ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of fungal colonization and specific IgG against Aspergillus fumigatus in patients with pulmonary tuberculosis

Yousef Azimi[1],
Mohammad Taghi Hedayati[2],
Atosa Doroudinia[3],
Bita Mousavi[4],
Akhtar Ahmadi[5],
Alireza Khalilian[6]

[1] MSc in Medical Mycology, Invasive Fungi Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Professor, Invasive Fungi Research Center, Department of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Associate Professor, Transplantation Research Center, National Research Institute for Tuberculosis and Lung Disease, Department of Pathology Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] PhD Student in Medical Mycology, Invasive Fungi Research Center, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] MSc in Medical Mycology, Transplantation Research Center, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[6] Professor, Department of Biostatistics, Psychiatry and Behavioral Sciences Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received July 12, 2014 ; Accepted November 8, 2014)

Abstract

Background and purpose: *Aspergillus* is a ubiquitous fungus, which causes a wide spectrum of infections including invasive pulmonary aspergillosis (IPA), depending on the patient's immune status and underlying lung disease. Among the *Aspergillus* spp, *A. fumigatus* remains the predominant agent of IPA. In patients with a preexisting lung cavity from a variety of causes, such as pulmonary tuberculosis (TB) *Aspergillus* can colonize and grow into the cavity to form a pulmonary aspergilloma. In this present study we assessed TB patients for aspergilloma based on culture and non-culture based methods

Materials and methods: During one year, we studied 124 patients with TB at Massih Daneshvari hospital from Tehran, Iran. Sputum specimens were analyzed by direct microscopic examination (DME) with 20% potassium hydroxide. These samples were also processed for fungal culture. The clinical and radiological features or CT-scan report of all patients were recorded. All patients were screened for serum specific IgG against *A. fumigatus*, using *Aspergillus* IgG ELISA Kit (Genesis Diagnostics Ltd, Cambridgeshire, UK). The results are expressed in U/mL. IgG >12 U/mL was considered as positive result based on kit manufacturer instruction.

Results: Out of 124 patients with tuberculosis (66 male, 58 female, age range: 10-91 years), 54 had abnormal chest radiographic findings. Chest X-ray findings showed that 48 patients (38.7%) exhibited residual cavities (31 cases in right lobe, 10 in left lobe and 7 in both lung). Round shaped mass lesion was detected only in 6 patients (6.8%). DME of sputum was positive in 10 patients for septate fungal hyphae. *A. fumigatus* was grown from 14 samples of TB patients. Out of 124 TB patients, 55(44.3%) cases were positive for specific serum IgG against *A. fumigatus*. There was a significant relationship between positive culture, DME and serum IgG profile level ($P< 0.05$). Totally, three patients (2.4%) met criteria for aspergilloma

Conclusion: Colonization with *Aspergillus* in preexisting lung cavity produced by TB should be considered as a risk factor for aspergilloma

Keywords: *Aspergillus fumigatus*, Colonization, tuberculosis, aspergilloma

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(118): 33-41 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۸ آبان سال ۱۳۹۳ (۴۱-۳۳)

ارزیابی بیماران مبتلا به توبرکلوزیس ریوی از نظر کلونیزاسیون قارچی و ایمنوگلوبین G اختصاصی سرمی علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس

یوسف عظیمی[۱]
محمد تقی هدایتی[۲]
آتوسا درودی نیا[۳]
بیتا موسوی[۴]
اختر احمدی[۵]
علیرضا خلیلیان[۶]

چکیده

سابقه و هدف: آسپرژیلوس‌ها از جمله قارچ‌هایی هستند که در همه جا حضور دارند. این قارچ بسته به وضعیت ایمنی میزبان موجب ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها بویژه آسپرژیلوزیس تنفسی مهاجم وحادمی شود. از بین گونه‌های مختلف آسپرژیلوس گونه فومیگاتوس مهم‌ترین عامل بیماری آسپرژیلوزیس تنفسی می‌باشد در بیمارانی که ریه آن‌ها به علل مختلف، مانند توبرکلوزیس تنفسی، حفره ایجاد شده است آسپژیلوس می‌تواند در داخل حفره‌ها کلونیزه و رشد کند و به شکل آسپرژیلومای ریوی در آید. در مطالعه حاضر بیماران مبتلا به توبرکلوزیس ریوی از نظر کلونیزاسیون قارچی و IgG اختصاصی سرمی علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند.

مواد و روش‌ها: در طول یکسال ۱۲۴ بیمار مبتلا به توبرکلوزیس مراجعه‌کننده به بیمارستان مسیح دانشوری تهران وارد مطالعه شده‌اند. خلط این بیماران باروش میکروسکوپی مستقیم با KOH ۲۰ درصد و هم‌چنین کشت نمونه از نظر قارچ آنالیز شدند. خصوصیات رادیوگرافی وکلینیکی یا گزارش سی‌تی اسکن از تمامی بیماران ثبت شد. همه بیماران از نظر IgG اختصاصی بر علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس با استفاده از کیت الایزا غربالگری شدند. نتایج براساس دستورالمعل شرکت سازنده کیت (IgG بیش‌تر از ۱۲ واحد در میلی‌لیتر) مثبت در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از ۱۲۴ بیمار با سابقه توبرکلوزیس ۶۶ نفر مرد بودند و محدوده سنی آن‌ها ۱۰تا ۹۱ سال بود. ۵۴ بیمار یافته‌های غیر طبیعی رادیو گرافی داشتند. یافته‌های رادیوگرافی قفسه سینه در ۴۸ بیمار (۳۸/۷ درصد) حفره را نشان داد (۳۱ نفر در لوب راست و ۱۰ نفر در لوب چپ و ۷نفر در هر دو لوب). در ۶ بیمار (۶/۸ درصد) توده یافت شد. آزمایش مستقیم ۱۰ بیمار از نظر وجود هایف قارچی با دیواره عرضی مثبت بود. از ۱۲۴ بیمار ۵۵ نفر (۴۴/۳ درصد) از نظر IgG برعلیه آسپرژیلوس فومیگاتوس مثبت شدند. ار تباط معنی‌داری بین کشت مثبت، آزمایش مستقیم و IgG سرم وجود داشت ($p<۰/۰۵$).

استنتاج: کلونیزه شدن آسپرژیلوس‌ها در حفره ریوی حاصل از توبرکلوزیس، یکی از فاکتورهای خطر در ابتلا به شکل ویژه‌ای از بیماری یعنی آسپرژیلوما می‌باشد.

واژه های کلیدی: آسپرژیلوس فومیگاتوس، کلونیزاسیون، توبرکلوزیس، آسپرژیلوما

مقدمه

آسپرژیلوس از قارچ‌های ساپروفیتی رشته ایی با انتشار بسیار وسیع در طبیعت می‌باشد. اسپور این قارچ به فراوانی در هوای بیرون و داخل ساختمان ها وجود دارد(۲،۱). تنفس این اسپورها بسته به وضعیت ایمنی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۲۰۷- ۹۱ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.
مولف مسئول: محمد تقی هدایتی- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: hedayatimt@gmail.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استاد، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشیار، گروه پاتولوژی، مرکز تحقیقات پیوند، انستیتو تحقیقات ملی سل و بیماری‌های ریوی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. دانشجوی دکترای قارچ شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. کارشناس ارشد قارچ شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات پیوند، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۶. استاد، گروه آمار زیستی، مرکز تحقیقات روان پزشکی و علوم رفتاری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۴/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۵/۲۹ تاریخ تصویب :۱۳۹۳/۸/۱۷

افراد با علائم کلینیکی متنوعی همراه است. در افراد با صلاحیت ایمنی آسپرژیلوس می تواند در حفره‌هایی که در ریه در اثر وضعیت‌های مختلفی نظیر توبرکولوز، آبسه‌های درمان شده و سارکوئیدوزیس ایجاد شده، سبب آسپرژیلومای ریوی شوند(۶-۳)؛ هم‌چنین می‌توانند شروع‌کننده یک پاسخ ایمنی شدید نظیر وضعیت کلینکی خاصی بنام آسپرژیلوزیس ریوی برونشی آلرژیک شوند(۷). در افراد با ایمنی به مخاطره افتاده قارچ می‌تواند با تهاجم به بافت ریه ایجاد آسپرژیلوزیس ریوی تهاجمی نماید(۸). علاوه بر آن گزارشاتی از آسپرژیلوزیس مزمن نکروتیک ریوی در بیماران با ایمونوساپرشن خفیف نیز وجود دارد(۱۰،۹). هر چند جداسازی آسپرژیلوس از ترشحات ریوی بیماران می‌تواند با ابهاماتی از جنبه کلینیکی همراه باشد ولی کلونیزاسیون با میکروارگانیسم‌های مختلف نظیر آسپرژیلوس در ریه به ویژه در بیمارانی که حفره در ریه دارند بسیار مورد توجه بوده است(۶-۳). Moodley و همکاران(۱۱) دریک مطالعه مروری میزان بروز آسپرژیلومای ریوی در حفره‌های ایجاد شده بوسیله توبرکولوز را ۱۱تا ۱۷ درصد گزارش نموده اند. Chen و همکاران(۱۲) اظهار داشتندکه زمان شکل گیری آسپرژیلوما در حفرات ناشی از توبرکولوز می تواند کم‌تر از یک تا ۳۰ سال پس از ابتلا به توبرکولوز، متغیر باشد. از این رو ارزیابی کلونیزاسیون ریوی از نظر انواع قارچ های بالقوه پاتوژن بویژه آسپرژیلوس پس از ابتلا به توبرکولوز و پیدایش حفره در ریه اهمیت قابل توجهی دارد.

یکی از جنبه‌های با اهمیت در جدا شدن آسپرژیلوس از نمونه‌های ریوی، تفکیک کلونیزاسیون‌گذرای قارچ در ریه از عفونت احتمالی می‌باشد؛ که اغلب انجام آزمایشات تشخیص تکمیلی را ضروری می‌سازد. علاوه بر آن مطالعات نشان داده است که کلونیزاسیون ریوی با انواع میکروارگانیسم‌های بالقوه پاتوژن از جمله آسپرژیلوس در برخی بیماران نظیر افراد با بیماری انسدادی مزمن ریوی، سیستیک فیبروزیس و یا توبرکولوز با پیش آگهی نامناسب و مرگ ومیر بالا مرتبط می‌باشد(۱۷-۱۳). شکل گیری آنتی بادی بر علیه آسپرژیلوس در بیماران دارای سیستم ایمنی سالم اغلب قابل مشاهده می‌باشد(۱۹،۱۸). حضور آنتی بادی IgG اختصاصی بر علیه آسپرژیلوس علاوه بر آنکه نشان دهنده تماس مکرر فرد با قارچ می‌باشد؛ می‌تواند در تیترهای مشخص به عنوان یک روش تشخیصی مکمل در عفونت‌های احتمالی ناشی از آن نیز باشد. آنتی‌بادی بر علیه آسپرژیلوس با روش‌های مختلف قابل اندازه‌گیری است؛ که در این میان روش الیزا از حساسیت و اعتبار ویژه‌ایی برخوردار می‌باشد(۱۹،۲۰). هرچند گزارش‌هایی از آسپرژیلوما در بیماران مبتلا به توبرکولوز از کشورهای مختلف از جمله از ایران موجود است(۶-۳،۱۸،۲۱،۲۲) ولی تنها در یک مطالعه به وضعیت بیماران مبتلا به توبرکولوز از نظر حضور قارچ در ریه در ایران پرداخته شده است(۲۳). از آن‌جایی که کلونیزاسیون با قارچ‌ها بویژه آسپرژیلوس در افراد مبتلا به توبرکولوزیس می‌تواند عامل زمینه ایی مهم در ابتلا این بیماران به عفونت‌های متنوع قارچی باشد؛ از این رو در مطالعه حاضر با روش‌های تشخیصی قابل اطمینان، بیماران مبتلا به توبرکلوزیس ریوی از نظر کلونیزاسیون قارچی و IgG اختصاصی سرمی بر علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند تا یکی از مهم‌ترین عوامل خطر در ابتلا به بیماری ناشی از آسپرژیلوس در این دسته از بیماران مورد کنکاش بیش‌تر قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

بیماران

درطول یکسال (اسفند ۱۳۹۱ الی اسفند ۱۳۹۲) تمامی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان مسیح دانشوری تهران که سابقه یک سال یا بیشتر از توبرکلوز را داشتند، وارد مطالعه شدند. بیماران رضایت نامه شخصی که به تایید کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی مازندران رسیده بود را برای شرکت در این مطالعه را پر کردند.

پرسشنامه‌ای تاریخچه‌ای تنفسی همه بیماران تکمیل شد.

تشخیص آزمایشگاهی

خلط و نمونه خون تمامی بیماران جمع‌آوری شد. هر نمونه خلط را در حجم مساوی با پانکراتین ۰/۰۵ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دور rpm۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد و رسوب ۳۰ ثانیه به صورت دورانی حرکت داده شد. رسوب به دست آمده به دو نمونه تقسیم شد؛ یکی برای کشت از نظر قارچ و دیگری برای آزمایش مستقیم با KOH ۲۰ درصد مورد استفاده قرار گرفت. کشت قارچ در محیط سابورو دکستروز اگار حاوی کلرامفنیکل (۰/۵ mg در یک لیتر) (SC) و در دمای ^0C تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت یک هفته انجام گردید. گونه‌های آسپرژیلوس به وسیله ساب کالچر در محیط چاپکس آگار و با کلید ارائه شده به وسیله Raper و Fennell تشخیص داده شدند(۲۴). تشخیص مخمرها به وسیله ساب کالچر روی محیط‌های کروم آگار و کورن میل آگار همراه با توآین ۸۰ و هم‌چنین تست جرم تیوب انجام شد. مشخصه‌های کلینیکی ورادیوگرافی در تمامی بیماران توبرکلوزیس بررسی شد.

اندازه گیری IgG بر علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس در سرم

همه بیماران از نظر آنتی بادی IgG بر علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس، با استفاده از کیت الایزا طراحی شده به وسیله شرکت GENESIS (Genesis Diagnostics Ltd, Cambridgeshire, UK) مورد بررسی قرار گرفتند. به طور خلاصه آزمایش به صورت زیر انجام شد:

نمونه سرم بیماران به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده رقیق گردید. سپس به ترتیب صد میکرولیتر از استاندارد و نمونه‌های رقیق شده به چاهک‌ها اضافه کرده و ۳۰ دقیقه در دمای اطاق اینکوبه شد. پس از آن محتویات چاهک‌ها خالی شده و با دستگاه اتوماتیک (SCO Diagnostics washer MPW1, Germany) شستشو داده شد. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر محلول کونژوگه اضافه شد ودر دمای اطاق به مدت ۳۰ دقیقه اینکوبه وسپس شستشو داده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول TMB بلافاصله به چاهک‌ها اضافه و ۱۰ دقیقه در دمای اطاق اینکوبه شد. واکنش با اضافه شدن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده متوقف گردید و جذب نوری نمونه‌ها و استانداردها در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (BIO-RAD, Model 680, Japan) خوانده شد. نتایج بر اساس دستورالعمل کیت سازنده به صورت واحد در میلی لیتر با واحد U/l گزارش شده که IgG بیش‌تر از ۱۲واحد در میلی لیتر بالاتر از رنج نرمال و مثبت در نظر گرفته شد.

تحلیل آماری

تحلیل اماری توسط برنامه SPSS18 انجام شد ومقدار p کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای مقایسه بین پارامترهای مختلف در بیماران برای متغیرهای کمی از روش Unpaired student s T-test استفاده شد.

یافته‌ها

از ۱۲۴ بیمار مبتلا به توبرکلوز ۶۶ نفر(۵۳/۲درصد) مرد زن بودند. محدوده سنی بیماران ۱۰ تا ۹۱ سال بود. اغلب بیماران در محدوده سنی۲۱ تا ۳۰ سال بودند. رایج‌ترین علامت بالینی در بیماران سرفه (۹۵/۱درصد)، ضعف (۷۵/۵ درصد) و تب (۶۲/۹ درصد) بود. در بین ۱۲۴ بیمار توبرکلوزیس ۴۰/۳ درصد از بیماری‌های پیش‌زمینه مربوط به دیابت، هپاتیت، پیوند و گرفتگی رگ کرونر بود. سابقه ایتلای بیماران به توبرکلوزیس ۱ تا ۷ سال بود.

یافته‌های رادیو گرافی قفسه سینه در ۵۴ بیمار غیر طبیعی بود. جدول شماره ۱ یافته‌های رادیوگرافی را در بیماران توبرکلوزیس نشان می‌دهد. از این بیماران ۴۸ نفر (۸۸/۹ درصد) دارای حفره به جامانده از بیماری

توبرکلوزیس بودند؛ که ۳۱نفر درلوب راست، ۱۰ نفر در لوب چپ و ۷ نفر در هر دو لوب حفره داشتند.

آزمایش مستقیم روی نمونه‌های خلط، هایف با دیواره عرضی در ۱۰ بیمار را نشان داد. نمونه خلط ۱۶ بیمار از نظر گونه‌های آسپرژیلوس در محیط کشت مثبت شد. در بین ایزوله‌های آسپرژیلوس از ۱۰ بیمار (۶۲/۵ درصد) آسپرژیلوس فومیگاتوس جدا گردید. جدول شماره ۱ جزئیات بیش‌تری از رادیوگرافی، یافته‌های قارچ‌شناسی و سرولوژی بیماران با توبرکلوزیس را نشان می‌دهد. ۵۵ بیمار (۴۴/۳درصد) از نظر IgG برعلیه آسپرژیلوس فومیگاتوس مثبت بودند. از این بیماران توده، حفره و هموپتزی به ترتیب در ۳ نفر (۵/۴ درصد)، ۳۳ نفر (۶۰ درصد) و ۱۱ نفر (۲۰ درصد) وجود داشت. رابطه معنی‌داری بین کشت مثبت، آزمایش مستقیم و IgG سرم وجود داشت ($p<0/05$). از ۱۲۴ بیمار با سابقه توبرکلوزیس، ۳ بیمار با معیارهای آسپرژیلوما شناسایی شدند.

جدول شماره ۱: میزان فراوانی بیماران مورد مطالعه از نظر یافته های رادیوگرافی، قارچ شناسی و سرولوژیکی

یافته های رادیوگرافی		
الف – حفره در ریه		
لوب راست	۳۱(۶۴/۵)	
لوب چپ	۱۰ (۲۰/۸)	
هر دولوب	۷ (۱۴/۷)	
ب – حضور توده	۶ (۴/۸)	
تست میکروبیولوژی(خلط بیماران)		
الف– ازمایش مستقیم:		
هایف	۷ (۲۸)	
مخمر	۱۵(۶۰)	
هایف ومخمر	۳(۱۲)	
ب– کشت:		
آسپرژیلوس SPP. آیا گونه های آپرژیلوس تشخیص داده شده است؟		۴(۱۳)
آسپرژیلوس فومیگاتوس	۱۰ (۳۲/۲)	
کاندیدا SPP.	۱۰ (۳۲/۲)	
کاندیدا آلبیکنس	۵ (۱۶/۱)	
آسپرژیلوس SPP + کاندیدا SPP	۲ (۶/۴)	
تست های سرولوژی(کیت الایزا)		
تیتر IgG		
> ۱۲ U/ml- مثبت	۵۵ (۴۴/۳)	
۸-۱۲U/ml – مشکوک	۹(۷/۳)	
<۸ U/ml- منفی	۶۰ (۴۸/۴)	

بحث

در مطالعه حاضر از ۱۲۴ بیمار مبتلا به توبرکلوزیس ۲۵ درصد از نظر عوامل قارچی در کشت مثبت بودند. کاندیدا و آسپرژیلوس شایع‌ترین قارچ‌های به دست آمده در نمونه‌های تنفسی (خلط) جمع‌آوری شده بودند. گونه‌های کاندیدا و آسپرژیلوس به ترتیب از ۵۱/۸ درصد و ۵۱/۶ درصد بیمارانی که از نظر رشد عوامل قارچی مثبت بودند، جدا گردید. در مطالعه ما به ترتیب آسپرژیلوس فومیگاتوس وگونه های غیر آلبیکنس شایع‌ترین گونه‌های جدا شده از خلط بیماران بودند. در مطالعه ایی در اصفهان که روی نمونه‌های برونکو آلوئولار لاواژ به دست آمده از بیماران مبتلا به توبرکولوز انجام شد ۲۲درصد نمونه‌ها از نظر قارچ در کشت مثبت بودند. در این مطالعه نیز آسپرژیلوس و کاندیدا شایع‌ترین قارچ‌های جدا شده بوده و کاندیدا آلبیکانس و آسپرژیلوس فومیگاتوس به عنوان گونه‌های شایع گزارش شدند(۲۳). در مطالعه Biswas (۲۵) و همکاران که روی کلونیزاسیون قارچی در بیماران تنفسی مزمن از جمله توبرکلوزیس با استفاده از نمونه‌های برونکو آلوئولار لاواژ انجام شد از ۴۶/۷ درصد از نمونه‌ها، خلط کاندیدا آلبیکنس جدا گردید. Sivasankari و همکاران(۲۶) از ۳۲/۵ درصد از نمونه‌های خلط بیماران توبرکلوزیس عوامل قارچی جدا کردند. در بین ۲۶ نمونه فقط از ۱۰ نمونه (۳۰/۷ درصد) آسپرژیلوس فومیگاتوس جدا شد. در مطالعه Sivasankari (۲۶)، آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس نیجر شایع‌ترین گونه‌های جدا شده بودند. لازم به ذکر است که در مطالعه اشاره شده از روش ملوکولی برای تشخیص گونه‌ها استفاده شده است. یافته‌های مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Kurhade (۲۷) و Shahid (۲۸) که آسپرژیلوس فومیگاتوس را گونه شایع در عفونت‌های مزمن تنفسی مزمن مانند توبرکلوزیس گزارش کردند؛ همسو بود. تفاوت در نتایج به دست آمده در مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از استفاده از نمونه‌های متفاوت و احتمالا روش‌های

مورد بررسی نمونه‌ها در هرکدام از مطالعات باشد. این موضوع بیانگر تاثیر اختلافات جغرافیایی در شیوع گونه‌های مختلف در بیماران است. مطالعات مختلف هم‌چنین نشان داده است که گونه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس می‌توانند در مجاری تنفسی افراد با بیماری‌های زمینه‌ای مانند توبرکلوزیس کلونیزه شوند(۲۸-۲۳،۲۶). نتایج این مطالعات نشان داده است که این وضعیت (بیماری زمینه‌ای توبرکلوزیس) می‌تواند به عنوان یکی از عوامل خطر عفونت عفونت های قارچی تنفسی لحاظ شود(۲۹-۲۳،۲۶).

در مطالعه حاضر ۴۴/۳ درصد از بیمارن از نظر IgG اختصاصی بر علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس مثبت بودند. در مطالعه Kurhade و همکاران(۲۷)، ۲۲/۸ درصد از بیماران واکنش مثبت با آنتی‌ژن آسپرژیلوس فومیگاتوس را به وسیله تست دبل دیفیوژن نشان دادند. در مطالعه Shahid و همکاران(۲۸) نیز ۲۵ درصد از افراد مورد مطالعه آنتی‌بادی بر علیه آسپرژیلوس را در تست الیزا نشان دادند. در مطالعه ما و دو مطالعه نام برده روشن شد که میزان بروز موارد مثبت سرولوژی در بیماران ما بیشتر می‌باشد. علت این امر ممکن است استفاده از روش‌های مختلف برای ردیابی IgG بر علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس و هم‌چنین بیماری زمینه‌ای بیماران مورد مطالعه باشد. در مطالعه حاضر از کیت الایزای استاندارد استفاده گردید؛ در حالی‌که در دو مطالعه دیگر از یک روش تهیه شده در آزمایشگاه خود محققین برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی برعلیه اسپرژیلوس فومیگاتوس استفاده گردید. در تنها مطالعه انجام شده قبلی در ایران در این زمینه که با استفاده از روش هماگلوتیناسیون غیر مستقیم آنتی بادی برعلیه آسپرژیلوس فومیگاتوس اندازه‌گیری شد، ۵۰ درصد بیماران مبتلا به سل ریوی مثبت ارزیابی شدند(۳۰). از سوی دیگر ما فقط بیماران توبرکلوزیس را مورد مطالعه قرار دادیم اما در سه مطالعه دیگر بیمارانی با پیش‌زمینه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین کشت مثبت، آزمایش میکروسکوپی مستقیم و IgG سرمی را نشان داده است. نتایج مشابهتوسط Shahid (۲۸) و Kurhade (۲۷) نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد روش الایزا برای تعیین میزان IgG علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس در مواردی که کشت نمونه‌ها منفی می‌باشد، مفید است. در مطالعه حاضر ۱۲/۹ درصد از بیماران دارای کشت مثبت نسبت آسپرژیلوس فومیگاتوس بودند در حالیکه ۴۴/۳درصد از بیماران ، IgG بر علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس را نشان دادند. چندین مطالعه حساسیت ۹۰ درصدی برای تست‌های سرولوژی (حضور IgG اختصاصی بر علیه آسپرژیلوس فومیگاتوس) در تشخیص آسپرژیلوزیس تنفسی را نشان دادند(۳۲،۳۱). هم‌چنان که Denning و همکاران(۳۳) پیشنهاد می‌کنند که علاوه بر وجود حفره‌های تنفسی در X-Ray از قفسه سینه حتی در حضور توپ قارچی، هایف و توده در حفره‌های تنفسی همراه با یک کشت مثبت (با آزمایش مستقیم مثبت)؛ حضور آنتی‌بادی IgG بر علیه آسپرژیلوس برای تشخیص قطعی آسپرژیلوما ضروری می‌باشد. براساس نتایج مطالعه حاضر ۳ بیمار (۲/۴ درصد) با توجه به معیارهای ذکر شده از نظر آسپرژیلوما مثبت بودند. بیش‌تر اوقات تشخیص اسپرژیلوما به دلیل همپوشانی ویژگی‌های رادیولوژی وکلینیکی با توبرکلوزیس مشکل می‌باشد. از این رو تست‌های میکروبیولوژیکی و سرولوژیکی برای تشخیص نهایی آسپرژیلوما الزامی است.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که آسپرژیلوما از انواع بیماری‌های تنفسی نادر ناشی ازآسپرژیلوس می‌باشد که معمولا در بیماران با ایمنی سالم با پیش زمینه ناراحتی ریه نظیر توبرکلوزیس ایجاد می‌شود. کلونیزه شدن توسط آسپرژیلوس در حفره‌های ریوی ایجاد شده به وسیله توبرکلوزیس از فاکتورهای خطر برای آسپرژیلوما می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تست‌های میکروبیولوژیکی وسرولوژیکی برای تشخیص آسپرژیلوما مهم می‌باشند.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران (طرح مصوب شماره ۲۰۸-۹۱) استفاده نموده است که بدینوسیله مراتب قدردانی خود را از این موضوع اعلام می‌داریم.

همچنین از کلیه بیمارانی که با صبوری اجازه دادند تا این تحقیق انجام شود نهایت قدرشناسی و سپاس را داریم. مطالعه حاضر در قالب پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی آقای یوسف عظیمی به انجام رسیده است.

References

1. 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 2010; 168(1-4): 481-487.
2. Hedayati MT, Mayahi S, Aghili R, Goharimoghadam K. Airborne fungi in indoor and outdoor of asthmatic patients' home, living in the city of sari. Iran J Allergy Asthma Immunol 2005; 4(4): 189-191.
3. Sakarya M, Özbay B, Yalcinkaya İ, Arslan H, Uzun K, Poyraz N. Aspergillomas in the lung cavities. Eastern Journal of Medicine 1998; 3(1): 7-9.
4. Kumar AA, Shantha GP, Jeyachandran V, Rajkumar K, Natesan S, Srinivasan D, et al. Multidrug resistant tuberculosis co-existing with aspergilloma and invasive aspergillosis in a 50 year old diabetic woman: a case report. Cases J 2008; 1(1): 303.
5. Sheikh S, Fatimi SH. Aspergilloma in a patient with no previous history of chronic lung disease. J Ayub Med Coll Abbottabad 2006; 18(1): 62-63.
6. Ruiz Júnior RL, de Oliveira FH, Piotto BL, Muniz FA, Cataneo AJ, Cataneo DC. Surgical treatment of pulmonary aspergilloma. J Bras Pneumol 2010; 36(6): 779-783.
7. Agarwal R, Chakrabarti A, Shah A, Gupta D, Meis JF, Guleria R, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. Clin Exp Allergy 2013; 43(8): 850-873.
8. Koulenti D, Garnacho-Montero J, Blot S. Approach to invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients. Curr Opin Infect Dis 2014; 27(2): 174-183.
9. Yahyaoui G, Tlamçani I, Benjelloun S, Atwani M, Errami M. Chronic necrotizing pulmonary Aspergillus niger aspergillosis in a smoker and former TB patient. Pan Afr Med J 2014; 17: 93.
10. Godet C, Philippe B, Laurent F, Cadranel J. Chronic pulmonary aspergillosis: an update on diagnosis and treatment. Respiration 2014; 88(2): 162-174.
11. Moodley L, Pillay J, Dheda K. Aspergilloma and the surgeon. J Thorac Dis 2014; 6(3): 202-209.
12. Chen JC, Chang YL, Luh SP, Lee JM, Lee YC, et al. Surgical treatment for pulmonary aspergilloma: a 28 year experience. Thorax 1997; 52: 810-813.
13. He HY, Chang S, Ding L, Sun B, Li F, Zhan QY. Significance of Aspergillus spp. isolation from lower respiratory tract samples for the diagnosis and prognosis of invasive pulmonary aspergillosis in chronic obstructive pulmonary disease. Chin Med J (Engl) 2012; 125(17): 2973-2978.

14. Speirs JJ, van der Ent CK, Beekman JM. Effects of Aspergillus fumigatus colonization on lung function in cystic fibrosis. Curr Opin Pulm Med 2012; 18(6): 632-638.
15. Ferrer M, Ioanas M, Arancibia F, Marco MA, de la Bellacasa JP, Torres A. Microbial airway colonization is associated with noninvasive ventilation failure in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. Crit Care Med 2005; 33(9): 2003-2009.
16. Khasawneh F, Mohamad T, Moughrabieh MK, Lai Z, Ager J, Soubani AO. Isolation of Aspergillus in critically ill patients: a potential marker of poor outcome. J Crit Care 2006; 21(4): 322-327.
17. Shirai M, Hayakawa H, Uchiyama H, Chida K, Nakamura H. Clinical significance of potential pathogenic microorganisms of sputum in patients with pulmonary tuberculosis. Respirology 2001; 6(4): 311-315.
18. Pendleton M, Denning DW. Multifocal pulmonary aspergillomas: case series and review. Ann N Y Acad Sci 2012; 1272: 58-67.
19. Baxter CG, Denning DW, Jones AM, Todd A, Moore CB, Richardson MD. Performance of two Aspergillus IgG EIA assays compared with the precipitin test in chronic and allergic aspergillosis. Clin Microbiol Infect 2013; 19(4): E197-204.
20. Zahradnik E, Kespohl S, Sander I, Schies U, Khosravie-Hohn J, Lorenz W, et al. A new immunoassay to quantify fungal antigens from the indoor mould Aspergillus versicolor. Environ Sci Process Impacts 2013; 15(6): 1162-1171.
21. Ma JE, Yun EY, Kim YE, Lee GD, Cho YJ, Jeong YY, et al. Endobronchial aspergilloma: report of 10 cases and literature review. Yonsei Med J 2011; 52(5): 787-792.
22. Aghajanzadeh M, Safarpoor F, Amani H, Alavy A, Sarshad A. Fungus ball: Clinical presentation, diagnosis and treatment in 31 cases. Iran Red Creacent Med J 2008; 10(3): 233-237.
23. Chadeganipour M, Shadzi S, Dehghan P, Bijary J. The incidence of opportunistic fungi in patients suspected of tuberculosis. Mycoses 2000; 43(7-8): 269-272.
24. Raper KB, Fennel DI. The Genus Aspergillus. Huntington New York: Robert E Krieger Publishing Company. 1973.
25. Biswas D, Agarwal S, Sindhwani G, Rawat J. Fungal colonization in patients with chronic respiratory diseases from Himalayan region of India. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2010; 9: 28.
26. Sivasankari S, Senthamarai S, Anitha C, Sastry AS, Kumudhavathi M, Bhatt S, et al. Prevalence of Invasive Aspergillosis Among (PTB) Patients in Kanchipuram, India. J Clin Diagn Res 2014; 8(3): 22-23.
27. Kurhade AM, Deshmukh JM, Fule RP, Chande C, Akulwar S. Mycological and serological study of pulmonary aspergillosis in Central India. Indian J Med Microbiol 2002; 20(3): 141-144.
28. Shahid M, Malik A, Bhargava R. Prevalence of aspergillosis in chronic lung diseases. Indian J Med Microbiol 2001; 19(4): 201-205.
29. Bansod S, Rai M. Emerging of mycotic infection in patients infected with Mycobacterium tuberculosis. World Journal of Medical Sciences (WJMS) 2008; 3(2): 74-80.
30. Salek Moghaddam AR, Soltani Arabshahi S, Yasami A, Tabatabaie S. Survey of humoral immunity against Aspergilus fumigatus in patients with TB and COPD referred to Iran

university hospitals. Journal of Research in Medical Sciences 2001; 25(3): 143-147.

31. Kappe R, Schulze-Berge A, Sonntag HG. Evaluation of eight antibody tests and one antigen test for the diagnosis of invasive aspergillosis. Mycoses 1996; 39(1-2): 13-23.
32. Coleman RM, Kaufman L. Use of the immunodiffusion test in the serodiagnosis of aspergillosis. Appl Microbiol 1972; 23(2): 301-308.
33. Denning DW, Pleuvry A, Cole DC. Global burden of chronic pulmonary aspergillosis as a sequel to pulmonary tuberculosis. Bull World Health Organ 2011; 89: 864-872.