

## تکنیک های تشخیصی آسپرژیلوزیس تهاجمی

محمد تقی هدایتی / هیئت علمی، گروه قارچ شناسی و انگل شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران  
صادق خداویسی / هیئت علمی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان.  
سیده سمیرا موسوی / علوم آزمایشگاهی، آزمایشگاه اندیشه، ساری

### Abstract

Invasive aspergillosis (IA) is a serious and fatal mycotic infection in patients who are neutropenic, hematologic malignancies, solid organ or stem cell transplantation and chronic granulomatosis. IA a wide range of clinical scenarios, is protean in its manifestations, and is still associated with an unacceptably high mortality rate. This review considers the application, utility, and limitations of the currently available and investigational diagnostic modalities for IA. In spite of advances in diagnosis and treatment of IA, the disease remains a fatal outcome. Early diagnosis is critical to a favorable outcome, but is difficult to achieve with current methods. Over the last decade, using of the specialized methods such as PCR, evaluation of serological markers including Galactomannan and  $\beta$ -D Glucan in different kinds of specimens (especially BAL) is necessary for proper diagnosis to show the rate of IA risk patients. Delayed diagnosis and therapy may lead to poor outcomes. It is expressed that delay in proper diagnosis, not timely treatment and lowered host resistance due to underlying diseases are the important reasons of high mortality in these patients, requisiteness for the specialist management strategies of disease need to a rapid and not invasive methods diagnosis for selection of the therapeutic protocol.

**Keywords:** Invasive aspergillosis, Galactomannan, PCR

### چکیده

آسپرژیلوزیس تهاجمی (IA)، بیماری شدید و کشته کننده قارچی ناشی از گونه های مختلف قارچ آسپرژیلوس در بیماران دچار نوتروپنی، اختلالات خون، دریافت کتتدگان پیوند و گرانولوماتوز مزمن می باشد. این بیماری دارای نشانه های بالینی و تظاهرات کلینیکی مختلفی بوده، و با میزان مرگ و میر بالایی در ارتباط است. در این مقاله سعی شده است تا سودمندی و محدودیت های روش های رایج و در دسترس، برای تشخیص بیماری IA مورد بررسی قرار گیرد. یافته ها در پژوهش های گوناگون نشان می دهد که با وجود پیشرفت های حاصل شده در روش های تشخیصی، هنوز بیماری خوب تشخیص داده نمی شود و تشخیص قطعی آن قبل از تکثیر فراوان عامل قارچی و مرگ بیمار دشوار می باشد. و این در حالی است که برای درمان مناسب، تشخیص بیماری در مراحل اولیه بسیار ضروری می باشد ولی دست یابی به این نتایج به وسیله روش های کشتی رایج و زمان بر تشخیصی مشکل می باشد. در طول دهه گذشته، تکنیک های تخصصی سریع و غیر کشتی مثل PCR و تعیین آنتی ژن های گالاکتومانان و  $\beta$ -D-glucan به وسیله روش های سرولوژیکی در نمونه های مختلف بیماران (خصوصاً نمونه های تنفسی مثل BAL) علاوه بر روشهای سنتی تشخیصی به کار گرفته می شوند. از آنجا که به تأخیر افتادن تشخیص قطعی، عدم درمان مناسب و به موقع و وجود بیماری های مختلف زمینه ای از دلایل بالا بودن مرگ و میر این بیماری می باشند، استفاده از این روش های غیر تهاجمی سریع و اختصاصی برای شروع هرچه سریعتر درمان های مؤثر و مدیریت بیماری بسیار ضروری می باشد.

کلمات کلیدی: آسپرژیلوزیس تهاجمی، آنتی ژن گالاکتومانان، PCR

## پیش گفتار :

آسپرژیلوزیس تهاجمی

(Invasive Aspergillosis-IA) یک

عفونت شدید و کشنده قارچی با مرگ و میر بسیار بالا در بیماران یا ضعف در سیستم ایمنی و دچار وضعیت‌های وخیم می‌باشد (۱،۲).

این بیماری بیشتر در بیماران زیر دیده می‌شود:

بیماران دچار نقص سیستم ایمنی، نوتروپنی شدید، گرانولوماتوز مزمن، بدخیمی های خونی، دریافت کنندگان پیوند مغز استخوان، سلول های بنیادی و سایر یافت ها، دریافت کنندگان داروهای استروئیدی، آنتی بیوتیک های یا طیف وسیع به مدت طولانی. همچنین در بیماران دچار وضعیت وخیم که فاقد هر گونه ریسک فاکتور مشخص که به مدت طولانی در ICU بستری می‌باشند دیده می‌شود (۳،۴).

در این بیماران، اختلالات ایجاد شده در وظایف فاگوسیتوزها همراه با بیماری های شدید زمینه ای منجر به پیشرفت آلودگی IA می‌باشند. در سیستم دفاعی میزبان، شرایط مناسب برای توسعه عفونت اسپوره‌های آسپرژیلوس ایجاد می‌شود (۵).

تشخیص سریع و مناسب بیماری های تهاجمی قارچی برای پیش گیری از مرگ و میر بسیار توسط این عوامل سرکش ، در راستای مدیریت و کنترل بیماری بسیار ضروری است. ولی متأسفانه امروزه با وجود پیشرفت های حاصله در روش های تشخیصی و درمانی آن، دارای پیش آگهی ضعیفی است.

در بیشتر موارد این بیماری ، بیماران در معرض آلودگی مورد شک قرار نگرفته و پیگیری نمی‌شود. تشخیص این بیماری ها ی فرصت طلب بخصوص در بیماران با وضعیت های وخیم بستری در بخش ICU به درستی انجام نمی‌گیرد و همچنان کمتر مورد توجه پزشکان معالج قرار می‌گیرد (۶،۷).

این در حالی است که این بیماری در صورت ابتلای بیماران ( به ویژه افرادی با وضعیت های بحرانی و فاکتورهای خطر ابتلا) بسیار کشنده می‌باشد.

بدین روی در این مقاله سعی شده است تا سودمندی و محدودیت های روش های رایج و در دسترس برای تشخیص بیماری IA مورد بررسی قرار گیرد.

## روش های تشخیصی:

می‌توان با توجه به نشانه های بالینی، فاکتور های خطر و روش های تشخیصی به تشخیص به هنگام IA در بیماران مبتلا، دست یافت. چون نشانه های بالینی مرتبط با IA اختصاصی نیست ، پزشکان به تکنیک های تشخیصی معتبر و با ارزش برای مراقبت صحیح و درمان بیماران آلوده نیازمند هستند. روش های مختلف کشت و راه های سریع غیر کشت برای تشخیص بیماری IA به کار برده می‌شوند

**درپروتونگاری از قفسه سینه :** نشانه های وجود اینفیلتراسیون پلورال، توده‌های متراکم و کلویتاسیون نشانه عفونت ریوی می‌باشند.

ولی این روش در موارد زیر دارای محدودیت است:

در بیماران بستری در ICU که دارای نوتروپنی همراه با ضعف شدید سیستم ایمنی ، در مراحل اولیه بیماری به دلیل غیراختصاصی و نامشخص بودن نشانه ها ، تظاهرات غیر طبیعی مانند آتلاکتازی، تنفس مصنوعی و در بسیاری از مواقع در اقیوژن های پلورال یا نیود نشانه های واضح رادیولوژیکی و همچنین در اختلالات ایمنولوژی که کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد.

سی تی اسکن (CT) به‌خصوص با تصاویر با کیفیت بالا (HRET) در تشخیص IA می‌تواند در بیماران دارای نوتروپنی، سستی زیاد سیستم ایمنی و لو بدون نشانه های بالینی در پرتونگاری بسیار کمک کننده می‌باشد (۸).

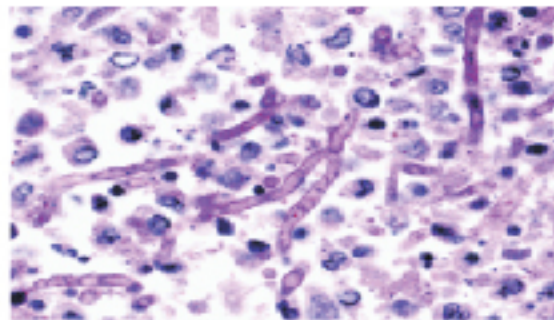
استفاده روزمره از آن در مراحل ابتدایی IA ، برای تشخیص اولیه و همچنین نشان دادن فرآیند بهبودی در بیماران لازم است.

برای تعیین محل عارضه برای انجام بیرونکوسکوپی و بیوپسی از ریه مفید می‌باشد (۹، ۱۰). مهم ترین نشانه هایی که در CT مشاهده می‌شود: ندول های متعدد یا رشد سریع و یا کاویتاسیون، air-crescent sign و halo sign است. ضایعات کوچک پلوری یا کرانه ی مشخص و به صورت هاله ای اطراف یک گره یا اینفیلتراسیون ناشی از تهاجم ارگانسیم به رگ دیده می‌شود. این پدیده بیشتر در بیماران نوتروپنیک در مراحل اولیه عفونت (به ویژه در هفته اول) مشاهده می‌شود.

باید توجه شود که اولاً این نشانه های فقط مخصوص IA نبوده و در بیمارهای دیگر ریوی نیز به‌وجود می‌آیند.

ابزار تشخیص	یافته های تشخیصی	تفسیر	قابلیت اجرا در ICU
CT اسکن	Halo sign Air crescent sign	خیر، علامت خیلی زود آشکار می شود (۵ روز قبل از حمله بیماری) و توسط آتلاکتازی، ARDS و یا افیوژن پلورال مبهم می باشد	برای گونه های آسپرژیلوس اختصاصی نمی باشد و CT در بیشتر بیماران که مشکل تنفس اکسیژن دارند عملی نمی باشد.
هیستوپاتولوژی	مشاهده هایف با زاویه حاده (۴۵ درجه) دارای دیواره عرضی	بله (استاندارد طلایی)	در بیماران ترومبوسیتونی یا افرادی که برای تنفس اکسیژن مشکل دارند بیوفسی بیشتر امکان پذیر نیست.
کشت	رشد در محیط های اختصاصی قارچ شناسی مثل محیط سابورو دکستروز آگار	نسبتاً قابلیت اجرا دارد ولی ویژگی و حساسیت پایینی دارد	جدا سازی گونه ها چند روز طول می کشد . ۵۰٪ موارد بر اساس کشت و یافته های میکروسکوپی تشخیص داده نمی شود. افتراق کلونیزاسیون از بیماری تهاجمی دشوار می باشد. ارزش گزارشی مثبت با افزایش ایمونوساپرشن افزایش می یابد.
روش مستقیم میکروسکوپی	روش سریع، آشکار سازی هایف قارچی (از جمله آسپرژیلوس) با رنگ آمیزی PAS، GMS و کالکوفلوروایت	نظیر کشت	نظیر روش کشت
آنتی ژن Galactomanan	پلی ساکارییدی که توسط قارچ آزاد میشود. حد آستانه: ۱/۵-۰/۵ ng/ml	بله	در بیماران غیر نوتروپنی بخصوص بیماران با وضعیت وخیم، مایع BAL از نمونه سرم بهتری باشد.
آنتی ژن Glucan- D (۳و۱)β	اجزاء دیواره سلولی قارچ	فقط چند مطالعه	برای گونه های آسپرژیلوس اختصاصی نبوده همچنین در مخمر و باکتری ها نیز وجود دارد.
PCR	تشخیص DNA آسپرژیلوس فومیگاتوس	بله	در بیماران غیر نوتروپنی، بخصوص بیماران با وضعیت وخیم، مایع BAL از نمونه خون بهتری باشد.

بدخیمی‌ها و عفونت‌های ناشی از عوامل غیر قارچی بسیار کمک‌کننده می‌باشد. به هر روی چون بیشتر بیماران مبتلا دارای وضعیت‌های وخیمی می‌باشند و بیشتر آنان دچار اختلالات انعقادی و ترومبوسیتوتی هستند و از دستگاه تنفس مصنوعی استفاده می‌کنند، انجام بیوپسی و به کارگیری این روش در این بیماران خطرناک و محدود می‌باشد.



شکل شماره ۲- هایف رنگ آمیزی شده قارچ اسپریلوس در بافت

کشت مثبت در تشخیص IA بسیار کمک کننده بوده و بیشتر نخستین کلید تشخیصی در بیماران یا وضعیت وخیم می‌باشد (۱۴).

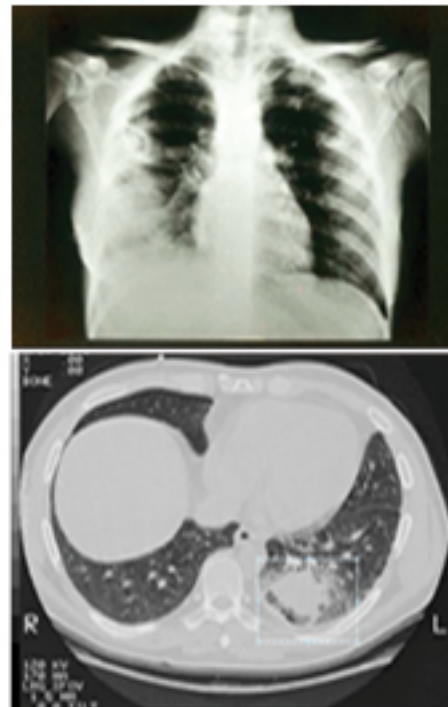
جدا کردن گونه‌های اسپریلوس از نمونه‌های به دست آمده از سیستم تنفسی بیماران (به جز آلودگی‌های احتمالی در حین نمونه‌گیری) را می‌توان به سه صورت: نشان دهنده بیماری واقعی، وجود یک کلونیزاسیون و یا اینکه نشانه‌ای از وجود یک بیماری تهاجمی در نظر گرفت (۱۵).

این روش قادر به تفریق بین فرم‌های تهاجمی و کلونیزاسیون از هم نبوده و ارزش گزارش مثبت آن نیز متفاوت است و بیشتر بستگی به وضعیت سیستم ایمنی بیمار دارد. برای نمونه در بیماران فاقد نوتروپنی از ۲۰٪ تا ۶۰٪ می‌باشد (۱۶).

از طرفی هم زمان مورد نیاز برای بررسی اکثر کشت‌ها حداقل ۴۸ ساعت می‌باشد که برای تشخیص بیماری به صورت سریع و در مراحل اولیه بیماری مناسب نیست. در یک پژوهش یا بازنگری نمونه‌های کشت مثبت، نتایج بررسی‌های هستیوپاتولوژی منفی بوده است. این خود نشان می‌دهد که این روش حساسیت لازم را برای تعیین آلودگی بویژه در مراحل نخست عفونت را ندارد.

به عنوان نمونه Halo sign ممکن است ناشی از یک متاستاز، کارسینومای برونکوالونولار، اتوزینوفیلیک پنومونی و یا سایر عفونت‌های قارچی باشد. دیگر اینکه نمود آنها در بیماران بستری در بخش ICU کم و حدود ۵-۲۴٪ می‌باشد (۱۱،۱۲).

به دلیل تمایل تهاجم اسپریلوس به رگ‌های خونی و انتشار بیماری و درگیری احتمالی سیستم اعصاب مرکزی، تکنیک‌های CT و MRI برای بررسی انتشار بیماری به مغز قابل استفاده است.



شکل شماره ۱- Halo sign (پایین) و air-crescent sign (بالا) در تصویر رادیولوژی

بررسی هستیوپاتولوژی نمونه‌های بیوپسی از ناحیه مشکوک به آلودگی، یک روش استاندارد طلایی در تشخیص IA می‌باشد (۱۳).

دیدن هایف‌های با اشعاعات دارای زاویه حاد و دارای دیواره عرضی، بدون پیگمان و با قطر تقریبی ۳ میلی‌متر در نمونه‌های بافتی، همراه با نتایج مثبت کشت از لحاظ گونه‌های اسپریلوس تأییدکننده IA می‌باشد. بررسی‌های هستیوپاتولوژی در تشخیص افتراقی IA از