳). نمونه‌گیری از بافت استاندارد طلایی برای تشخیص می‌باشد ولی انجام این روش در بیماران با وضعیت وخیم بستری در بخش

لاتکس از دلایل نتایج مثبت کاذب در این تست بیان شده‌اند (۵۴-۵۶). نتایج مثبت کاذب تست در نمونه‌های سرم بزرگسالان از ۵/۷ تا ۱۴ درصد بوده که این ممکن است به علت تشخیص نامطمئن موارد باشد (۵۷-۵۹) و در اطفال و نوزادان بیمار این میزان بیشتر و ممکن است تا ۸۳ درصد هم برسد (۳۹،۴۰،۵۵). از این رو توصیه می‌شود برای به دست آوردن نتایج دقیق در استفاده از شاخص‌های سرولوژیکی مثل گالاکتومانان و تفسیر نتایج مثبت یا منفی این تست‌ها دقت لازم صورت گیرد و همچنین پزشکان نیز باید از محدودیت‌های این آزمایشات مطلع بوده تا از آن به درستی در درمان و مدیریت وضعیت بیماران بستری شده در بخش مراقبت‌های ویژه استفاده کنند. امروزه از روش PCR نیز برای تعیین DNA اختصاصی آسپرژیلوس به فراوانی استفاده می‌شود. مطالعات مختلف در ارزیابی آسپرژیلوس تهاجمی به وسیله روش RT-PCR در نمونه لایوژ برونکوآلوئولار نشان داده‌اند که این روش نیز در تشخیص بیماری دارای اختصاصیت بسیار بالا می‌باشد (۶۰-۶۲). در مطالعه Kami حساسیت و اختصاصیت روش PCR جهت تشخیص آسپرژیلوس تهاجمی به ترتیب ۹۲ و ۷۹ درصد گزارش گردید (۶۳). نکته مهمی که باید به آن توجه شود این است که یک تست منفی نمی‌تواند تشخیصی آسپرژیلوس تهاجمی را رد کند و همچنین یک تست مثبت نیز دلالت بر تشخیص قطعی عفونت ندارد. از این رو آزمایشات باید به صورت مرتبط باهم و نه بطور جداگانه تفسیر شوند.

در سایر نمونه‌های بدست آمده از بیمار مثل ادرار، مایع مغزی نخاعی، مایع پلور، لایوژ برونکوآلوئولار و نمونه‌های بافتی (۳۱،۳۷،۵۱،۵۲) به وسیله آزمایش الیزای قابل دسترس در بازار (Platelia Aspergillus; Bio Rad) تعیین کرد. این روش در مقایسه با روش‌های تشخیصی دیگر از حساسیت و اختصاصیت بالاتری به ترتیب معادل ۹۴ و ۸۵ درصد برخوردار می‌باشد (۲۸،۵۱،۵۵،۵۹). Sulahian و همکاران در بیماران مورد بررسی تعیین آنتی‌ژن را در تشخیص اولیه بیماری آسپرژیلوس تهاجمی با ارزش‌تر از روش‌های دیگر مثل روش‌های کشتی و سی‌تی‌اسکن دانستند (۱۴). با توجه به اینکه این آنتی‌ژن در جریان خون به وسیله نوتروفیل‌های چرخشی از بین می‌رود و از طرفی هم خود قارچ برای زنده ماندن در بافت ریه کپسوله می‌شود، تحقیقات نشان داده است که نمونه لایوژ برونکوآلوئولار بهترین نمونه برای اندازه‌گیری گالاکتومانان در بیماران بستری شده در بخش مراقبت‌های ویژه بوده و دارای حساسیت بین ۷۶ تا ۱۰۰ درصد می‌باشد (۲۲،۱۵). البته روش تعیین گالاکتومانان ارای نتایج مثبت و منفی کاذب نیز می‌باشد که دلایل این واکنش‌ها تقریباً ناشناخته باقی مانده ولی مصرف آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام مثل Piperacillin-Tazobactam در بزرگسالان، نوع رژیم غذایی در نوزادان، واکنش متقاطع با اپی‌توپ‌های گونه‌های بیفیدوباکتریوم، استافیلوکوک، سودوموناس، درمان با سیکلوفسفامید، تولید اتو آنتی‌بادی‌ها در بیماری پیوند علیه میزبان، آلودگی‌های آزمایشگاهی و مشکلات تکنیکی مثل سلولز سوآپ‌های پنبه‌ای در آزمایش آگلوتیناسیون

جدول شماره ۳: تکنیک‌های مختلف تشخیصی آسپرژیلوس تهاجمی و قابلیت اجرا در بخش مراقبت‌های ویژه

ایزار تشخیص	یافته‌های تشخیصی	قابلیت اجرا در بخش مراقبت‌های ویژه	تفسیر
سی تی اسکن	Halo sign	خیر، علامت خیلی زود آشکار می‌شود (۵ روز قبل از حمله بیماری)	برای گونه‌های آسپرژیلوس اختصاصی نمی‌باشد و بخش مراقبت‌های ویژه اغلب در بیمارانی که مشکل در تنفس اکسیرن دارند عملی نمی‌باشد.
سی تی اسکن	Air crescent sign	توسط آتلاکتازی، سندرم دیسترس تنفسی حاد و یا افیوژن پلورال مبهم می‌باشد	بیماران با ترومبوسیتوپنی یا افرادی که برای تنفس اکسیرن مشکل دارند یوبسی اغلب امکان پذیر نیست.
هیستوپاتولوژیکی	مشاهده هایلپ با زاویه حاده (۴۵ درجه) دارای دیواره عرضی	بله (استاندارد طلایی)	
کشت	رشد در محیط‌های اختصاصی قارچ شناسی مثل محیط سابورو دکستروز آگار	نسبتاً قابلیت اجرا دارد ولی اختصاصیت و حساسیت پایینی دارد	ایزوله کردن گونه‌ها چند روز طول می‌کشد، ۵۰ درصد موارد بر اساس کشت و یافته‌های میکروسکوپی تشخیص داده نمی‌شود. افتراق کلون‌های آسپرژیلوس از بیماری تهاجمی دشوار می‌باشد. ارزش اخباری مثبت با افزایش ایمونوساپشن افزایش می‌آید.
روش مستقیم میکروسکوپی	روش سریع: آشکارسازی هایلپ قارچی (از جمله آسپرژیلوس) با رنگ آمیزی PAS، GMS و کالکوفلوروایت	نظیر کشت	نظیر کشت

سنجش سرمی گالاکتومانان	پلی ساکاریدری که توسط قارچ آزاد می شود. حد آستانه: $1/5-0/5$ (ng/ml)	بله	در بیماران غیر نوتروپنی بخصوص بیماران با وضعیت وخیم، مایع لاواژ برونکوآلوئولار از نمونه سرم بهترین باشد.
PCR	تشخیص DNA آسپرژیلوس Fumigatus	بله	در بیماران غیر نوتروپنی، بخصوص بیماران با وضعیت وخیم، مایع لاواژ برونکوآلوئولار از نمونه خون بهترین باشد.
$\beta(1,3)$ D-glucan	اجزاء دیواره سلولی قارچ	فقط چند مطالعه	برای گونه های آسپرژیلوس اختصاصی نبوده همچنین در مخمر و باکتری ها نیز وجود دارد.

افراد در معرض خطر ابتلا به آسپرژیلوس تهاجمی در بخش مراقبت های ویژه:

مطالعات و مشاهدات مختلف سال های اخیر نشان داده است که گونه های آسپرژیلوس از عوامل اصلی تهدید کننده جان بیماران دچار نقص سیستم ایمنی شدید می باشد (۶۴). علاوه بر آن بیماری ناشی از این قارچ در افراد با سیستم ایمنی سالم و بیماران دچار وضعیت های وخیم نظیر بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه نیز به فراوانی گزارش شده است (۶۵، ۶۶، ۴۳، ۴۹، ۵۱، ۶۵، ۶۶). جدول شماره ۴، خطر ابتلا به آسپرژیلوس تهاجمی را در بیماران بستری شده در بخش مراقبت های ویژه با تقسیم بندی در سه دسته شدید، متوسط و کم نشان می دهد.

فاکتورهای مختلف مثل استفاده طولانی مدت از آنتی بیوتیک ها، استفاده از کاتترهای درون رگی و سیستم تنفسی مصنوعی که در اکثر بیماران بستری شده در بخش مراقبت های ویژه وجود دارد بر روی سیستم های دفاعی افرادی که حتی از قبل هم سالم بوده اند اثرات مخربی می گذارد (۶۷). از لحاظ ایمونولوژیکی در بیماران دچار سپسیس دو مرحله وجود دارد؛ مرحله اولیه که در آن واکنش های التهابی زیاد است و سپس به دنبال آن پاسخ های ضد التهابی وجود دارد که منجر به کاهش التهاب شده و به اصطلاح سندرم پاسخ جبرانی ضد التهابی گفته می شود، این مرحله یک وضعیت نقص موقتی ایمنی اکتسابی می باشد که بیماران در خطر عفونت های فرصت طلب از قبیل آسپرژیلوس تهاجمی

قرار می گیرند (۶۸). غالب بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه تحت درمان با استروئیدها می باشند. تحقیقات نشان می دهند که غلظت های فارماکولوژیکی هیدروکورتیزول در محیط *in vitro* رشد قارچ آسپرژیلوس را افزایش می دهد (۶۹) و دریافت بالای استروئیدها قدرت دو خط دفاع سلولی (ماکروفاژ و نوتروفیل) را در مقابل آسپرژیلوس تهاجمی کاهش می دهد (۷۱، ۷۰). در بیماران دچار بیماری های ریوی درمان با استروئیدها حتی در دوز و دوره های کوتاه مدت باید به عنوان یک فاکتور خطر مهم برای بیماری آسپرژیلوس تهاجمی مدنظر قرار گیرد. آسپرژیلوس تهاجمی حتی در بیمارانی که از استروئیدهای تنفسی مصرف می نمودند نیز گزارش شده است (۷۲).

دو گروه دیگر در معرض خطر که در تعریف EORTC/MSG به آنها اشاره نشده است، بیماران دچار انسداد مزمن ریوی و بیماران سیروزی می باشند. بیماران دچار بطور فزاینده ای در معرض توسعه آسپرژیلوس تهاجمی می باشند و در اکثر مطالعات مواردی از آسپرژیلوس تهاجمی در این بیماران گزارش شده است (۷۳، ۷۲، ۳۹، ۲۲).

نقص کبدی عموماً بعنوان ریسک فاکتور برای آسپرژیلوس تهاجمی نمی باشد ولی موارد گزارش شده آسپرژیلوس تهاجمی در بیماران دارای بیماری کبدی همراه با نقص سیستم ایمنی نیز وجود دارد (۷۴). در بیماران سیروزی، سرکوب سیستم ایمنی از دلایل افزایش خطر ایجاد عفونت های تهاجمی می باشد (۷۵).

جدول شماره ۴: خطر آسپرژیلوس تهاجمی در بیماران بستری شده در بخش مراقبت های ویژه

افراد در معرض آلودگی به آسپرژیلوس تهاجمی			
زیاد	متوسط	کم	
نوتروپنی (نوتروفیل کمتر از 10^4 در 5×10^4 در لیتر)	درمان طولانی مدت با کورتیکواستروئید ها قبل از بستری شدن در بخش مراقبت های ویژه	سوختگی شدید	
بدخیمی های خونی	پیوند مغز استخوان اتولوگوس	دریافت کننده گان پیوند اعضا (نظیر قلب، کلیه، کبد)	
پیوند مغز استخوان آلوژنیک	بیماری انسداد مزمن ریوی	درمان با استروئید کمتر از ۷ روز	
	سیروز کبد همراه با ماندن بیشتر از ۷ روز در بخش مراقبت های ویژه	بستری بیشتر از ۲۱ روز در بخش مراقبت های ویژه	

درمان آسپرژیلوس تهاجمی به وسیله داروهای ضد قارچی:

درمان آسپرژیلوس تهاجمی بسیار دشوار بوده و علیرغم استفاده از مواد ضد قارچی جدید بیماری مرگ و میر بسیار بالایی دارد (۲۲،۷۶). در چند سال اخیر استفاده از فرمولاسیون لیپیدی آمفوتریسین B و تعداد زیادی از داروهای ضد قارچی جدید با تحمل پذیری بالا و اثرات جانبی کمتر از گروه تری آزول نظیر Posaconazole و Voriconazole و همچنین از گروه Echinocandin نظیر Caspofungin برای درمان آسپرژیلوس تهاجمی معمول شده است (۲۷،۱۰). پیشنهاد شده است که در موارد خیلی شدید بیماری از درمان های ترکیبی استفاده شود و در استفاده از این داروها باید احتیاط های لازم صورت پذیرد تا سمیت و عوارض جانبی آنها زیاد نباشد. آمفوتریسین B یکی از داروهای اصلی جهت درمان آسپرژیلوس تهاجمی برای مدت طولانی می باشد هر چند که این فرمولاسیون دارای اثرات جانبی زیادی مثل تب، نفروتوکسیسی، هیپوکالمی می باشد. در چند سال اخیر استفاده از Voriconazole که مشتقی از Fluconazole می باشد برای درمان آسپرژیلوس تهاجمی معمول شده است. در یک مطالعه با مقایسه درمان اولیه به وسیله Voriconazole و آمفوتریسین B معمولی نسبت نتایج درمان به ترتیب ۵۲/۸ به ۳۰/۶ درصد گزارش گردید (۶۶). امروزه در اکثر کشورها برای درمان آسپرژیلوس تهاجمی حاد و نجات بیمار از مرگ به صورت متداول از داروی Voriconazole استفاده می کنند. Posaconazole یک داروی جدید خوراکی و با طیف وسیع از دسته تری آزول ها می باشد که بر علیه اکثر قارچ هایی که در مقابل اکثر داروهای ضد قارچی مقاومت نشان می دهند مؤثر می باشد. این دارو در بیماران نوتروپنیک بعنوان پیشگیری کننده نیز مورد استفاده قرار می گیرد.

Anidulafungin, Micafungin, Caspofungin متعلق به رده جدیدی از داروهای ضدقارچی تحت عنوان Echinocandin می باشند. Echinocandin ها با توقف ساخت β -D-glucan (1,3) بعنوان اصلی ترین پلی ساکارید در دیواره سلولی قارچ از طریق ممانعت از سنتز β -D-glucan synthase (1,3) عمل می نمایند. Caspofungin متداول تر از بقیه داروهای این گروه بوده و دارای فعالیت ضد قارچی در مقابل طیف وسیعی از قارچ های مهم کلینکی بویژه آسپرژیلوس و کاندیدا می باشد. اگرچه استفاده از این دارو بعنوان خط اول درمان آسپرژیلوس تهاجمی هنوز به اثبات نرسیده است ولی با توجه به اثرات جانبی کمتر و قابل تحمل بودن بیشتر در بیماران، به تنهایی و یا بصورت ترکیب با آمفوتریسین B یا داروهای تری آزول کاربرد زیادی پیدا کرده است.

مطالعات نشان داده است که برخی اقدامات نظیر استفاده از اتاق LAS (Laminar Air Flow) یا فیلتراسیون های با قدرت ذره ای بسیار بالا در اتاق بیماران، عدم ساخت و ساز در مناطق بستری بیماران، توجه و مراقبت ویژه از تمیزی دوش های حمام و سیستم آب و عدم استفاده از گلدان ها و بوته های گل غیر استریل در اتاق بیماران می تواند باعث کاهش آسپرژیلوس تهاجمی در افراد دچار وضعیت وخیم باشد (۲،۲۲).

بحث

امروزه با توجه به استفاده فراوان از داروهای تضعیف کننده سیستم ایمنی و اینکه بسیاری از بیماران ممکن است برای مدت های طولانی در بخش مراقبت های ویژه بستری می شوند انتظار می رود که شیوع آسپرژیلوس تهاجمی رو به افزایش باشد. علاوه بر پیشرفت هایی که در سالیان اخیر در تشخیص و درمان

معرض خطر آسپرژیلوس تهاجمی را نشان داده و برنامه‌ریزی‌های لازم جهت اقدامات بهتر بهداشتی و پیشگیرانه صورت گیرد. باید تفسیر تکنیک‌های تشخیصی به نحوی صورت پذیرد که استفاده از این روش‌ها با ارزش‌تر از یافته‌های بعد از مرگ باشند. تشخیص بیماری در مراحل اولیه، شروع هرچه سریعتر درمان‌های مؤثر و سایر اقدامات پیشگیرانه می‌تواند ظهور بیماری در بخش مراقبت‌های ویژه را به شکل معنی‌داری کاهش دهد.

بیماری صورت پذیرفته است، گزارش رو به رشد موارد آسپرژیلوس تهاجمی در بخش مراقبت‌های ویژه معمولاً ناشی از نبود پیش‌بینی و تشخیص درست بیماری بوده است. استفاده از روش‌های تشخیصی غیر کشتی و سریع مثل PCR و ارزیابی آنتی ژن‌های گالاکتومانان و β -D-glucan در بیماران به کمک انواع مختلف نمونه‌ها (خصوصاً نمونه‌های لاواژ برونکوآلوئولار) ضرورتاً مورد نیاز می‌باشد تا تصویر بهتری از جمعیت بیماران در

References

1. Zaini F, Hedayati MT. Study of airborne fungi in the wards of 3 Tehran hospitals. J Med Coun IR Iran 1995; 13(3): 208-215.
2. Hedayati MT, Mohammadpour RA. A survey on the mycological contamination of the air and the equipment of operating rooms of 17 hospitals. J Med faculty Gilan Univ Med Sci 1999; 8(19): 56-61.
3. Hedayati MT, Mayahi S, Denning DW. A study on *Aspergillus* species in houses of asthmatic patients from Sari city, Iran and a brief review of the health effects of exposure to indoor *Aspergillus*. Environ Monit Assess 2009 Aug 21. [Epub ahead of print].
4. Hedayati MT, Mohseni-Bandpi A, Moradi S. A survey on the pathogenic fungi in soil samples of potted plants from Sari hospitals, Iran. J Hosp Infect 2004; 58: 59-62.
5. Latge JP. The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. Trends Microbiol 2001; 9: 382-389.
6. Stevens DA, Kan VL, Judson MA, Morrison VA, Dummer S, Denning DW, et al. Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2000; 30: 696-709.
7. Rello J, Esandi ME, Mariscal D, Gallego M, Domingo C, Valles J. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: report of eight cases and review. Clin Infect Dis 1998; 26: 1473-1475.
8. Young RC, Bennett JE, Vogel CL, Carbone PP, DeVita VT. Aspergillosis. The spectrum of the disease in 98 patients. Medicine (Baltimore) 1970; 49: 147-173.
9. Verweij PE, Denning DW. The challenge of invasive aspergillosis: increasing numbers in diverse patient groups. Int J Infect Dis 1997; 2: 61-63.
10. Koenraad H, Vandewoud E. Aspergillosis in the ICU-The new 21st century problem? Med Mycol 2006; 44: 71-76.
11. Bulpa PA, Dive AM, Garrino MG, Delos MA, Gonzalez MR, Evrard PA, et al. Chronic obstructive pulmonary disease patients with invasive pulmonary aspergillosis: benefits of intensive care? Intensive Care Med 2001; 27: 59-67.
12. Perfect JR, Cox GM, Lee JY, Kauffman CA, de Repentigny L, Chapman SW, et al. Mycoses Study Group The impact of culture isolation of *aspergillus* species: a hospital-based survey of aspergillosis. Clin Infect Dis 2001; 33: 1824-1833.
13. Roosen J, Frans E, Wilmer A, Knockaert D, Bobbaers H. Comparison of premortem

- clinical diagnoses in critically ill patients and subsequent autopsy findings. 6-Mayo Clin Proc 2000; 75: 562-567.
14. Sulahian A, Boutboul F, Ribaud P, Leblanc T. Value of antigen detection using an enzyme immunoassay in the diagnosis and prediction of invasive aspergillosis in two adult and pediatric hematology units during a 4-year prospective study. Cancer 2001; 91: 311-318.
15. Wheat LJ. Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. Transpl Infect Dis 2003; 5: 158-166.
16. Segal BH, Walsh TJ. Current approaches to diagnosis and treatment of invasive aspergillosis. Am J Respir Crit Care Med 2006; 173: 707-717.
17. Soubani AO, Chandrasekar PH. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. Chest 2002; 121: 1988-1999.
18. Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M. Invasive aspergillosis: disease spectrum, treatment practices, and outcome. Medicine (Baltimore) 2000; 79: 250-260.
19. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. The invasive and saprophytic syndromes due to *Aspergillus* spp. Med Mycol 2005; 43(Suppl 1): S207-238.
20. Nathan SD, Shorr AF, Schmidt ME, Burton NA. *Aspergillus* and endobronchial abnormalities in lung transplant recipients. Chest 2000; 118: 403-407.
21. Mehrad B, Paciocco G, Martinez FJ, Ojo TC, Ianettoni MD, Lynch JP. Spectrum of *Aspergillus* infection in lung transplant recipients: case series and review of the literature. Chest 2001; 119: 169-175.
22. Meersseman W, Lagrou K. Invasive Aspergillosis in the Intensive Care Unit. CID 2007; 45: 205.
23. Esteban A, Fernandez-Segoviano P. Is autopsy dead in the ICU? Intensive Care Med 2003; 29: 522-525.
24. Patterson TF. Advances and challenges in management of invasive mycoses. Lancet 2005; 366: 1013-1025.
25. Groll AH, Shah PM, Mentzel C, Schneider M, Just-Nuebling G, Huebner K. Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. J Infect 1996; 33: 23-32.
26. Einollahi B, Lessan-Pezeshki M, Pourfarziani V, Nemat E, Nafar M, Pour-Reza-Gholi F, et al. Invasive fungal infections following renal transplantation: a review of 2410 recipients. Ann Transplant 2008; 13(4): 55-58.
27. Badiee P, Kordbacheh P, Alborzi A, Ramzi M, Shakiba E. Molecular detection of invasive aspergillosis in hematologic malignancies. Infection. 2008; 36(6): 580-584.
28. Badiee P, Kordbacheh P, Alborzi A, Malekhoseini S, Ramzi M, Mirhendi H, et al. Study on invasive fungal infections in immunocompromised patients to present a suitable early diagnostic procedure. Int J Infect Dis 2009; 13(1): 97-102.
29. Sharifipour F, Rezaeetalab F, Naghibi M. Pulmonary fungal infections in kidney transplant recipients: an 8-year study. Transplant Proc 2009; 41(5): 1654-1656.
30. Ardalan MR, Ansarin K, Hejazi E, Nazemich M, Safa J. Aspergillosis after renal transplantation. Saudi J Kidney Dis Transpl 2005; 16(3): 330-333.
31. Mamishi S, Parvaneh N, Salavati A, Abdollahzadeh S, Yeganeh M. Invasive aspergillosis in chronic granulomatous disease: report of 7 cases. Eur J Pediatr 2007; 166(1): 83-84.

32. Marjani M, Tabarsi P, Najafizadeh K, Rashid Farokhi F, Sharifkashani B, Motahari S, et al. Pulmonary aspergillosis in solid organ transplant patients: a report from Iran. *Transplant Proc* 2008; 40(10): 3663-3667.
33. Badiie P, Kordbacheh P, Alborzi A, Ramzi M, Shakiba E. Molecular detection of invasive aspergillosis in hematologic malignancies. *Infection* 2008; 36(6): 580-584.
34. Badiie P, Kordbacheh P, Alborzi A, Malekhoseini S, Ramzi M, Mirhendi H, Mahmoodi M, Shakiba E. Study on invasive fungal infections in immunocompromised patients to present a suitable early diagnostic procedure. *Int J Infect Dis*. 2009; 13(1): 97-102.
35. Einollahi B, Lessan-Pezeshki M, Pourfarziani V, Nemati E, Nafar M, Pour-Reza-Gholi F, et al. Invasive fungal infections following renal transplantation: a review of 2410 recipients. *Ann Transplant* 2008; 13(4): 55-58.
36. Sharifipour F, Rezaeetalab F, Naghibi M. Pulmonary fungal infections in kidney transplant recipients: an 8-year study. *Transplant Proc* 2009; 41(5): 1654-1656.
37. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1813-1821.
38. Cornillet A, Camus C, Nimubona S, Tattevin P, Belleguic C, Chevrier S, et al. Comparison of epidemiological, clinical, and biological features of invasive aspergillosis in neutropenic and nonneutropenic patients: a 6-year survey. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 577-584.
39. Meersseman W, Vandecasteele SJ, Wilmer A, Verbeken E, Peetermans WE, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in critically ill patients without malignancy. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 621-625.
40. Vandewoude KH, Blot S, Depuydt P, Benoit D, Temmerman W, Colardyn F, et al. Clinical relevance of *Aspergillus* isolation from respiratory tract samples in critically ill patients. *Crit Care* 2006; 10: R31.
41. Dimopoulos G, Piagnerelli M, Berre' J, Salmon I, Vincent JL. Post mortem examination in the intensive care unit: still useful? *Intensive Care Med* 2004; 30: 2080-2085.
42. Boutboul F, Aleberti C, Leblanc T, Sulahian A, Gluckman E, Derouin F, et al. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: increasing antigenemia is associated with progressive disease. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 939-943.
43. Denning DW, Riniotis K, Dobrashian R, Sambatakou H. Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: case series, proposed nomenclature change, and review. *Clin Infect Dis* 2003; 37(Suppl.3): S265-280.
44. Kuhlman JE, Fishman EK, Siegelman SS. Invasive pulmonary aspergillosis in acute leukemia: characteristic findings on CT, the CT halo sign, and the role of CT in early diagnosis. *Radiology* 1985; 157: 611-614.
45. Vandewoude KH, Vogelaer SD. Medical imaging and timely diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 380-381.
46. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R, Ortiz-Leyba C, Leon C, Alvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, et al. Isolation of *Aspergillus* spp. from the respiratory tract in critically ill

- patients: risk factors, clinical presentation and outcome. *Crit Care* 2005; 9: R191-199.
47. Reichenberger F, Habicht J, Matt P, Frei R, Soler M, Bolliger CT, et al. Diagnostic yield of bronchoscopy in histologically proven invasive pulmonary aspergillosis. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 1195-1199.
48. Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 609-622.
49. Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *Am J Med* 1996; 100: 171-178.
50. Digby J, Kalbfleisch J, Glenn A, Larsen A, Browder W, Williams D. Serum glucan level aren't specific for presence of fungal infections in intensive care unit patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10: 882-885.
51. Hayden R, Knapp PK, Brand D. Detection of *Aspergillus* galactomannan antigen in pediatric serum samples: a performance evaluation of the Bio-Rad Platelia *Aspergillus* EIA. Imedex Inc., USA. Proceeding of Focus on Fungal Infections meeting 13 March 19-21, 2003, Maui, Hawaii.
52. Hebart H, Löffler J, Reitze H, Engel A, Schumacher U, Klingebiel T, et al. Prospective screening by a panfungal polymerase chain reaction assay in patients at risk for fungal infections: implications for the management of febrile neutropenia. *Br J Haematol* 2000; 111: 635-640.
53. Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Pappas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the beta1-3D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 654-659.
54. Sulahian A, Touratier S, Ribaud P. False positive test for *Aspergillus* antigenemia related to concomitant administration of piperacillin and tazobactam. *N Engl J Med* 2003; 349: 2366-2367.
55. Viscoli C, Machetti M, Cappellano P, Bucci B, Bruzzi P, Van Lint MT, et al. False-positive galactomannan Platelia *Aspergillus* test results for patients receiving piperacillin/tazobactam. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 913-916.
56. Mennink-Kersten MA, Klont RR, Warris A, Opden Camp HJ, Verweij PE. Bifidobacterium lipoteichoic acid and false ELISA reactivity in *aspergillus* antigen detection. *Lancet* 2004; 363: 325-327.
57. Rohrlach P, Sarfati J, Mariani P, Duval M, CAROL A, Saint-Martin C, et al. Prospective sandwich enzymelinked immunosorbent assay for serum galactomannan: early predictive value and clinical use in invasive aspergillosis. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15: 232-237.
58. Maertens J, Verhaegen J, Demuyneck H, Brock P, Verhoef G, Vandenberghe P, et al. Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3223-3228.
59. Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, Van Eldere J, Boogaerts M. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood* 2001; 97: 1604-1610.
60. Pham AS, Tarrand JJ, May GS, Lee MS, Kontoyannis DP, Han XY. Diagnosis of invasive mold infection by real-time

- quantitative PCR. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 38-44.
61. Raad I, Hanna H, Huaranga A, Sumoza D, Hachem R, Albitar M. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis using polymerase chain reaction-based detection of *Aspergillus* in BAL. *Chest* 2002; 121: 1171-1176.
62. Raad I, Hanna H, Sumoza D, Albitar M. Polymerase chain reaction on blood for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in cancer patients. *Cancer* 2002; 94: 1032-1036.
63. Kami M, Fukut T, Ogawaz S, Kazuyama Y, Machida U, Tanaka Y, et al. Use of realtime PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1504-1512.
64. Spiess B, Buehhdiet D, Baust C, Skladny H, Seifarth W, Zeilfelder U, et al. Development of a LightCycler PCR assay for detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* DNA in clinical samples from neutropenic patients. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1811-1816.
65. Rees JR, Pinner RW, Hajjeh RA, Brandt ME, Reingold AL. The epidemiological features of invasive mycotic infections in the San Francisco Bay area, 1992-1993: results of population-based laboratory active surveillance. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 1138-1147.
66. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, Bennett JE, Greene RE, Oestmann JW, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 2002; 347: 408-415.
67. Polderman KH, Girbes ARJ. Central venous catheter use, part 2: infectious complications. *Intensive Care Med* 2002; 28: 18-28.
68. Hartemink KJ, Paul MA, Spijkstra JJ, Girbes AR, Polderman KH. Immunoparalysis as a cause for invasive aspergillosis? *Intensive Care Med* 2003; 29: 2068-2071.
69. Karam GH, Griffin FM, Jr. Invasive pulmonary aspergillosis in nonimmunocompromised, nonneutropenic hosts. *Rev Infect Dis* 1986; 8: 357-363.
70. O'Donnell MR, Schmidt GM, Tegtmeier BR, Faucett C, Fahey JL, Ito J, et al. Prediction of systemic fungal infection in allogeneic marrow recipients: impact of amphotericin prophylaxis in high-risk patients. *J Clin Oncol* 1994; 12: 827-834.
71. Valles J, Mesalles E, Mariscal D, Del Mar Fernandez M, Pena R, Jimenez JL, et al. A 7-year study of severe hospital-acquired pneumonia requiring ICU admission. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1981-1988.
72. Leav BA, Fanburg B, Hadley S. Invasive pulmonary aspergillosis associated with high-dose inhaled fluticasone. *N Engl J Med* 2000; 343: 586.
73. Martin SI, Marty FM, Fiumara K, Treon SP, Gribben JG, Baden LR. Infectious complications associated with alemtuzumab use for lymphoproliferative disorders. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 16-24.
74. Ascah KJ, Hyland RH, Hutcheon MA, Urbanski SJ, Pruzanski W, St Louis EL, et al. Invasive aspergillosis in a "healthy" patient. *Can Med Assoc J* 1984; 131: 332-335.
75. Bailey RJ, Woolf IL, Cullens H, Williams R. Metabolic inhibition of polymorphonuclear leucocytes in fulminant hepatic failure. *Lancet* 1976; 1: 1162-1163.
76. Denning DW. Echinocandin antifungal drugs. *Lancet* 2003; 362: 1142-1151.