فصل اول

بخش اول : کلیات قارچ شناسی پزشکی

-مقدمه:تهاجم قارچ به بافتهای بدن انسان تقریبا از اوایل سال ۱۸۰۰میلادی شناخته شده است و از سال ۱۹۰۰به بعد گزارشات فراوان از بیماریهای قارچی و عوامل بیماریزای مربوطه و انتشار جغرافیایی و شیوع بیماری وجود دارد.بیماریهای قارچی در اثر دسته مهمی از قارچهای کپکی و مخمری در خاک ایجاد می شود . برخی از قارچها ساکن طبیعی بدن انسان می باشند(مثال:کاندیدا البیکنس)و پاره ای دیگر نیز در بافتهای بدن سعی در کسب یک حالت همزیستی مسالمت امیز دارند و احتمالا در برابر قارچها هیچگونه عکس العمل در میزبان بوجود نمی اید.

اساس بیماریزایی قارچ با شرایط محیطی و مقاومت در برابر دفاع سلولی میزبان است .تعداد محدود قارچهای دو شکلی یا عوامل عفونتهای عمیق بهترین مثال جهت حمله به بافت زنده هستند که در طبیعت به شکل قارچ ساپروب یا کپکی رشد می نمایند و تحت این شرایط و حرارت ۲۵درجه سانتیگراد قادر به ایجاد میسلیوم و کونیدی می باشند لیکن با استنشاق کونیدی قارچ و یا ورود ان به هر طریق دیگر ارگانیسم خود را با بافت زنده

سازش داده و قادر است در چنین شرایطی و حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد به مرحله مورفولوژیک کاملا متفاوت تغییر شکل دهد که به نام مرحله پارازیتی است .در این مرحله تغییرات کلی در مورفولوژی ترکیبات دیواره سلولی /متابولیسم /سیستم انزیمی و روش تولید مثلی قارچ پدید می اید که با مرحله رشد قارچ در حرارت پایین تر اختلاف دارد.به این قارچها که در افراد سالم نیز به ایجاد بیماری می پردازند. قارچهای بیماریزای واقعی (True pathogenic fungi) گویند.

سایر عوامل عفونتهای قارچی عمیق جز قارچهای فرصت طلب هستند که برای ایجاد بیماری در میزبان نیاز به یک سیستم دفاعی این نارسادارند. ارگانیسمها در شرایطی که دفاع طبیعی بدن از بین برود و یا مختل شود قادر به ایجاد بیماری می باشند.مصرف انتی بیوتیکهاو استروئیدها وعوامل سیتوتوکسین وایمونوساپرسیو از جمله عواملی هستند که بدن میزبان را نسبت به ابتلا به اینگونه عفونتها مستعد می سازند.همچنین افراد مبتلا به لوسمی لنفوم افراد دیابتیک و غیره زمینه مساعدی از نظر ابتلا به این بیماریها دارند.برخی از عوامل بیماریهای قارچی زیر جلدی مثل عوامل کروموبلاستومیکوزیا مایستوما جهت سازش با شرایط بافتی به مدت زمان طولانی تری نیازمندند.این قارچها در بافت برای مقاومت و فرار از حمله سلولهای ماکروفاژ بدن اشکال مختلف بخود می گیرند چنانکه در کروموبلاستومیکوز در بافت الوده سلولهای اسکلروتیک منقسم ایجاد می

شود در مایستوما میکروکلنی قارچ حالت دانه(گرانول)بخود می گیرد و در کاندیدیاز سلولهای مخمری جهت فرار از حمله ماکروفاژها میسلیومهای کاذب تولید می نمایند.در عفونتهای کچلی (درماتوفیتوز)که جز معمولی ترین عفونتهای انسان به شمار می اید وضعیت کاملا متفاوت است .عوامل بیماریزا در این حالت به علت داشتن کراتینولیتیک در طبقه شاخی (بافت غیر زنده)رشد می کنند و واکنش میزبان نسبت به ارگانیسم در مقابل فراورده های متابولیک قارچ بوجود می اید .

به طور کلی قارچها واجد ساختمانهای پیچیده اند و بر خلاف باکتری ها مشخصات فیزیولوژیک وایمونولوژیک در قارچها (به استثنا معدودی از قارچها مخمری)حداقل اهمیت را در تشخیص دارد.بهترین راه تشخیص قارچها استفاده از مشخصات ساختمانی قارچ در لام مستقیم و کشت است.

قارچها از جنبه های بیوشیمیایی به طور فراوان مورد بررسی قرار گرفته اند.در تهیه انتی بیوتیک های مختلف (حتی انتی بیوتیکهای ضد قارچی)الکل /اسیدسیتریک وبسیاری از ویتامینها و انزیمها بکار می روند و در صنایع مختلف از انان بهره برداری می شود .برخی از عفونتهای قارچی مخصوص مناطق خاصی می باشند بعضی انتشاروسیع دارند و پاره ای دیگر فقط در گروههای مخصوصی در رابطه با سن و نژاد و شغل و یا شرایط فیزیکی خاص مشاهده می گردند.

طبقه بندی قارچ ها:

قارچها را سابقا جزء گیاهان پست ریسه دار قرار می دادند مدتی بعد انها را به عنوان پروتیست قلمداد نمودند. با مطالعه اجزاء ساختمانی سلولی به خصوص ساختار مولکولی RNA,DNA قارچها را نیز به عنوان یک سلسله مجزا از موجودات زنده محسوب داشتند.

ەسلسله موجودات زنده به شرح زیر می باشد:

1-Moneraباکتری ها /اکتینومتیست ها و سیانوباکتریها

2-Protoctita پروتوزوئرها/کپکهای لزج/جلبکها

3-Fungi قارچها

4-Plantae گیاهان

5-Animalia حیوانات

سلسله قارچها به دو شاخه دای کاریومایکوتا وزایگومایکوتا تقسیم می شود .دای مایکوتا واجد دو زیر شاخه با زیدیومایکوتا و اسکومیکوتینا می باشد.

مراحل تولید مثل جنسی شاخه دای کاریومایکوتا در شاخه مجزایی به نام دترو مایکوتا قرار می گیرند .به علاوه این شاخه واجد کلیه قارچهایی است که فاقد تولید مثل جنسی می باشند یا مرحله جنسی در انها نا شناخته مانده است .این شاخه خود به سه رده بلاستومایست /هایفومایست وسلومایست تقسیم می شود .

به قارچهای موجود در سه گروه اول که واجد تولید مثل جنسی و غیر جنسی می باشند قارچهای کامل (Perfect fungi) و به انواعی که فاقد تولید مثل جنسی باشند قارچهای ناقص (imperfect fungi)اتلاق می شود.

مشخصات قارچها:

قارچها ارگانیسمهای یوکاریوتیک هتروتروفیک هستند که برای تامین رشد به ترکیبات اماده شده به عنوان منبع کربن نیازمندند.هسته قارچها واجد چندین کروموزوم و یک هستک می باشند. دیواره سلولی قارچها حاوی پلی مرهای پلی ساکاریدی chitin, mannan, glucan, Chitosanوبندرت سلولز است.دیواره های سلولی باکتری ها مثل اکتینومیست های هوازی حاوی پپتیدوگلیکانها (peptidoglycans)می باشد که از پلی ساکارید (انواع دیگر بغیر از انچه که در قارچها وجود دارد)لیپید/اسید مورامیک و اسید امینو پمیلیک تشکیل شده است .سلول قارچها فاقد کلروفیل و دارای میتوکندری /رتیکلوم اندوپلاسمیک و 80Sribosomesاست .

DAPماده پیشگام در سنتز لیزین است و تنها در باکتری ها یافت می شود .

قارچها با وجودی کهPH خنثی را ترجیح می دهند معهذا تغییرات PH(۲-۱۰)را نیز تحمل می نمایند..ساده ترین قارچها انواع تک سلولی و جوانه دار می باشند .گاه نیز خود سلول توسعه می یابد و بدون اینکه تقسیم شود برشته هایی به نام هایف (Hyphae)تبدیل می گردد. از رشد هایفاها میسلیوم Myceliumایجاد می شود .

میسلیوم در واقع نوعی تال است لیکن میسلیوم به رشته ای اطلاق می شود که از اسپوریاکونیدی واحدی بوجود اید .

دو نوع واحد تولید مثلی در قارچها قابل تشخیص است :

۱-اسپور:جزئیست که در نتیجه تولید مثل جنسی یا غیر جنسی (درون اسپورانژ)حاصل می گردد.

۲-کونیدی:به واحد های غیر جنسی ازاد که اغلب نیز متحرک می باشند کونیدی گویند (مفردConidiumجمعConidia).در قارچهای رده زیگومیست واسکومیست علاوه بر اسپورهای جنسی و غیر جنسی کونیدی نیز دیده می شود.

ساختمان اندامهای رویشی:

گاهی اشکال ساختمانی خاصی به وسیله میسلیومهای رویشی ایجاد می شوند که خاصیت زایشی ندارند لیکن در پاره ای موارد در تشخیص قارچهای بیماریزا واجد اهمیت می باشند .

میسلیومهای رویشی در انواع قارچها ممکن است به اشکال زیر مشاهده گردند.

۱-اجسام گره ای Nodular organs :فرم پیچیده میسلیومهاست که در واقع از تداخل هایفاها بوجود می اید و ظاهرا شباهت به یک گره دارد .

۲-هایفافنری یا مارپیچ Spiral hyphae :رشته های فنری شکل مشابه انچه در اکتینومیستها دیده می شود نیز در تعدادی از قارچهای بیماریزا قابل مشاهده است .

۳-میسلیوم راکتی Raquet mycelium :دراینگونه میسلیومها انتهایی سلولهای میسلیوم متورم می شود و ادامه این حالت رشته هایی با فرم راکت تنیس بوجود می اورد .

٤-اجسام شانه ای Pectinate bodies :در برخی موارد برامدگیهای کوتاه و بلند و یکطرفه در میسلیوم ایجاد می شود که حالتی شبیه شانه شکسته را دارد .

۵-فرم قندیلی یا شاخ گوزنی Favic chandelier (Antler hyphae) :این ساختار خاص که در نتیجه تورم در انتهای انشعابات میسلوم ایجاد می گردد.

٦-هایفاهای محیطیPeridial hyphae :هایفاها عریض و واجد تعدادی دیواره عرضی هستند که ممکن است در انتها به صورت اسپیرال درایند.

۷-پیکنیدیوم Pycnidium :ساختارهای میسلیومی مشابه پری تسیوم در برخی از اسکومیستها است .پیکنیدیوم که از تداخل میسلیوم ها ایجاد می شود چندین میلیمتر قطر دارد و ممکن است به وسیله دیواره سختی محصور گردد و اطراف ان را هایفاهای محیطی احاطه کند.

۸-استونStolon :میسلیومهای افقی و کمانی شکلند که درمحل تماس با محیط ریزوئید ایجاد می کنند (مثل ریزوپوس و ابسیدیا).ریزوئید خود یک نوع میسلیوم تغییر شکل یافته و ریشه مانند است که درون محیط کشت فرو می رود و جذب مواد غذایی را بعهده دارد.

۹-اسکلروتیا Sclerotia :توده ای از هایفاها یا سلولها تشکیل ساختارهای مقاوم و کروی شکل به نام اسکروتیوم می دهند که چند میلیمتر قطر دارد و حاوی مواد غذایی ذخیره ای است .

۱)تولید مثل غیر جنسی در قارچها :Asexual reproduction

در قارچ شناسی پزشکی برای تشخیص قارچها مرحله تولید مثل غیر جنسی بویژه دارای اهمیت خاصی است .در قارچهای زیگومیست اسپور غیر جنسی درون اسپورانژیوم ایجاد می شود.این قارچ ها واجد هایفهای عریض بدون جدار عرضی(سنوستیک)می باشند که هیفهای بدون انشعاب اسپورانژیو فور(sporangiophore)را تولید می نمایند.اسپورانژیوفور به یک کیسه ای به نام(sporangioum)که عقیم و نازاست وصرفا عمل حفاظتی اسپورها را به عهده دارد منتهی میگردد.پروتوپلاسم درون اسپورانژیوم به چندین پروتواسپورتقسیم میشود(با روش قطعه قطعه شدن پروتوپلاسم)در مراحل بعد تعدادی اسپورانژیوسپور(sporangiospore)تک هسته ای تشکیل میگردد که در واقع اسپورهای غیر جنسی هستند که با شکستن دیواره اسپورانژیوم به خارج می ریزند.

در سایر قارچها واحدهای غیر جنسی داخل اسپورانژیوم نمی باشند بلکه اجزاءازادی هستند که در نتیجه قطعه قطعه شدن هایف و جوانه زدن هایف و یا از طریق دیواره هایفها به وجود می ایند.این واحدها را کونیدی(conidia)می نامند هیف به وجود اورنده ان را کونیدیوفور (conidiophore)و به سلولی که به ایجاد کونیدی منتهی گردد سلول کونیده زا (conidiogenous cell)گویند.

به کونیدهای کوچک و تک سلولی میکرو کونیدی و به کونیدیهای بزرگتر که معمولا واجد بیش از یک سلول می باشند ماکرو کونیدی گفته می

شود.ساختارهای مختلف کونیدیوفور و کونیدی در مشاهدات میکروسکوپی ومجموعه ای از خصوصیات کلنی قارچ از جمله رنگ-درجه ی رشد-مورفولوژی و پیگمانتا سیون در تشخیص گونه قارچ واجد اهمیت می باشد.

Blastic development :در این حالت مواد سیتوپلاسمیک سلول مادر افزایش می یابد جوانه میزند و نوعی کونیدی ایجاد میشود که قبل از ایجاد شدن از سلول مادر(توسط دیواره عرضی)کاملا رشد می کند.اگر دو دیواره سلول مادر در تولید دیواره سلولی کونیدی به کار گرفته شوندبه این حالت هولوبلاستیک گویند مثل تشکیل بلاستوکونیدی در کاندیداالبیکنس و اگر منحصرا دیواره داخلی در ایجاد کونیدی مورد استفاده قرار گیرد انتروبلاستیک نامیده می شود .

Basipetal به زنجیره ای اطلاق می گردد که ابتدای زنجیره و مسن ترین ان در انتهای زنجیره واقع شود مثل اسپرژیلوس.

بر خلاف این حالت اکروپتال acropetalزنجیره ای از کونیدی ها را می گویند که جوانترین کونیدی در انتهای زنجیره و مسنترین کونیدی در ابتدای زنجیره واقع شده است مثل کلادوسپوریوم والترناریا .

در گونه های اسپرژیلوس فیالید ها بر روی وزیکول یا متولا (سابقا با نام استریگما خوانده می شود)قرار می گیرند.اگر فیالید ها مستقیما از وزیکول ایجاد شوند ترتیب قرار گرفتن یک ردیفی (uniseriate)و هنگامی که فیالید ها روی متولا واقع شوند ترتیب قرار گرفتن دو ردیفی (Biseriate)است .متولا همچنین در گونه های پنی سیلیوم دیده می شود و خوشه های فیالید را ایجاد می نماید .متولا در انجا از انشعابات کونید یوفور بوجود می اید .کونیدیوفور مخصوصی است که کونیدی و یا سلول های کونیدی زا را ایجاد می کند و می تواند در وضعیت Determinate(رشد ثابت)و یا Proliferous(قابل توسعه)قرار گیرد .

Determinateکونیدیوفوری است که رشدش قبل یا در زمان ایجاد کونیدی متوقف شود .

Proliferous کونیدیوفوریست که در خلال یا بعد از رشد کونیدی انتهایی باز هم قابلیت رشد و توسعه دارد.

انلید (Annellide)فرمی از سلول کونیدی زا می باشد که در برخی از قارچها ی مهم پزشکی دیده می شود .در فرم انلید اولین کونیدی ایجاد شده هولوبلاستیک و کونیدیهای بعدی انتروبلاستیک می باشند بر خلاف فیالید (Phialide)پیوسته اندازه ای ثابت دارد.انلید واجد رشد طولی است و در طی

ایجاد کونیدی طویلتر و در انتها باریکتر می شود و نشانه ای در انتهای ان با تولید هر کونیدی بر جای می ماند که اغلب به سختی قابل رویت است .

۲)تولید مثل جنسی:منظور از تکثیر جنسی اینست که دوسلول n کروموزومی مجاور هم قرار گیرند و کاملا با هم مماس شوند و سیتوپلاسمشان با هم ادغام شود به این مرحله پلاسموگامی گویند .مرحله بعد که هسته ها با یکدیگر ادغام می شود و تشکیل هسته 2nکروموزومی می دهند کاریوگامی گویند .اگر بعد از یک میوز تقسیم میتوز انجام شود چهار سلول n کروموزومی دیگر به وجود می اید که در کل ۸سلول nکروموزومی می شود .

a)تولید زیگوسپور:قارچهایی که تکثیر جنسی شان به روش زیگوسپور است زیگومیست می گویند .سلولهای جنسی نر و ماده بر روی دو هایف جداگانه قرار می گیرند .اندازه سلول های جنسی نر و ماده با هم برابر است .مراحل پلاسموگامی و کاریوگامی که انجام می شود نهایتا یک سلول جدید با جدار خار دار به نام زیگوت تولید می شود در داخل زیگوت میوز صورت می گیرد و زیگوسپور تولید می شود .هر زیگوسپور به عنوان یک واحد تکثیر می تواند عمل کند.

b)اسکوسپور:قارچهایی که تولید اسکوسپور می کنند در گروه اسکومیست قراردارند.در این روش اسکوسپورها در داخل یک فضای بسته به نام اسک

تولید می شوند بعد مراحل تکثیر جنسی صورت می گیرد .در برخی قارچهایی که با این روش تکثیر می کنند ساختمان اسک در داخل محوطه هایی به نام اسکوکارپ محافظت می شوند .

c)بازیدیوسپور:قارچهایی که به این روش تکثیر جنسی دارند بازیدیومیست گویند و هایفایشان دارای ''Clamp conection''است قارچهای گوشتی نیز با تولید بازیدیوسپور تکثیر انجام می دهند . در این روش در ساختمانهای چماق مانند به نام بازیدیوم بازیدیوسپور ها جوانه می زنند و با فشار به بیرون پرتاب می شوند .

d)سلوهای جنسی نر و ماده بر روی یک هایف قرار دارند .سلول جنسی ماده خیلی بزرگتر از نر است.سلول جنسی نر متحرک است که به ان انتری دیوم Anthridiumگویند و سلول جنسی ماده را اووگونیوم گویند که در داخل ان یک یا چند اووسفر قرار دارد.

انواع بیماریهای قارچی:۱۵۰ نوع قارچ می تواند از چند هزار نوع قارچ تولید بیماری کند .

۱)بیماری به صورت توکسیکوز باشد یعنی سم قارچ یا خود قارچ را بخوریم .

۲)به صورت اسم و الرژی:استنشاق کونیدیا یا اسپور بعضی قارچها می تواند باعث اسم وکهیر و یا الرژی شود.

۳)کلنیزاسیون قارچ در بدن :قارچ در بدن رشد می کند بر حسب اینکه در کجا و کدام بافت و عضو کلنیزاسیون صورت گیرد انواع بیماری را داریم.

بخش دوم:

بیماری های قارچی مرتبط با تستهای سرولوژیک:

a)بیماری های قارچی سطحی (Superficial Mycosis):زمانی است که قارچ در بدن در سطحی ترین لایه پوست و لایه کوتیکول مو جایگزین شود.

b)بیماری های قارچی جلدی(CataneousnMycosis):قارچ در طبقه شاخی پوست تا جایی که رگ خونی نباشد و در قسمتهای غیر زنده ناخن و قسمت کورتکس و مدولای مو می باشد.

c)بیماری های قارچی زیر جلدی (Sub cotaneous Mycosis):در این بیماری ها قارچ از طریق ضربه /خراش عمیق و برش به زیر جلد واردمی شود و ایجاد بیماری می کند .

d)بیماری های قارچی احشایی(Systemic Mycosis):از طریق استنشاق داخل بدن می شوند و ارگانهای داخلی را مثل ریه /مغزو استخوان و خون را درگیر می کند.

تستهای سرولوژیک اغلب دربیماری های قارچی احشایی کاربرد دارد.

الف)بیماری های قارچی احشایی Systemic Mycosis

این بیماریها را به دو گروه تقسیم می کنند :

۱)بیماری های قارچی احشایی به علت قارچ های پاتوژن

۲)بیماری های قارچی احشایی به علت قارچ های فرصت طلب

قارچ	پاتوژن واقعی	فرصت طلب
انتشار جغرافیایی	محدود	جهانی
یکبار ابتلا ایجاد مصونیت	+	_
میزبان	فرد سالم	ایمونوساپرسیو
تاثیر سن/جنس و نژاد	دارد	ندارد

قارچهای پاتوژن فرصت طلب :

۱)کاندیدا Candidiasis

۲)کریپتوکوکوزیس Cryptococcosis

۳)اسپرژیلوس Aspergillosis

٤)موکورMocoromycosis

قارچهای پاتوژن واقعی :

۱)هیستوپلاسما کپسولاتوم Histoplasma capsulatum

۲)بلاستومایسس درماتایتیس Blastomyces dermatidis

3)کوکسیدیوئیدس برازیلینسPara coccidiodes brasiliensis

بیماری های قارچی سیستمیک فرصت طلب:

۱)کاندیدیازیس

بیماریزایی:کاندیدیازیس یک عفونت حاد یا تحت حاد است که در دهان /پوست /واژن/ناخنها برونش و ریه باعث ایجادعفونت می گردد .از مهمترین و شایعترین بیماریهای قارچی فرصت طلب است وبه سه فرم است.

– کاندیدیاز جلدی : شامل عوارض و حالتهای زیر است :

۱)انترتریگو که کاندیدیازیس نواحی چین دار بدن و منتشره است.

۲)بثورات قنداقی :به علت تماس زیاد با کهنه های ناپاک و مرطوب در نوزادان اتفاق می افتد.

۳)اونیکومیکوز و پارونیکیا:اماس بافت ناخن(اونیکومیکوز)و اماس اطراف ناخن (پارونیکیا)که شایعترین فرم جلدی است .

٤)گرانولوم کاندیدیایی:در بچه های معیوب از نظر سیستم ایمنی و دیابتی ها دیده می شود. –

–کاندیدیازیس جلدی مخاطی:شامل موارد زیر می باشد:

۱)دهان:موجب برفک/ التهاب زبان/ترک گوشه لب/التهاب مخاط دهان و التهاب لب می شود.

۲)واژینیت .

۳)کاندیدیازیس دستگاه گوارش.

٤)کاندیازیس ریه و برونش که ایجاد توده های متراکم قارچی به نام کاندیدوما می کند.

٥)کاندیدیازیس جلدی مخاطی مزمن که مقاوم ترین شکل بیماری است.

-کاندیدیازیس سیستمیک یا منتشره:شامل عفونتهای زیر می باشد:

۱)عفونت دستگاه ادراری ۲)اندوکاردیت ۳)منتژیت ٤)سیتی سمی

-بیماری های الرژیک در اثر کاندیدیازیس:

۱)کاندیدیدیس candidids ۲)اگزمایکاندیدایی ۳)اسم ٤)گاستریت.

تشخیص ازمایشگاهی:

۱)ازمایش مستقیم: در لام مستقیم کاندیداها در بافت به شکل سلول های مخمری گرد یا بیضی شکل با جوانه یا بدون جوانه همراه با رشته های میسلیوم و سلول های دارای لوله زایا دیده می شوند.وجود مخمرهای جوانه دار میسلیوم های کاذب با جوانه یا بدون جوانه باعث تشخیص کاندیدا از سایر مخمرها می شود.

۲)کشت:کشت بر روی محیط های سابورودکستروز اگار حاوی کلرامفنیکل(sc) و یا سابورودکستروزاگار حاوی سیکلوهگزامید و

کلرامفنیکل(scc) انجام میگیرد. از محیط بی فا زیک که محتوی BHI اگاروBHIمایع است برای کشت کاندیداها نیز استفاده می شود.کلنی کاندیدا ها در محیط سابورو دارای کلنی سفید و کرمی رنگ هستند .برای تشخیص کاندیدا البیکنس از محیط کورن میل اگارCMAبه همراه ۱٪توئین ۸۰ می توان استفاده کرد که در این محیط کاندیدا البیکنس با ایجاد کلامیدوکونیدی از سایر کاندیداها ومخمرها مجزا می گردد.

۳)ازمایشات بیوشیمی :از ازمایشات جذب و تخمیر قند ها هم می توان استفاده کرد تا کاندیدا البیکنس را از سایر گونه های مختلف جدا کنند.

۲)کریپتوکوکوزیس Cryptococosis

بیماری زایی :کریپتوکوکوزیس عفونت مزمن /تحت حاد وندرتاحاد ریوی /مغزی و سیستمیک است .عامل بیماری مخمر کریپتوکوکوس نئوفورمنس است.در افرادی که دچار نقص سیستم ایمنی شده اند عفونت اولیه ممکن است به سرعت منتشر شده به صورت بیماری حاد کشنده در اید .در بیمارانی که از نظر دفاع سیستم ایمنی دارای قدرت کافی هستند عفونت مزمن به طور نادر ظاهر شده و می تواند سبب ایجاد عفونت سیستمیک جلدی یا مغزی شود که این افراد با درمان دارویی بهبود می یابند .

تشخیص ازمایشگاهی :

۱)ازمایش مستقیم:نمونه های مورد ازمایش از جمله خلط/ترشحات و دملهای باز نشده بصورت تازه و به طور مستقیم بین لام و لامل قرار دارد.بهترین روش جهت تشخیص استفاده از مرکب چین به همراه یک قطره از رسوب مایعات مورد ازمایش است. کریپتوکوکوزیس نئوفورمنس سلول مخمری گرد یا بیضی شکل کپسول دار است که با جوانه یا بدون جوانه دیده می شود در بعضی از سوش های غیر عادی کریپتوکوکوزیس نئوفورمنس در مایع نخاع میسلیوم های کاذب ایجاد می کند .

۲)کشت:نمونه های مورد ازمایش مشکوک به کریپتوکوکوس نئوفورمنس را در روی محیط سابورو دکستروز اگار حاوی کلرامفنیکل /بلاد اگار وBHIکشت داده و در دمای ۳۷Cقرار داده و بعد از یک تا دو روز محیط را بررسی می نمایند که در موارد مثبت دارای کلنی خامه ای با هاله صورتی است .کریپتوکوکوس ها اوره از مثبت هستند پس از ٤روز در محیط اوره بدلیل ایجاد کربنات وامونیوم ایجاد رنگ قرمز می کنند .

۳)اسپرژیلوزیس Aspergillosis

اسپرژیلوزیس یک نوع از عفونتهای قارچی فرصت طلب در انسان و حیوان است که در اثر گونه های مختلف قارچ اسپرژیلوس ایجاد می گردد. .علائم کلینیکی و شدت بیماری بستگی به شرایط فیزیولوژیک بدن میزبان و اندامهای درگیر عفونت و گونه های مختلف اسپرژیلوس دارد.تمام گونه های

اسپرژیلوس نسبت به حرارت مقاومند .بیماری از طریق کادر پزشکی منتقل می شود .شایان ذکر است که بیماری در ایران بعد از عمل جراحی زیاد دیده شده است .اسپرژیلوس فلاووس ایجاد افلاتوکسین کرده و هپاتوتوکسیک وکارسینوژنیک است.میکوتوکسیکوز مسمومیت حاصله از خوردن توکسینهای قارچی بر روی مواد غذایی را گویند که عوامل اصلی ان ابتدا اسپرژیلوس فلاووس وسپس فوزاریوم و پنی سیلیوم هستند .اتومیکوزیس به عفونتهای قارچی گوش می گویند که اسپرژیلوس نیجر عامل ۹۰٪موارد ان است. عامل بیش از ۵۰ ٪عفونتهای قارچی چشم اسپرژیلوس فومیگاتوس/فلاووس ونیجر بوده و فوزاریوم و کاندیداوپنی سیلیوم در رده های بعدی قرار دارند.

تشخیص ازمایشگاهی :

۱)ازمایش مستقیم:نمونه های مورد ازمایش را در روی لام تمیزی قرار داده و ۲-۱ قطره پتاس ۱۰٪بر روی ان قرار داده و بررسی می نماییم و در مواردبیوپسی پس از رنگ امیزی نمونه ان را مورد مطالعه میکروسکوپی قرار می دهیم .نمونه های حاصل از عمل جراحی میسلیومهای منشعب و دو شاخه همراه با تیغه میانی دیده می شوند.

۲)کشت:اسپرژیلوس به سیکلوهگزامید حساس بوده بنابراین فقط در محیط سابورودکستروزاگار که فاقد هر انتی بیوتیکی است و در حرارت ۳۷به خوبی رشد می کند.

۳)تشخیص افتراقی :فرمهای ریوی اسپرژیلوس با برونشیت /اسم/ابسه ریه وتوبرکلوزوکارسینوم قابل اشتباه است چون این قارچ بطور ثانویه باعث ایجاد عفونت می گردد بنابراین همیشه باید وجود یا عدم وجود بیماری و عفونت اولیه در بدن بیمار ثابت شود .

۴)موکورمایکوزیس Mucormycosis

بیماری زایی :یک بیماری حاد و کشنده باسیر سریع است و در افرادی که دارای نقص سیستم ایمنی می باشند توسط قارچهای دسته موکورال ایجاد می گردد. عامل بیماری از راه بینی/دهان/صورت/دستگاه گوارش و پوست وارد و باعث درگیری اندامهای مذکور می شود و گاهی قارچ از طریق خون ممکن است به سایر اندامها انتشار یابد و در عروق خونی باعث امبولی و نکروز نسوج اطراف گردد.عفونت بیشتر در افراد دیابتیک /سوختگی شدید/لوسمی/لنفوم و دربچه های دچاد سوء تغذیه دیده می شود .موکورمایکوزیس حادترین عفونت قارچی شناخته شده است و شدت بیماری بستگی به نوع بیماری زمینه ای و محل ورود ارگانیسم دارد.عفونت کسب شده از کادر پزشکی در اثر رایزوپوس دیده شده است.بیماری

موکورمایکوزیس به دلیل ظهور شکل های بالینی متفاوت به شرح زیر تقسیم بندی می شود:

۱)موکورومایکوزیس رینوسربرال: یک بیماری حاد با سیر سریع است که ابتدا بینی و سپس چشم/مغز و مننژرا درگیر می کند.

۲)موکورومایکوزیس قفسه صدری: ریه به دنبال استنشاق کونیدیا درگیر می شود و شبیه به سایر عفونت های ویروسی و باکتریایی دارای علائم بالینی درد قفسه سینه و خلط خونی و تب است.

۳)موکورومایکوزیس شکمی و لگنی: به دلیل سوء تغذیه در بچه ها و گرفتاری اولیه معده در دیابتی ها و بیماران مبتلا به لوسمی موکورومایکوزیس دستگاه گوارش ایجاد می شود.

٤)موکورومایکوزیس جلدی:بیشتر در سوختگیها مشاهده می شود.

تشخیص ازمایشگاهی:

۱)ازمایش مستقیم:عناصر قارچی در نمونه های الوده به صورت میسیلیوم های عریض و پهن و منشعب با دیواره ضخیم مشاهده می شود گاهی ممکن است سلولهای متورم در نمونه دیده شوند.

۲)تشخیص افتراقی:بیماری با عفونت های ویروسی و باکتریای قابل اشتباه است و در بیماران دیابتیک که به پنومونی یا سینوزیت سریع حاد برونشیت و التهاب بافتهای چشم مبتلا شده اند باید موکورمایکوزیس را مورد توجه قرار داده و سریع با ازمایش مستقیم نوع بیماری را تشخیص داده و درمان اختصاصی را شروع نمود جون موکورمایکوزیس یک بیماری حاد و کشنده است پس تشخیص سریع ان به نفع بیمار است.

* بیماری های قارچی سیستمیک پاتوژن

۱)هیستوپلاسموزیسHistoplasmosis

بیماری زایی:هیستوپلاسموزیس یک نوع عفونت گرانولوماتوز قارچی است که در اثر استنشاق کونیدی قارچ بوجود می اید.عامل اصلی هیستوپلاسموزیس قارچ دو شکلی هیستوپلاسماکپسولاتوم است. هیستوپلاسموزیس دارای سه مرحله می باشند که عبارتند از:

۱)هیستوپلاسموزیس حاد اولیه :قارچ عامل بیماری در ریه مستقر است و فرد دارای علائمی چون سرفه/تنگی نفس/سیانوز/خلط خونی و تب لرز است .

۲)هیستوپلاسموز مزمن:در ریه این بیماران ضایعات کالسیفیه همراه با فیبروز لب فوقانی ریه دیده می شود .

۳)هیستوپلاسموز حاد:شیوع بیماری در بچه های کوچک و افراد مسن بیشتر است و در اثر عوامل مستعد کننده مختلف ایجاد می شود .

تشخیص ازمایشگاهی:

۱)ازمایش مستقیم:هیستوپلاسماکپسولاتوم به صورت سلولهای مخمری کوچک بیضی شکل با یا بدون جوانه در داخل سلولهای ماکروفاژ و منونوکلئور دیده می شوند.

۲)کشت:نمونه های مورد ازمایش مانند خلط وبیوپسی /خون /پونکسیون مغزاستخوان و غیره را در محیطهای سابورو BHIوبلاد اگار کشت می دهیم و سپس مورد بررسی قرار می دهیم .

۳)تشخیص افتراقی:هیستوپلاسموزیس با بیماری هایی مانند منونوکلئوز عفونی/سارکوئیدوز کریپتوکوکوزیس /سیفلیس و سل قابل اشتباه است که بوسیله روشهای تشخیصی مربوط به هر کدام می توان نوع بیماری را تشخیص داد.

۲)بلاستومایکوزیس Blastimycosis

عفونت گرانولوماتوز چرکی است که مبدا ریوی و از این راه به سایر اندامهای بدن بخصوص پوست و استخوان سرایت می کند .راه انتقال بیماری

از طریق استنشاق کونیدی قارچ دو شکلی بلاستومیسس درماتایتیس است .بلاستومیکوزیس دارای سه مرحله است :

۱)بلاستومایکوزیس ریوی :عفونت ریوی باسرفه های خشک /گرفتگی صدا /درد پهلوو تب است.

۲)ضایعات جلدی و استخوانی :در اثر تلقیح ارگانیسم به داخل جلد و انتشار ان به سایر نقاط بدن بوجود می اید.

۳)فرم منتشر :به دنبال درگیری ریه و پوست عفونت به سایر قسمتهای بدن مانند استخوان /سیستم اعصاب مرکزی و دستگاه تناسلی _ادراری انتقال می یابد.

۳)کوکسیدیوئیدومایکوزیس Coccidiomycosis

عفونت تحت حاد با حاد دستگاه تنفسی است که بندرت مزمن شده یا انتشار می یابد و سایر اندامها را مبتلا می کند .عامل بیماری قارچ کوکسیدیوئیدس ایمی تیس است که یک قارچ دو شکلی می باشد .بیماری غالبا از طریق استنشاق ارتروکونیدی های کوچک قارچ ایجاد می شود. گاهی نیز عفونت در اثر ورود اجسام نوک تیز الوده به قارچ کوکسیدیوئیدس به پوست بوجود می اید .این بیماری در اکثر موارد خوش خیم و بدون علامت می باشد.

ب)بیماری های قارچی زیر جلدی Sub cotaneous Mycosis

عفونت هایی هستند که در اثر تلقیح تروماتیک عامل بیماری به پوست ایجاد می شوند .در این عفونت هاضایعات در محل ورود قارچ بطور موضعی باقی می ماند و پیشرفت می کند وبه طور تدریجی به نسوج مجاوروارد میشود.

اسپوروتریکوزیس Sporotrichosis

بیماری زایی:اسپوروتریکوزیس یک عفونت مزمن قارچی با ضایعات ندول مانند جلد و زیر جلدی و غدد لنفاوی مجاور همراه با چرک وزخم و جراحت است .عامل بیماری قارچ دوشکلی اسپوروتریکس شنکئی است که از طریق ضربه و خار یاتیغ گیاهان ویا اجسام برنده ونوک تیز وارد پوست شده و ایجاد عفونت می کند .اسپوروتریکوزیس در طبیعت در خاک و چوب گیاهان وجود دارد.اسپوروتریکوزیس به٤ فرم جلدی لنفاوی /جلدی/جلدی مخاطی /خارج جلدی یا منتشرو ریوی دیده می شود .

الف)اسپوروتریکوزیس جلدی لنفاوی :شایعترین شکل بیماری است و بنام فرم گوماتوز معروف است .قارچ از راه خراش وارد پوست شده و چند روز یا چند هفته پس از ایجاد شدن ضایعه اولیه ندولهای زیر جلدی زیادی در مسیر مجاری لنفاوی بوجود می ایند که این ندول هابا ضایعه اولیه شباهت داشته و درابتدا متحرک بوده ولی سپس به پوست چسبندگی پیدامی کنند و

باعث قرمز رنگ شدن پوست ناحیه درگیر می شوند .زخمی شدن ندول ها و خارج شدن چرک از انها باعث تورم عروق لنفاوی متصل کننده ندول ها شده که بصورت طناب ضخیمی در زیر پوست لمس می شود.

ب)اسپوروتریکوزیس جلدی :در این فرم بیماری عفونت اولیه فقط در محل ورود قارچ ایجاد می شود .ضایعات اقماری کوچک هستند و بیشتر ناحیه صورت /گردن وبدن را درگیر می کنند و ضایعات به شکل های زگیلی شکل /اکنه ای فرم/پلاک های قرمز و ملتهب /ترشح دار /ماکولر/پاپولرو لکه های پوسته دار که غدد لنفاوی را درگیر نمی کند دیده می شود.

ج)اسپوروتریکوزیس جلدی مخاطی:بدنبال عفونت منتشر ایجاد می شود ضایعات در دهان حلق یا بینی ظاهر می شود و عفونت همراه با درد /التهاب /تورم وچرک است .

د)اسپوروتریکوزیس خارج جلدی ومنتشر:شایع ترین فرم عفونت بعد از نوع جلدی است که بیشتر در نسوج جلدی /استخوانی و عضلانی ایجاد می شود و دارای انتشار خونی /مغزی و ریوی می باشد.

تشخیص ازمایشگاهی:

۱)ازمایش مستقیم:.در بررسی میکروسکوپی اسپوروتریکس شنکئی به صورت مخمر های کشیده بیضی /دوکی ویاقایقی شکل باجوانه یا بدون جوانه و بندرت نیز میسلیوم دیده می شود .

۲)تشخیص افتراقی :بیماری هایی که در تشخیص افتراقی اسپوروتریکوزیس مطرح هستند شامل :

سیفلیس/سل/جذام/تولارمی/بلاستومایکوزیس و کوکسیدومایکوزیس می باشند.

فصل دوم

بخش اول: اجزای موثر سیستم ایمنی

مقدمه: گرچه گونه های بی شماری از قارچها در محیط وجود دارند ولی تعداد کمی از انها قادر به ایجاد اسیب های پاتولوژیک می باشند. حتی اگر قارچ های گنده رو نیز در بدن تکثیر بی رویه یابند باعث مرگ میزبان خود خواهند شد.اغلب عفونت های قار چی در افراد سالم دوره ی محدودی داشته و اسیب های دائمی بسیار نا چیزی بر جا می گذارند .این مهم به علت مقابله ی سیستم ایمنی هر یک از افراد در مقابل عوامل عفونی می باشد.

سیستم ایمنی به دو سری اجزا عمل کننده تقسیم می شود :

ایمنی طبیعی

ایمنی اکتسابی یا ایمنی قابل تطابق (adaptive)

ایمنی طبیعی خط مقدم دفاع در مقابل عوامل عفونی بوده وبا پاتوژنهای بسیار قوی قبل از انکه بتوانند عفونت تثبیت شده ای را ایجاد کنند مقابله می نمایند. ایمنی اکتسابی در مقابل عامل عفونی ایجاد واکنش اختصاصی کرده و باعث از بین رفتن ان می شود.

ایمنی طبیعی غیر اختصاصی عمل نموده و مکانیسم های اختصاصی مانند سیستم های ایمنی هومورال و با واسطه سلولی نیز بسته به پاتو ژنهای قارچی متفاوت عمل می نمایند .نوع پاسخ ایمنی به انتی ژنهای قارچی تعیین کننده واکنش بافتی بوده و گاهی این واکنش ها در پاتوژنز بیماری دخالت دارند. در یک میزبان سالم ابتدا قارچ ایجاد یک واکنش بیوژنیک و به دنبال ان یک واکنش گرانولومایی را می کند .پاسخ ایمنی به عفونتهای ناشی از قارچ های فرصت طلب در بیماران با اختلال ایمنی عمدتا به صورت نکروتیک و چرکی است.

مکانیسم موثر(efector) ایمنی:

انچه یک سیستم ایمنی عمل کننده لازم دارد عبارت است از ایجاد پاسخی است که میزبان را در مقابل عفونت حاصل از میکروارگانیسم های پاتوژن حفظ کند .پاسخهایی که به درستی باعث از بین رفتن قارچ های پاتوژن می شوند جمعا به نام مکانیسمهای موثر (افکتور)سیستم ایمنی موسوم اند . لنفوسیت های T سایتوتوکسیک از جمله این سلولها می باشند که قادر هستند در مقابل انتی ژنهای قار چی و همچنین سلولهای الوده پوشیده از انتی بادی عمل نمایند.

لنفوسیت هایی که سلولهای هدف را به طور غیر اختصاصی از بین می برند به نام سلولهای (natural killer cell) موسوم است و از دیگر اجزا موثر ایمنی محسوب می شوند.نظر به اینکه سلول های NKدارای تعدادکمی گیرندهFCدر سطح خود هستند فعالیت انها بستگی کمی به فعال

شدن هم زمان ایمنی هومورال دارد در حالی که به علت دارا بودن تعداد زیاد لنفوسیت های T سایتوتوکسیک وابستگی بیشتری به انتی بادی داشته سلولها و عوامل پوشیده شده از انتی بادی راشناسایی و انها را از طریق مکانیسم مسمومیت سلولی وابسته به انتی بادی (antibody dependent cell cytotoxicity =ADCC)می کشند.

نقش مهم دیگر مکانیسمهای موثر عمل کننده القا است که توسط ایجاد محصولات یا متابولیت های مربوط به پروسه اماسی صورت گرفته و شامل جلب و فعال کردن سلولهای تک هسته ای نوتروفیلها ائوزینوفیلها بازوفیلها و انواع سلولهای مرتبط با این مسئله می باشند .یک مثال مهم برای این سیستم القایی فعال شدن ماکروفاژهاتوسط اینترفرون است که باعث افزایش مشخص ظرفیت سلول های مزبور در تخریب کردن سلول های قارچی بلعیده شده می شود .سومین مکانیسم موثر ایمنی که در اثر فعال شدن سیستم ایمنی هومورال به وجود می اید واکنش انتی ژن_انتی بادی و فعال شدن سیستم کمپلمان است .

سلولهای فاگوسیتیک :

ایمنی طبیعی و غیر اختصاصی شامل دو گروه از لکوسیت ها ی بیگانه خوار می باشد. گرانولوسیت ها و سلول های بیگانه خوار مونونوکلئر(مونوسیت و ماکروفاژ) .هر دو سری سلولهای فاگوسیتیک از سلولهای بنیادی مغز استخوان سر چشمه می گیرند .گرانولوسیت ها حدود ۱۰ ساعت قبل از مهاجرت به بافت ها در خون جریان داشته و در

بافت ها اعمال موثر خود را به مدت ۲-۱ روز انجام می دهند. سلول ها ی بیگانه خوار تک هسته ای نیز از مغز استخوان منشا می گیرند .مونو سیت ها سلولهای نا کاملی با ظرفیت زیاد برای تمایز و تغییر شکل هستند مانند سلول های PMN و سلول های بیگانه خوار MNنیز ابتدا در خون جریان داشته و بعد وارد بافتها و اعضاء مختلف بدن می گردند. در بافتها سپس تمایز یافته و به صورت ماکروفاژهای بالغ در می ایند ماکروفاژها سلول های بیگانه خوار غیر متحرکی بوده که در سینوزوئید های کبد (سلولهای کوپفر)و طحال به طور خطی جای گرفته سلول های بیگانه خوار اصلی موجود در الوئول ها ریه وحفرات پلور و پریتوان بدن بوده و یا به تعداد زیاد در مغز و به شکل میکروگلی ها مشاهده می شود. همچنین به تعداد قابل توجهی در بافت پیوندی پوست و دستگاه گوارش و غشا سینویال مفاصل نیز وجود دارند .ماکروفاژها در هر یک از نقاط فوق الذکر هفته ها و ماه ها باقی می ما ند .ماکروفاژهای فعال شده یکی از خطوط مهم دفاعی در مقابل میکروارگانیسمهای مهاجم بوده و در دفاعهای طبیعی و اختصاصی نقش مهمی را ایفا میکنند. حساس شده ماکروفاژها فعال شده Tبه محض تولید لنفوکاینهای مختلف توسط سلولهای و به طور قابل توجهی بیگانه خواری و قابلیت از بین بردن ارگانیسمها ی داخل خود را افزایش می دهند . ایمونوگلوبولینهایی که به انتی ژنهای سطحی سلولهای بیگانه متصل شده اند باعث تسهیل اتصال ماکروفاژهاوسلول های PMN به انها می شوند.

مکانیسم مقاومت میزبان در مقابل عفونت های قارچی:

مکانیسم هایی که در دفاع میزبان در مقابل عفونتهای قارچی دخالت دارند به دفاع موضعی مانند پوست و غشا مخاطی و همچنین دفاع سیستمیک مانند سیستم اماسی غیر اختصاصی و سیستم ایمنی اختصاصی تقسیم می شوند .سیستم اماسی ابتدائی ترین دفاع غیر اختصاصی میزبان است که برای فعال شدن نیاز به تماس با ارگانیسم مهاجم نداشته می تواند به سرعت پاسخ داده و میزبان را تا حدی در مقابل عفونت قارچی محافظت نمایند.

مقاومت حاصل از سیستم ایمنی اکتسابی معمولاپس از تماس کافی با ارگانیسم ظاهر می گردد. در صورت مواجهه سلول های لنفوئیدی میزبان با سلول های قارچی و یا متابولیت های انها شاهد تحریک سیستم ایمنی و پاسخ ایمونولوژیک خواهیم بود که طبیعت ان به نوع ترکیب شیمیایی انتی ژن ها ونحوه عرضه انها وهمچنین به نحوه پاسخ سلولهای لنفوئیدی میزبان بستگی دارد. ماکروفاژها و مونوسیت ها و نوتروفیل ها وسلول های Bو T محافظین میزبان در مقابل عفونتهای قارچی هستند. این سلول ها تواما عمل کرده و بنا بر این تعیین نقش دفاعی هر یک از انها به تنهایی مشکل است. به خاطر همین مسئله نیز تحقیقات در مورد بیمارانی که گرفتار فقر یا نقصانی در یکی از اجزا فوق هستند میتواند کمک به روشن شدن نقش اجزا دیگر نماید.نقص عملکردی سلول های Tدر اغلب بیماران مبتلا به عفونتهای قارچی مشخص شده است .تحقیقات متعددثابت کرده اند که سلول های T به همراه

سلولهای بیکانه خوار MN دارای نقش محافظتی مهمی درمقابل اغلب (نه همه)عفونت های قارچی بوده ولی نقش سلول هایB در محافظت غیر اختصاصی میزبان بطور ناچیزی مشخص شده است .برای انکه قارچی بتواند در یک میزبان با سیستم ایمنی سالم موفقی باشد ابتدا باید چنین مکانیسمی را غیر فعال نموده در مقابل اعمال ان مقاومت کرده و یا حتی از فعال شدن ان جلوگیری نماید.عوامل بیگانهای که قادر به ایجاد اثرات بیولوژیک در میزبان باشند به نام عوامل مهاجم خوانده می شوند .در صورتی که دفاع میزبان قبل از بروز عفونت اسیب دیده باشد انها را عوامل فرصت طلب نامند ولی اگر مکانیسم دفاعی میزبان بدون هیچ گونه صدمه قبلی مهار شود به نام عوامل پاتوژن واقعی خوانده می شود .گر چه نحوه عمل عوامل پاتوژن باکتریایی معین شده اما هنوز برای بسیاری از عفونتهای قارچی نامشخص بوده ولی در مجموع نحوه عمل انها به قرار زیر است:

۱)مقاومت در مقابل عوامل غیر اختصاصی ضد قارچی سرم.

۲)جلوگیری از حرکت نوتروفیل ها و سلولهایMN به کانون عفونت.

۳)خنثی کردن یا ممانعت از تماس سلولهایPMN,MN

٤)دخالت در هضم سلول های بیگانه خوار و در نتیجه بقای بهتر کوتاه مدت در نوتروفیل ها و طولانی مدت در سلول های MN به همراه مهار پاسخ لنفوسیتی و یا کاهش کارائی و اثر انها .

گر چه در مورد نحوه عمل کرد مکانیسم های ایمنی طبیعی و اکتسابی در مقابل قارچ های پاتوژن در چند سال گذشته مرور زیادی صورت پذیرفته

است ولی در این قسمتها تنها به ذکر مقدمه ای بر نحوه دفاع میزبان اکتفا می شود .

دفاع موضعی(Local defences):

پوست را یک عضو ایمونولوژیک مهم می دانند که در واکنش های ایمنی سلولی و تشخیص افتراقی خودی از بیگانه همکاری دارند. اغلب عناصرایمنی سلولی(به جزء سلول هایB) در سراسر پوست مستقر بوده یا از ان عبور نموده و درنواحی که واکنش اماسی ایجاد گشته باشدتجمع می یابند .سلول عرضه کننده انتی ژن در اپیدرم لانگر هانس نام دارد. این سلول پس از برخورد با انتی ژن به عقده لنفاوی رفته تبدیل به سلول دندرتیک گشته وانتی ژن پرورده شده را دور از محل تماس تحویل سلول های Bو یا عمدتاT میدهد.پوست سالم و طبیعی سد موثری در مقابل کلنیزه شدن تعدادی از قارچها بر روی ان می باشد .این عمل به وسیله خاصیت ریزش طبیعی لایه شاخی فلور نرمال میکروبی و ترشح اسیدهای چرب اشباع با خاصیت ضد قارچی صورت می گیرد. برای مثال در ازمایشگاه نشان داده شده که هر چند کاندیداالبیکنس به سلول های کورینوسیت (شاخی)اپیدرم می چسبد ولی این عمل به وسیله کمپلمان و سایر اجزاغیر اختصاصی سرم خنثی می شود. اغلب درگیری جلدی و تهاجم به بافتهای زیرین توسط قارچ وقتی ایجادمی شودکه پوست مرطوب و خراشیده شده باشد.اسپرژیلوس ها هم که جز فلور طبیعی پوست نیستند می توانند باعث الودگی زخمهای باز بیماران گردند.مکانیسم هایی که میزبان را در مقابل عفونت های قارچی سطحی و

عمقی محافظت می کنندمتفاوت می باشند .به نظر می رسدکه چسبندگی اولین مرحله پدیده تهاجم به سطوح مخاطی توسط کاندیدا باشد.مقاومت در مقابل چسبندگی یا اتصال سلولهای کاندیدا توسط تولید موکوس رقابت برای مکان و مواد غذایی با سایر میکروارگانیسم ها و یا به وسیله ریزش طبیعی سلول های اپیتلیال صورت می گیرداگر چه البیکنس نیز باتولید لایه فیبریلار چسبندگی خود را تشدید می کند.نقش سلول های T

در دفاع میزبان بر علیه عفونتهای جلدی نظیر عفونتهای کاندیدایی شناخته شده است . علائم کاندیدیازیس مزمن جلدی مخاطی معمولا در بیماران مبتلابه نقص در تکثیر و عملکرد سلول های T شدت می یابد اگر چه عفونتهای سیستمیک نیز ممکن است در انها ایجاد شود.کاندیدیازیس جلدی مخاطی مزمن به طور اختصاصی در بچه هایی ایجاد می گردد که نقص ژنتیکی از قبیل اگاماگلوبولینمی تیپ سویس سندرم دی جرج و یا بیماریهای غددی نظیر هیپوپاراتیروئیدیسم جوانان هیپوادرنوکورتیسم و تیموما دارند .اغلب بیماریهای زمینه ای نامبرده همراه با نقص ایمنی سلولی می باشند . افراد مبتلا به سندرم نقص ایمنی اکتسابی (AIDS)نیز دارای نقایص مشابهی بوده و این افراد نیز طیف وسیعی از عفونتهای مخاطی کاندیدیائی را تجربه می کنند. در بیماران مبتلا به CMCC

(Chronic Muco Cutaneous Candidiasis) تعداد سلول های Tطبیعی است ولی این سلول ها فعالیت بسیار کمی دارند .اغلب این مکانیسم ها در

بیماران مبتلا به AIDS,CMCC مطالعه شده ولی اختلافات متعددی دراین دو گروه مشاهده می شود.در بیماران CMCCبه ندرت کاندیدیازیس مری ایجاد می شود در حالی که در بیماران مبتلابه AIDS
به ندرت عفونت های کاندیدایی پوست و ناخن مشاهده می گردند.غلظت بالای IgAدر سطوح مخاطی فعالیت و جایگزینی میکروارگانیسم ها را تنظیم و کنترل نموده و ازتثبیت پاتوژن های بالقوه جلوگیری به عمل می اورد.به طور مثال سلول های کاندیدا البیکنس پوشیده شده ازIgA به تعداد کمتری به سلولهای اپیتلیال مخاط انسان می چسبند و مخمرهای جداشده از دهان و دستگاه ژنیتال تحتانی افراد سالمی که در انها کلنیزاسیون یا عفونت کاندیدائی وجود دارد نیز اغلب ازIgA پوشیده شده اند. کاهش غلظتIgA مخاطی در ترشحات پاروتید بیماران مبتلا به
CMCCمشاهده می گردد در حالی که غلظت ان در بیماران مبتلا به کاندیدیازیس دهانی بالا است .در کلنیزاسیون و عفونتهای اختصاصی قارچی نظیر کاندیدیازیس سیستم ایمنی سلولی حائز اهمیت است.تماس زیاد انتی ژنهای کاندیدیائی باعث تحریک سلول های Tکمک کننده (helper)می شود تا سلول های B را در تولید IgAتشویق نمایند.افزایش تولید IgA منجر به افزایش تعداد سلول های T ساپرسور و در نتیجه کاهش تولید IgA می گردد. نقص ایمنی موضعی می تواندمنجر به عفونتهای موضعی شود. به طور مثال بروز واکنش الرژیک نسبت به انتی ژن های کاندیدا در واژن ممکن است باعث افزایش تولید پروستاگلاندین E2 توسط ماکروفاژها گردد.افزایش

پروستاگلاندین فوق تولیدIL2 را مهار کرده و ان نیز به نوبه خود از تکثیر لنفوسیتها بخصوص لنفوسیتهای T ممانعت به عمل می اورد .تغییر فلور گاسترو اینتستینال حاصل از انتی بیوتیک های وسیع الطیف و اسیب مخاطی حاصل از شیمی یا اشعه درمانی عوامل مستعد کننده مهم در تهاجم کاندیدا به دستگاه مزبور می با شند . علاوه بر ان سلول های اپیتلیال روده می توانندبه طور فعال کاندیدا را بلعیده در نتیجه موجب ورود ارگانیسم به جریان خون شوند .به هر حال روده از یک لایه موکوس نیز پوشیده شده که قارچ باید اول از ان عبور کند .ممکن است مواد فعال سطح کاندیدا نیز به طور شاخصی در تجمع سلول های مخمری در سطح سلول های اپیتلیال مخاطی مداخله نمایند.

پاسخ اماسی اولیه:

تهاجم قارچ به بافتهای زنده ایجاد یک پاسخ اماسی اولیه را می کند که ان هم سیستم ایمنی طبیعی میزبان را تضعیف نموده سد مکانیکی شکسته شده و موجب عفونت همراه با فعال شدن سیستم ایمنی اختصاصی می گردد. عناصر مهمی که در ابتدا با این پاسخ اماسی همراهی می کنند شامل پروتئین های پلاسما/ ماست سل و ماکروفاژهای بافتی هستند که به طور سیستماتیک نیازمند نوتروفیل و مونوسیت ها می باشند .مواد غیر سلولی این پاسخ اماسی در نهایت باعث تغییراتی در کانون عفونت شده در نتیجه رشد قارچ مهاجم را محدود نموده انها را برای بیگانه خواری اماده تر کرده و سلول های بیگانه خوار را به محل اماس سوق می دهند. واسطه های غیر سلولی که

به طور عمده در این مرحله از پدیده اماسی دخالت دارند پروتئین های سیستم کمپلمان هستند که به محض اغاز صدمه بافتی فعال می شوند. اجزا فعال سیستم کمپلمان (بخصوص C3a,C4a) پاسخ التهابی را در کانون عفونت تقویت کرده وفاگوسیت های عمل کننده را از جریان خون بسیج می کنند .اعمال فاگوسیت ها ی بکار رفته شده به همراه عوامل سیستم هومورال که بطور موضعی یا سیستمیک ایجاد شده اند باعث از بین رفتن قارچ های پاتوژن مهاجم می شوند.

پاسخ نوتروفیلی:

نوتروفیلها موثرترین سلولهایی هستند که در پاسخ اماسی به کار گرفته می شوند .اعمال اولیه انها شناسائی بلع و تخریب قارچهائی است که به دفاع موضعی راه یافته و بافت زنده را موردتهاجم قرار داده اند.بسته به قارچ مهاجم میزان اثر دفاعی نوتروفیل ها متفاوت است .اختلافات موجود در الگوهای تجربی به کار رفته در مطالعات زیادی که در این مورد انجام گرفته باعث اشکال در ارائه یک نظر مستند و جامع مبنی بر قدرت کشتن قارچ های پاتوژن توسط نوتروفیلها گردیده است. افزایش استعداد ابتلا به عفونت به دنبال نقص در هر یک از مراحل عملکرد نوتروفیل ها رخ می دهد که منجر به اختلال در بلع و کشته شدن پاره ای از قارچهای مهاجم میشوند.مراحل عملکرد ضد قارچی نوتروفیلها عبارتند از :اتصال (چسبندگی)به اندوتلیوم عروق در محل اماس (Margination)وحرکت از دیواره عروقی به طرف کانون تهاجم قارچ (کیموتاکسی)وبلع و کشتن داخل سلولی عناصر قارچی

.نحوه انجام هر یک از اعمال نوتروفیل ها در بدن را می توان در ازمایشگاه اندازه گیری نمود.گر چه نوتروفیل ها کمک مستقیمی در دفاع از مناطق سطحی ندارند ولی نشان داده شده که حاوی مواد کشنده کاندیدا با وزن ملکولی ۳۰۰۰۰دالتون هستند که منحصرا پس از مرگ نوتروفیلها ازاد می شود .تصور بر این است که این مواد پخش شده از نفوذ کاندیدا البیکنس در درم جلوگیری به عمل می اورد.ارتشاح نوتروفیلها در میکرو ابسه های اپیدرم یکی از اشکال پاتولوژیک مهم و مشخص کاندیدیازیس جلدی است .گر چه مکانیسمی که طی ان نوتروفیل ها به طرف اپیدرم جذب می شود کاملا روشن نیست ولی ایجاد شدن موضعی عوامل کیموتاکتیک حاصل از فعال شدن کمپلمان قطعا در این مورد از اهمیت بالائی برخوردار می باشد.ممکن است که کاندیدا در حین تهاجم به بافت میزبان و پس از تماس با مواد سرمی ایجاد عوامل کیموتاکتیک را نماید.علاوه بر ان گسترش ارتشاح نوتروفیلها درزیر درم مبتلایان به کاندیدیازیس سودوممبران ممکن است نقش مهمی را در جلوگیری از ورود کاندیدا البیکنس به جریان خون ایفا نماید.

از انجایی که تهاجم بافتی پاره ای ازقارچ ها (بخصوص قارچ های گندرو)تنها به شکل میسلیال صورت می پذیرد نوتروفیل ها قادرند با این شکل قارچی نیز مبارزه نمایند.به طور مثال نوتروفیلها به وسیله مکانیسمی که بدون وابسته به کمپلمان است به سطح هایفای کاذب کاندیدا و دیگر قارچ های سیستمیک گندرو چسبیده وبه سلولهای هایفا بدون بلع کامل انها اسیب می رساند.کریپتوکوکوس نئوفورمنس ارگانیسمی با انتشار وسیع محیطی می

باشدکه مصونیت طبیعی درمقابل عفونتهای ناشی از ان بالاست.دلیل این مقاومت طبیعی ناشناخته بوده ولی به نظر می رسد که نوتروفیل ها در کشتن کریپتوکوک ها موثر باشند.به هر حال نقش اساسی نوتروفیلها در محافظت علیه کریپتوکوکوس نئوفورمنس نیز هنوز به طور کامل مشخص نشده است.
انکوبه کردن کریپتوکوک کپسول دار در سرم انسان سالم منجر به تشکیل و اتصال C3b در داخل وسطح کپسول می گردد.علی رغم حضور این لیگاندهای بالقوه فاگوسیتوز مخمرها محدود است.نوتروفیل های فعال شده در حضور سرم انسان سالم فاگوسیتوز تشدید یافته ای را علیه کریپتوکوکوس نئوفورمنس نشان نمی دهندولی به محض انکه مخمرها فاگوسیته شدند به سرعت به وسیله نوتروفیل ها کشته می شوند.
نشان داده شده که نوتروفیل های انسانی می توانند مخمرهای هیستوپلاسماکپسولاتوم را نیز بکشند در حالی که نوتروفیلها برای بلع و کشتن ارتروکونیدیاهای کوکسیدیوئیدس ایمیتیس موثر نیستند. اگر چه مطالعات تجربی نشان داده که پوشش خارجی اسفرول می تواند به طور خارج سلولی هضم شود ولی هیچ شاهدی در دست نیست که نشان دهد اندوسپور ها در اثر لیز اسفرول به وسیله نوتروفیل ها ازاد شده یا توسط انها کشته می شوند .نوتروفیلهای فعال به طور قابل توجهی قادرند مخمرهای بلاستومایسس درماتیتیدیس را با مکانیسم اکسیداتیو بکشند .قدرت یا توانایی ضد کاندیدایی نوتروفیل ها توسط نوع الفای عامل تخریب کننده تومور انسانی(Alfa type Tumore Necrosis) تقویت می گردد. به

نظر می رسد که این عوامل قارچی یا پس ازاپسونیزاسیون و فاگوسیت شدن از طریق انفجاراکسیداتیو از بین رفته و یا انکه به طریق کشتن خارج سلولی و پس از دکرانولاسیون نوتروفیلی حذف می گردند.

ایمنی هومورال :

به طور اساسی عمل کرد سیستم ایمنی هومورال اختصاصی بدین ترتیب است که سطح قارچ مهاجم با پروتئین هائی پوشیده شود که از روی رسپتورهایشان توسط سلول های فاگوسیت کننده قابل شناسایی گردند.پوشیده شدن قارچ ها توسط انتی بادی ها را اپسونیزلسیون نامند .اصطلاح اپسونین به پروتئین هائی گفته می شود که وقتی به انتی ژن متصل گردندباعث افزایش اتصال سلول های بیگانه خوار نسبت به ان انتی ژن شوند .مهمترین سیستمهای اپسونین کننده متشکل از کمپلمان و انتی بادی های هومورال بوده ولی دیگر پروتئین های پلاسما مانند فیبرونکتین و C-Reactive protein و البومین و فیبرینوژن و ترانسفرین

نیز ممکن است به سلول های قارچی متصل شده و مانند یک اپسونین عمل کنند.تصور می شود که اپسونین ها به عنوان یک رابط بین عناصر سلولی و سیستم اماسی عمل نمایند.کاندیدیازیس یکی از بیماریهایی است که در ان انتی بادی اختصاصی در غلبه بر عفونت سیستمیک نقش مهمی را دارامی باشد بخصوص اگر این انتی بادی ها اختصاصا بر علیه انتی ژنهای غالب (immunodominant)ایجاد شده باشند.برای مثالIgM اختصاصی نسبت به انتی ژن ٤٧کیلو دالتونی کاندیدا البیکنس در اثر تحریک مزمن انتی ژنی در

بیماران مبتلا به ایدز ایجادشده و ممکن است نقش مهمی را در جلوگیری از انتشار قارچ از مخاط ایفا نماید.امکان دارد یک انتی بادی دارای بیش از یک عمل جهت مکانیسم های ایمونولوژیک باشد.

ایمنی اختصاصی:

سیستم ایمنی اختصاصی از ماکروفاژهاولنفوسیت ها وپلاسماسل ها و محصولات انهاازقبیل لنفوکاین ها و انتی بادی ها تشکیل شده است. بر عکس سیستم دفاع اماسی (التهابی)سیستم ایمنی به نقاط انتی ژنیکی از قارچ ها یمهاجم پاسخ می دهد که میزبان قبلا نسبت به انها حساس شده باشد.پاسخ ایمنی اختصاصی معمولا با تولید انتی بادی هائی اغاز می شود که اختصاصا علیه انتی ژن های قارچ مهاجم واکنش نشان می دهند.ملکول انتی بادی حاوی یک منطقه ثابت (fc) است که به سلول افکتور متصل شده و یک ناحیه متغیر

دارد که به انتی ژن متصل می گردد.انتی بادی ها با افزایش میل اتصال قارچ ها به نوتروفیلها و ماکروفاژها ثابت سیستمهای رتیکولو اندو تلیال باعث می شوند که سیستم های اختصاصی و غیر اختصاصی ایمنی به طور هم زمان بر علیه قارچ مهاجم عمل نمایند.برای دفاع اغلب عوامل بیگانه (شامل انتی ژن های قارچی)قدم اولیه تولید انتی بادی اختصاصی است که با عرضه انتی ژن نا اشنا (خارجی)به وسیله ماکروفاژهابه لنفوسیت های Tکمک کننده عمدتا اغاز می شود. فعال شدنT های کمک کننده باعث ازاد سازی واسطه های محلولی (لنفوکاین ها)میگردد که انها هم لنفوسیتهای B را به پلاسما سل های تولید کننده انتب بادی تبدیل می کنند.سیستم فوق العاده پیچیده تولید انتی

بادی به کرات توسط سیستم های کنترل کننده بررسی شده و تعدیل می گردد.شواهد اخیر نشان می دهند که تولید انتی بادی سرانجام از طریق فعال شدن سلول های Tساپرسور که باعث فعالیت سلول های Th به وسیله مکانیسم فیدبک می شوند کاهش می یابد.گسترش ایمنی هومورال می تواند به وسیله راههای مختلفی چون نارسائی عرضه انتی ژن به سلولهایT فعال شدن مستقیم سلول های T سا پرسور و یا ماکروفاژهای محار کننده بلوکه و یا ساپرس گردد.ایمنی با واسطه سلولی شامل اعمال زیادی است که مستقیما به وسیله سلول های ایمنی و یا محصولات انها و بدون نیاز به تولید انتی بادی انجام می گیرند.

این اعمال عبارتند از:

۱)فعال کردن ماکروفاژها به منظور تولید بیگانه خوارهای موثرتر.

۲)فعال ساختن لنفوسیت های کشنده که جهت سلولهای هدف پوشیده شده از انتی بادی کشنده یا سیتوتوکسیک می باشند.

۳)تکثیر و فعال کردن سلولهایNK(Natural Killer) که می توانند سلولهای خارجی (غریبه)رادرغیاب انتی بادی نابود سازند.

نقش سلول های سیتوتوکسیک در ایمنی علیه عفونتهای قارچی:

دسته های سلولی شناخته شده ای می باشند که به عنوان مکانیسمهای موثر ایمنی عمل نموده و شامل لنفوسیتهائی سیتوتوکسیک هستند که یا بطور اختصاصی سلول های دارای انتی ژن خاصی را از بین می برند (لنفوسیت

هایTc)یا انکه بشکل غیر اختصاصی هر نوع سلولی را که انتی ژن سطحی غیرطبیعی را عرضه نمایند از میان بر می دارند.

تمام انواع این سلول ها که سیتوتوکسیسیتی خود را از طریق مکانیسم های غیر فاگوسیتیک اعمال می کنند اخیرا به عنوان سلول های عمل کننده در مقاومت طبیعی علیه قارچ ها می شناسیم .سیتوتوکسیسیتی طبیعی و وابسته به اتتی بادی که علیه کریپتوکوکوس نئوفورمنس و هیستوپلاسماکپسولاتوم وجود دارد نشان دهنده نقش انتی بادی در محافظت علیه بعضی از عفونتهای قارچی می باشد .برای مثال هر دو ایمنی با واسطه سلولی و هومورال در محافظت در مقابل عفونت کاندیدائی دخالت دارند.سلول های مونونوکلئر خون محیطی بلاستوسپورهای کاندیدا البیکنس را از طریق غیر فاگوسیتک می کشند و سیتوتوکسیسیتی انها بوسیله انتی بادی پلی والان تشدید می شود.

ایمنی کامل Integrated immunity:

اگر چه هر یک از اجزا سیستم های دفاعی به طور جداگانه شرح داده شد ولی انها عموما تواما فعال شده و به طور سینرژیک عمل می کنند تا عفونت را کنترل کرده و یا از ان جلوگیری نمایند .به هر حال مکانیسم واقعی کنترل ایمنی با واسطه سلولی دقیقا معلوم نگشته ولی به نظر می رسد که هم ماکروفاژ ها و هم لنفوسیت ها تشکیل جمعیت های سلولی را می دهند که مهار یا عمل مهار کنندگی داشته و یا کمک کننده هستند.امروزه معلوم گشته که هر گاه ماکروفاژهای مهار کننده به همراه سلول هایT ساپرسور فعال شوند اثر انها غالب بوده و شدت سیستم ایمنی کاهش خواهد یافت. بر عکس

افزایش فعالیت ماکروفاژهاو لنفویست های T کمک کننده باعث افزایش پاسخ ایمنی خواهد شد. در شرایط طبیعی این دسته سلول های مونونوکلئر هموستاز ایمونولوژیک رااز طریق تولید مواد محلول تنظیم کننده (سیتوکاین ها)تامین می کنند که اختلال در انها تنظیم یا بالانس طبیعی رابر هم زده ومی تواندر ایجادبیماری های خود ایمن از یک طرف و یا کاهش مقاومت در برابرعفونت ها از طرف دیگر موثر باشد.اهمیت ایمنی اکتسابی در از بین بردن بیماری های قارچی با مشاهده این واقعیت به اثبات می رسد که در مقایسه با افرادی که سیستم ایمنی سالمی دارند مبتلایان به نقایص سیستم ایمنی طبیعی و بخصوص اکتسابی(مانند انانکه با داروهای ایمونوساپرس درمان می شوند)استعداد بیشتری جهت ابتلا به بیماری های قارچی سیستمیک را دارامی باشند. مطالعات تجربی انجام یافته بر روی حیوانات نیز به روشنی نشان دهنده اهمیت پاسخ ایمنی سلولی در مقابل عفونت های قارچی هستند.

اختلالات ایمونولوژیک:

عفونت های قارچی از مشکلات مهم در افرادی هستندکه اختلالات ایمونولوژیکی ارثی دارند.افرادیکه دارای اختلال مادر زادی در تکثیر و یاعملکرد سلول هایT هستند اغلب مبتلا به عفونت های جلدی مخاطی کاندیدا البیکنس می شوند..شایع ترین نقص ایمنی در بیماران به صورت فعالیت غیر طبیعی سلول هایT ویا غیر طبیعی بودن عوامل مترشح انها است که جهت فعالیت ماکروفاژها لازم می باشند.در پاره ای از موارد این نقایص تنها به

انتی ژن های کاندیداالبیکنس محدود می گرددولی در بعضی از افراد این نقایص به قدری شدید می باشند که باعث عدم پاسخ مناسب وابسته به سلول در مقابل اکثر انتی ژنها گشته و تست های جلدی نیز در اکثر انها منفی می باشند. نوزادان مبتلا به نقص در سلول هایB وTاغلب در چند ماه اول زندگی خود بیمار می شوند.کاندیدیازیس

مخاطی جلدی اغلب اولین نشانه اختلال ایمونولوژیک در انهاست .افراد مبتلا به اختلالات ارثی در اعمال نوتروفیلی مانند بچه های مبتلا به گرانولوماتوز مزمن اغلب مستعد ابتلا به اسپرژیلوزیس هستند.در بیماران دیابتی پاسخ ایمنی هومورال طبیعی است ولی اعمال ایمنی وابسته به نوتروفیل ها و سلول هایT در موارد کتوسیتوز دچار اختلال می گردند.اسیدوز دیابتی کنترل نشده به اعمال غیر طبیعی ماکروفاژ ها نیز منجر شده که ان هم مهمترین عامل مستعد کننده برای ابتلا به موکورومایکوزیس رینوسربرال به شمار می رود.سوءتغذیه باعث اختلال در مکانیسم ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی میزبان می گردد.این عارضه باعث نازکی سد های اپیتلیالی مخاط و پوست گشته تعدادسلول های Tکاهش یافته ولی تعدادسلول هایBیا طبیعی بوده یا افزایش می یابندکه درنتیجه باعث طبیعی بودن یا افزایش سطح ایمونوگلبولین ها می شود.همچنین پاسخ های سلولی نسبت به انتی ژن ها کاهش یافته و یا وجود ندارند .اجزا کمپلمان در کسانی که دچار سو تغذیه هستند کاهش یافته که ان نیز در کاهش اعمال فاگوسیتیک موثر است.با اینکه سوء تغذیه بر

کیموتاکسی نوتروفیل ها و یا عمل فاگوسیتیک انها اثر ندارد ولی گاهی در عمل میکروب کشی ان ها اختلال ایجاد می کند .

در مورد ارتباط بین متابولیسم اهن وعفونت های قارچی مطالعات زیادی انجام گرفته و به نظر می رسد که افزایش میزان اهن می تواند در پاره ای از موارد باعث استعدادابتلا میزبان به عفونت گردد.بروز عفونت در بعضی موارد با افزایش بیش از حد اهن همراه بوده به طوری که حتی مصرف یک شلاتور اهن مانند دسفروکسامین می تواند در موارد هموکروماتوز از بروز پاره ای از عفونت های قارچی چون موکورمایکوزیسرینوسربرال به خصوص در بیماران با نارسایی پیشرفته جلوگیری نماید.در افراد مبتلا به فقر اهن نیز احتمال بروز بعضی ازعفونت ها بالاست.ذخیره اهن سرم در موارد کاندیدیازیس جلدی مخاطی ارثی پائین است. عملکرد سلول های MNوPMNدر نوزادان تازه متولد شده از حد طبیعی کمتر می باشد که این خود یک عامل مستعد کننده برای عفونتهای قارچی است .نوزادان کم وزن نیازمند مراقبتهای ویژه هستند که هم چون کاتاتریزاسیون عروقی اینتوباسیون و مصرف دارو های انتی باکتریال می توانند توام بانقایص اناتومیک واختلالات ایمونولوژیک احتمال عفونت های قارچی را بیشتر کنند.

رو به زوال رفتن و ضعیف شدن سدهای تشریحی جلدی مخاطی اختلال در مکانیسم پاکسازی مکانیکی همراه با کاهش پدیده ترمیم طبیعی از عوامل مهم در بروز بالای عفونت های قارچی در کهنسالی به شمار می رود .تعداد لنفوسیت ها و فاگوسیت کننده ها طبیعی بوده ولی نقص اعمال انها گاهی

مشاهده می شود. مصرف کورتیکواستروئید ها باعث کاهش شدید در تعدادسلول های تک هسته ای خون محیطی و اختلال در اعمال کیموتاکتیک و میکروب کشی فاگوسیت ها گشته و همین مسئله یکی از عوامل مهم در ایجاد اسپرژیلوزیس و موکورمایکوزیس در این مواراست .عمل بیگانه خواری و میکروب کشی نوتروفیل ها نیزمختل می گردد که ان نیز استعداد ابتلا به عفونت هائی چون اسپرژیلوزیس و کاندیدیازیس و موکورمایکوزیس را افزایش می دهد.مصرف کورتیکوستروئیدها همچنین باعث کاهش موقت ولی شدید تعداد سلول هایT و در مقیاس کمتر سلول های B خون محیطی می شود.

الکلیسم و اعتیاد به مواد مخدر:

در الکلی ها تغذیه ناکافی سیروزوتکراراسپیراسیون مواد داخل معده از جمله عوامل مستعد کننده مهم برای ایجاد عفونت هستند.همچنین الکلیسم همراه با اختلال در تعداد سلول هایT و اعمال انها و نیز نقص در فعال شدن سیستم کمپلمان و در نتیجه کاهش مهاجرت نوتروفیلی بوده ولی اعمال بیگانه خواری ومیکروب کشی نوتروفیل طبیعی می باشند.

در معتادان به مواد مخدر تزریقی مهمترین عارضه بوده و اسپرژیلوزیس چشمی و سربرال از موارد شدیدو جدی هستند که جان انها را تهدید می کند.در مصرف کنندگان هروئین موارد کاندیدیازیس منتشره موکورمایکوزیس رینو سربرال و سایر عفونت های چشمی و مغزی مانند

هیالوهایفومایکوزیس وسودوالشریازیس وترایکوسپورونوزیس و اسپوروتریکوزیس مننژیال گزارش شده اند.

سوختگی:

علاوه بر شکسته شدن سد مکانیکی و تشریحی پوست کاهش میزان ایمونوگلوبولین ها و غیر طبیعی بودن عمل نوتروفیل ها از سایر عوامل مستعد کننده برای عفونت های قارچی بوده و از طرف دیگر افراد دچار سوختگی نیازمند تغذیه از راه تزریقی و داروهای ضد میکروبی هستند که خود از عوامل مساعد کننده بیماری به شمار می روند .

حاملگی:

در بعضی از بیماری های قارچی مانند کوکسیدیوئیدومایکوزیس حاملگی یکی از عوامل مستعد کننده برای انتشار بیماری به شمار رفته و نظریاتی نیز برای توجیه این مسئله وجود دارد.

۱)اثر سوء حاملگی بر روی ایمنی :اگر چه معلوم شده که حاملگی موجب تضعیف ازدیاد حساسیت تاخیری و رد پیوند پوست کاهش تحریک و تکثیر لنفوسیت ها مهار شدن پاسخ تکثیری لنفوسیت ها نسبت به انتی ژن های بیگانه در محیط کشت وکاهش تولید عامل مهار کننده مهاجرت ماکروفاژها می گردد ولی اثرات ایمونوساپرسیو به شدتی نمی باشند که بتوان افزایش شدت کوکسیدیوئیدومایکوزیس را ناشی از ان دانست.

۲)تغییرات هورمونی که در طی حاملگی رخ می دهد تسریع کننده رشد کوکسیدیوئیدس ایمیتیس می باشد.افزایش فعالیت سیتوپلاسمی وابسته به

پروژسترون واستروژن و اندروژن ها در کلیه ٥واریته کوکسیدیوئیدس ایمیتیس مشاهده شده است در حالی که هیچ گونه افزایش فعالیت وابسته به هورمونی در سیتوزول بلاستومایسس درماتیتیدیس/کریپتوکوکوس نئوفورمنس/ کاندیدا تروپیکالیس/ کاندیداسودوتروپیکالیس وپاراکوکسیدیوئیدس برازیلینسیس دیده نشده است .

نشان داده شده که رشد کوکسیدیوئیدس ایمیتیس به شدت در حضور تستوسترون و پروژسترون تحریک می شود .به نظر می رسد که وجود هورمون فعال برای تحریک رشد لازم بوده و این رشد تا حد رسیدن به یک اسفرول کامل و ازاد شدن اندو سپورهائی که بیمار حامله را در مقابل عفمنت حساس می نمایند ادامه می یابد.

همچنین از دیگر عوامل می توان به سارکوئیدوز وبیماری هوچکین سنین بالا یا پائین و نقص در فاگویستوز یا نوتروپنی وبیماری قند وانتی بیوتیک و کورتون درمانی طولانی وکاربرد کاتتر ها و جراحی اشاره کرد.

سابقه یک مسافرت ممکن است در تخمین اتیولوژی یک بیماری قارچی در بعضی بیماران با عفونتهای دستگاه تنفسی یا جلدی و یا منتشره موثر باشد.

مشخص نمودن وضعیت بیمار:

تغییرات در نتایج تستهای سرولوژیک تا حدی تعیین کننده میزان تکثیر قارچ در بدن میزبان می باشد. هر چه مدت تکثیر طولانی تر شودانتظار افزایش سطوح انتی بادی و یاانتی ژن را خوهیم داشت. پاسخ به درمان اختصاصی

نیز همراه با تغییراتی در تیتر خواهد بود .تست های سرولوژیک می تواند در ارزیابی واکنشهای بین میزبان و انگل نقش با ارزش و موثری داشته باشد

بخش دوم:تستهای سرولوژیک پایه در تشخیص بیماری های قارچی

مقدمه :تشخیص مسلم بیماری های قارچی احشائی نیاز به تعیین هویت ارگانیسم در محیط های کشت و نیز شناسائی ان در برشهای اسیب شناسی تهیه شده از نمونه های بیوپسی وگاهی هر دوی انها دارد.

متاسفانه تشخیص از روی کشت نیازمند زمان بوده و اغلب در بیمارانی که قادر به دفع خلط نیستند غیر ممکن است .تشخیص پاتولوژی نیز به تنهائی کافی و صحیح نمی باشد.روش های مهاجم برای تهیه نمونه مناسب ضروری بوده ولی گاهی انها نیز خطرناک و گرانبها هستند. بنابراین با توجه به محدودیت های روش های کشت و پاتولوژی جای تعجب نیست که در ابداع و گسترش روش های تشخیصی کم خطر و مقرون به صرفه تلاش گردد.

از انجایی که قارچها دارای ساختمان و تشکیلات سیتوپلاسمی پیچیده ای هستند اغلب محصولات و عصاره سلولی انها ایمونولوژیک بوده و ایجاد انتی بادی در افراد مبتلا را می کنند که استفاده از تستهای سرولوژی را امکان پذیر می نمایند .بسیاری از تستهای سرولوژیک برای جستجوی انتی بادی ها مطرح شده اند .

با انکه تست های سرولوژی ارزش فوق العاده در تشخیص و پیگیری روند بیماری و در مان دارند ولی دارای محدودیت هائی نیز هستند که بر حسب نوع بیماری متفاوت می باشند .علت این اختلافات از طرفی در تعدادزیاد انتی

ژنهایی است که سلول های قاچی تولید می کنندو از طرف دیگر واکنش های متقاطعی می باشد که عامل بیماری با سایر عوامل بیماری زا و غیر بیماری زا دارا است .علاوه بر ان ممکن است تشکیل انتی بادی در بیماران مبتلا به نقص یا اختلال سیستم ایمنی با تاخیر انجام گرفته و یا کاهش یافته و یا اصلا صورت نگیرد .بنابراین روشهای تشخیص سرولوژیک بستگی کاملی به ایجاد واکنش های قابل اندازه گیری داشته و بجز مواردی که انتی بادی قابل اندازه گیری تشکیل می شود روشهای سرولوژی کمک ناچیزی به تشخیص بیماری می کنند .در مراحل اولیه یا ناکهانی بیماری مقادیر انتی ژن های محلول به جای انتی بادی ها در سرم و سایر مایعات بدن افزایش می یابند.بنا براین انتی ژنهای محلول می توانند شاهد بسیار ارزنده ای برای عفونت های قارچی فرصت طلب باشند که شواهد پاتولوژیک و یا کشت تائید کننده ای ندارند.از ازمایشات سرم شناسی برای تعیین انتی بادی اختصاصی ضد قارچی و حتی انتی ژن ها استفاده می گردد.

روش های سرولوژی که به کار می روند به ترتیب افزایش حساسیت عبارتند از ازمایشهای رسوبی (پرسی پیتاسیون)مانند ایمونودیفیوژن ثبوت مکمل و سر انجام روشهای بسیار حساس مثل انزیم ایمونواسی و رادیواسی .

متاسفانه از واژه حساسیت(sensitivity) در دو جهت مختلف در روش های سرولوژی استفاده می شود.

صرف نظر از درصد بیماران با تست سرولوژی مثبت حساسیت به کمترین میزان انتی ژن یا انتی بادی قابل اندازه گیری توسط ان روش نیز اطلاق می

شود .تعداد بی شماری ازمایشهای سرولوژی برای تعیین انتی بادی وانتی ژنها ی قارچی وجود دارند ولی انتخاب روش و یا روشها متاثر از عوامل متعددی می باشند .

۱)امکانات لازم برای روش مربوطه(ELISA,RIA)

۲)اشنائی کافی با نحوه انجام روش مورد نظر(IF)

۳)نیاز ازمایشگاه

٤)مقرون به صرفه بودن ان از نظر اقتصادی

٥)ثابت نگه داشتن روش و مواد مورد استفاده در هر ازمایشگاه به منظور متبحر گشتن کارکنان و احتراز از تغییرات مکرر که باعث اتلاف وقت در تجربه اندوزی انان خواهد بود.

روشهای ایمونولوژیک و سرولوژیک متداول در بیماری های قارچی :

۱)تست پوستی Skin Test

با توجه به شباهت کلینیکی بین سل و بیماری های قارچی مختلف از سال ۱۹۳۰ به بعد محققین هنگام انجام تست پوستی برای توبرکولوزیس از مواد حاصل از کشت قارچهای مختلفی از قبیل بلاستومایسس کوکسیدیوئیدس ایمیتیس وهیستوپلاسماکپسولاتوم نیز برای تست پوستی استفاده کردند.گر چه تست پوستی مثبت با انتی ژن های قارچی همان معنی جواب مثبت در تست توبرکولین را دارا بوده و نشان دهنده عفونت قبلی با یک قارچ پاتوژن خاص می باشد ولی وجود واکنش متقاطع بین انتی ژن قارچی از ویژگی ان بخصوص در تشخیص هیستوپلاسموزیس و بلاستومایکوزیس در مناطق

اندمیک جهان کاسته است.بر عکس واکنش توبرکولین واکنش مثبت تست پوستی قارچی پایداری طولانی مدتی نداشته و به عبارت بهتر ابتلا به یک عفونت قارچی ممکن است مصونیتی در مقابل تماس مجدد با ان ایجاد نکند .هم چنین اغلب عفونتها و بیماریهای قارچی مهم بلافاصله بعد از تماس اولیه با قارچ و قبل از تحریک شدن سیستم ایمنی سلولی شروع شده و بنابراین یک تست پوستی منفی ارزش اخباری خیلی کمی بخصوص در تشخیص مراحل اولیه بیماری دارا است .

۲)ایمونودیفیوژن , دابل دیفیوژن

Double Diffusion (Immunodiffusion)

دابل دیفیوژن(DD)یا ایمونودیفیوژن از نظر تکنیکی ساده ترین تستهای سرولوژیک است .اگر چه نسبتا غیر حساس و وقت گیر است ولی کاملا اقتصادی بوده و به اسانی نتایج ان خوانده می شود.زمانیکه انتی ژنها و انتی بادیهای اختصاصی انها بهم برسند در جائی که از غلظت یکسان برخوردار باشند نقاط رسوبی تشکیل می شود.خطوط واحد رسوبی یا باند های رسوبی برای هر ترکیب (انتی ژن- انتی بادی)تشکیل می شودژل بعنوان یک الک ملکولی عمل می کند بهمین دلیل انتی بادی های IgMبسیار کند تر از انتی بادی های IgGمهاجرت کرده و در تستهای ۲٤ ساعته نمیتوانIgM را مشخص نمود .

خطوط رسوبی گاهی خیلی کمرنگ هستند ولی می توان با رنگهای پروتئینی انها را تقویت کرد.

۳)کانترایمونوالکتروفورزیس

(Counterimmunoelecterophoresis OR CIE)

شرایطی ایجاد می شود که انتی ژنهابه طرف اند مهاجرت می کنند زیرا نقطه ایزوالکتروفورتیک انها کمتراز PHبافر است و انتی بادی هابه طرف کاتد اندوسموزیس(endo-osmosis)مهاجرت می کنند. تستهایCIE هم نکات مثبت و هم نکات منفی درمقایسه با تستDDدارند. در اینجا انتی ژن و انتی بادی به طرف همدیگر حرکت میکنند در حالیکه در تستهایDD

حرکت انتی ژن وانتی بادی به صورت شعاعی انجام می گیرد .در نتیجه این روش بسیار حساس است و رسوب ها به سرعت شکل می گیرند.با این وجود معایبی هم وجود دارد که بعضی از انهامشکل ایجاد می کنند.از انجائیکه انتی ژن و انتی بادی در محدوده مشخصی حرکت می کنند و درجه های مختلف غلظت دیده نمی شود رسوب در حالی تشکیل می شود که اکی والانس بین انی ژن و انتی بادی در محدوده ای از ژل بین گوده ها ایجاد شود.

۴)اگلوتیناسیون

سلولهای مخمری وسایر ذرات غیر قابل حل که با انتی ژن پوشانده می شوند اگر با پادتنی که بر ضد ساختمان سطحی انها ایجاد شده باشد در تماس گذاشته شوند اگلوتینه خواهند شد.اتصال متقابل مخمرها بهم یا ذرات پوشیده شده توسط انتی ژن که منجر به اگلوتیناسیون انها می شود عمدتا در رابطه با انتی بادیهایIgMاست که ۷۰۰تا۸۰۰برابر به عنوان اگلوتینین موثرتر و

قویتراز انتی بادیهایIgG هستند.غلظتهای بالای پادتن ایجاد ساختمان فضایی مشخصی می نمایند که از شبکه بندی پارتیکولهای خاص می نمایند و منجر به اثر در Pro-Zone می شود.

در عمل پروتوکل برای تمام اگلوتیناسیونها شامل یک غلظت ثابت ذرات انتی ژنی و رقتهای دو برابر از سرم مورد ازمایش می باشد.

امتیازات اساسی تستهای اگلوتیناسیون تنوع و درجه بالای حساسیت انهاست .این تستها خصوصا مناسبترین روش برای اندازه گیری انتی بادی ها برای کاندیدا البیکنس و کریپتوکوکوسنئوفورمنس می باشندگر چه گاهی انها در فاز مخمری اسپوروتریکس شنکئی نیز استفاده می شوند .تستهای اگلوتیناسیون گاهی به عنوان از مد افتاده تلقی می گردندولی این تستها گران نبوده و ساده و موثر هستند و زمانی که نیاز به کنترل سیر عفونت کاندیدایی از طریق تیتراژپادتن(seromonitoring)داریم باید انرا مد نظرداشت.مانند اکثر تستهای سرولوژیک می توان بر طبق خواسته های اساسی فرم ازمایش را تغییر داد . اگلوتیناسیون می تواند شامل سلولهای قارچی دست نخورده(intact fungal cells)که معمولا سلولهای مخمری (بلاستوسپورها)است (اگلوتیناسیون مستقیم)یاذرات خنثی که با انتی ژن پوشانده شده اند باشند (اگلوتیناسیون غیر مستقیم).انتی ژنهای محلول تراکم قابل مشاهده ای را در سرم حاوی انتی بادی ها نشان نمی دهند ولی می توان وادار به این کار نمود اگر انها روی پارتیکولهای مناسب از نظر شکل و اندازه جذب کنند.ذرات حامل خنثی معمولا ذرات لاتکس یا گلبولهای قرمز

خاصی هستند.ذرات خنثی پوشانده شده با انتی بادی ها نیز میتواند برای نشان دادن انتی ژن در سرم یا سایر مایعات بدن به کار اید.(اگلوتیناسیون پاسیومعکوس)

خواندن و تفسیر نتایج:

توده سلولهای مخمری بزرگ بوده و به راحتی قابل مشاهده است اگر چه ممکن است اگلوتیناسیون در گوده های حاوی های رقتهای بالای سرم مشاهده شود(Pro-zoning)گاهی در اثر تراکم سلولهای قارچی نشانه هایی از حالت گرانوله شدن در گوده ها دیده می شود .ولی به راحتی از اگلوتیناسیون حقیقی قابل تفکیک بوده و باید حذف شود.تیتر سرم کنترل باید برای هر تست ثابت بماند.اگلوتینینهای کاندیداالبیکنس غالبا در افرادی که سابقه عفونت موضعی یا عمومی با ان را ندارند نیز دیده می شود.متدی که در بالا شرح داده شد نسبتا غیر حساس است بدین معنی که سرم بسیاری از افراد سالم تیتر۱:۱٦یا کمتر را نشان می دهند.گاهی بیماران با کاندیدوزیس مهاجم نیزهمین حدود تیتر رانشان می دهند .ندرتا بعضی افراد بدون عفونت اشکار ممکن است تیتر۱:۳۲یاحتی۱:٦٤داشته باشند ولی تیترهای مساوی یا بزرگتر از ۱:۱٦باید بعنوان غیر طبیعی تلقی شود.اگر چه تیترهای بالای اگلوتینین مشخص کننده کاندیدوزیس مهاجم نیستند ولی از نظر پزشک بعنوان علامت خطر محسوب می شوند.تیترهای بالاتر از ۱:۱٦به این مفهوم هستند که بیمار در مواجهه با کاندیدا بوده و با تولید انتی بادی ها پاسخ می دهند.بنابر این تیترهایی در حدود ۱:۱۲۸-۱:۱٦را می توان در بیمارانی با

زخمهای دهانی یا واژینال یا در کلنیزاسیون شدید در دستگاه گوارش یا قسمتهای تحتانی دستگاه ادراری یاکاندیدوزیس مخاطی جلدی و یا در مورد کاتترهای الوده به کاندیدا مشاهده نمود.استفاده توام از روشهای اگلوتیناسیون وپرسی پیتاسیون می تواند به تشخیص کمک کند زیرا ممکن است بعضی از سرم ها در یکی منفی و در دیگری مثبت باشند.در صورتی که بیش از یک باند در روش پرسی پیتاسیون مشاهده شود ارزش بیشتری در تشخیص عفونت دارد در حالی که اگر یک باندموجودباشد معمولا این باند علیه پلی ساکارید دیواره سلولی ایجاد می شود که از نظر بیوشیمی حاوی مانان بوده و این ماده به مقدار ناچیز در عصاره های سوماتیک تهیه شده ای که معمولا استفاده می گردند وجود دارد. در این صورت باند ایجاد شده بر خلاف باندهای پروتئینی و گلیکوپروتئینی که بسیار مشخص هستند پهن بوده و ظاهری نا مشخص دارد.تیترهای افزاینده ارزش تشخیصی داشته و نشان دهنده عفونت اند.

سل اگلوتیناسیون(Whol cell Agglutination(WCA برای تعیین انتی بادی علیه پاره ای از مخمرها چون کاندیداالبیکنس بکارمیرود و معمولا انتی بادی کلاس IgM را مشخص می کند .

****اگلوتیناسیون پاسیو(Passive Agglutination)**

جستجوی پادتن :اگلوتیناسیون ذرات خنثی که با انتی ژن یا انتی بادی پوشانده شده باشندمی توانندر جستجوی انتی بادی ها یا انتی ژنمی(Antigenaemia)با ارزش باشند .

Stickle و همکارانش یک روش اگلوتیناسیون بر روی اسلاید را پیشنهاد کرده اندکه در ان ذرات لاتکس پوشیده از انتی ژن برای جستجوی انتی بادیهای کاندیداالبیکنس بکار گرفته می شود ولی خیلی متداول نشده است.تستهای هماگلوتیناسیون پاسیو شامل اریتروسیت گوسفند که با پلی ساکارید کاندیدا پوشانده شده باشند در مشخص نمودن انتی بادی های IgMموثر و بصورت تجارتی در دسترس می باشد.

جستجوی انتی ژن(Dection of Antigen):

ذرات لاتکس پوشانده شده توسط ایمونوگلبولین حیوانات ازمایشی هیپرایمونیزه باگونه های مختلف کاندیدا یا کریپتوکوکوس نئوفورمنس در مقابل انتی ژن ازاد اگلوتینه می شوند.ارزش چنین تستهایی بستگی زیاد به کیفیت انتی سرم اولیه و ایمونوگلوبولینی که به ذرات لاتکس چسبانده شده دارد.تهیه انتی سرم خرگوش جدا کردن ایمونوگلوبولین و حساس کردن ذرات لاتکس وقت گیر بوده و برای اکثر ازمایشگاهها خرید کیتهای از قبل اماده عملی تر است.بسیاری از کیتهای اگلوتیناسیون از طریق ذرات لاتکس برای جستجوی انتی ژن کاندیدا وانتی ژن پلی ساکاریدی کریپتوکوکوس بصورت تجارتی در دسترس هستند شامل:

الف)برای شناسایی انتی ژنهای کاندیدا

ب)برای شناسایی انتی ژن پلی ساکاریدی کریپتوکوکوس نئو فورمنس

۵)ایمونوفلوئورسانس(Immuno fluorescence)

تست ایمونوفلورسنت غیر مستقیم IFA

(Indirect Fluoresent antibody test)

ایمونوگلوبولین های انسانی(IgM,IgG)تزریق شده به حیوانات (مثل خرگوش-گوسفند-بز)باعث تولیدپاسخ انتی بادی اختصاصی خوهد شد.انتی بادی هایی که این چنین تشکیل می شوند با فلوئورسئین ایزوتیوسیانات(FITC)کونژوکه شوند.وقتی سلولهای قارچی کشت داده شده در ازمایشگاه با سرم یک بیمار مبتلا تماس داده می شوند ممکن است انتی بادیها محکم به انتی ژنهایی که روی سطح سلولی هستند بچسبند.این انتی بادیهای متصل به سلول قارچی می توانند با انتی بادیهای هترولوگ کونژوکه شده FITC واکنش نشان داده و مشخص و نمایان شوند .با چنین تستی می توان اندازه گیری و جستجویIgM,IgG

را در سرم انسان انجام داد.

مزیت عمده IFA سرعت و حساسیت ان است .هیچ عملی بر روی میکروارگانیسمها بجز فیکس کردن انها انجام نمی گیرد .بعلاوه با این متد می توان واکنش احتمالی بین یک میکروارگانیسم جدا شده از خون و یا نمونه بیوپسی را با این پادتن های کونژوکه شده نشان داد.یک کیت تجارتی در دسترس هست ولی اماده سازی اسلاید ها برای تستIFAنسبتا ساده است.وقتی اسلاید ها اماده شدند تنها معرف موردنیاز سرم ضدایمونوگلوبولین انسانی شده باFITC می باشد و این ماده بصورت

تجارتی بفروش می رسد.برای بسیاری تستهای روتین کونژوگه های انتیIgGمناسب است . زیرا انتی بادی هایی که در IFA
رسوب می دهندغالبا IgGهستند. با وجود این کونژوکه های انتی ایمونوگلوبولینی که با IgM,IgA,IgG واکنش می دهند در دسترس بوده و مناسب هستند.

۶)کمپلمان فیکساسیون(Complement Fixation)

CF تست از اولین تستهایی است که در تشخیص سرمی قارچها اورده شده و هنوز استفاده ی وسیع دارد خصوصا برای هیستوپلاسموزکوکسیدیوئیدومایکوز.این روشها در بعضی ازمایشگاهها برای مشخص کردن انتی بادیهای اختصاصی نسبت به اسپرژیلوس فومیگاتوس و کاندیدا البیکنس و نوکارد یا استروئیدس و نیز برای پلی ساکارید کپسولی کریپتوکوکوس نئوفورمنس استفاده شده اند ولی به طورکلیCFتست بیشتر در تشخیص هیستوپلاسموز کوکسید یوئیدو مایکوز استفاده میشود.

اساس ازمایش:

کمپلمان خاصیت اتصال به کمپلکس انتی ژن و انتی بادی را داشته و پس از تشکیل این کمپلکس بر روی ان ثابت می شود.همچنین کمپلمان قادر می باشد که گلبولهای سرخ حساس شده گوسفند را لیز نماید.به عبارت دیگر اگر گلبولهای سرخ گوسفندی را با انتی سرم ضد ان در غلظت کمی که اگلوتینه نشوند بپوشانیم قادر خواهیم بود تا از انها جهت اثبات وجود ویا عدم وجود

کمپلمان در محیط استفاده کنیم .اساس ازمایش ثبوت مکمل نیز از تلفیق دو اصل فوق بدست می اید.برای انجام ازمایش به لوله حاوی انتی ژن سرم بیمار و سرم تازه حیوانی مانند خوکچه هندی را به عنوان منبع کمپلمان افزوده و ان را انکوبه می نمائیم.مشروط بر وجود انتی بادی مربوطه در سرم بیمار ایجاد کمپلکس ایمن شده و کمپلمان بر روی ان ثابت می گردد.در مرحله ی بعدی یاخته های سرخ حساس شده به محیط افزوده می شوند.واضح است که در این صورت به علت فقدان کمپلمان در محیط یاخته های سرخ تخریب نشده و درته لوله بشکل دگمه
(button of cell)رسوب می کنند.در صورت مشاهده همولیز نتیجه ازمایش منفی بوده و حکایت از فقدان انتی بادی در سرم بیمار است.

۷)سایر تست ها برای جستجوی انتی بادیها:

یک طیف وسیعی از سایر روش های سرولوژیک برای مشخص کردن و اندازه گیری میزان انتی بادی ها در بیماران مبتلا به عفونت های قارچی استفاده شده است اگرچه در نظر نیست که همه ی این روشها را بررسی کنیم ولی خلاصه انها در پایین می اید.

۷-۱)هماگلوتیناسیون(haemagglutination):

تست های هماگلوتیناسیون(HA) عمدتا برای جستجوی انتی بادی بر علیه اسپرژیلوس و کاندیدا استفاده می شود.این تست حساس است راحت خوانده می شود و چند جانبه می باشد.نوع دیگر ان ممانعت ازهماگلوتیناسیون است

که در ان انتی ژنمی در سرم تست از طریق تماس دادن این سرم با سرم رفرانس و کاهش تیترانتی بادی در سرم رفرانس نشان داده می شود.

۲-۷)رادیوایمونواسی (radio immuno assay):

تستهایRIA برای جستجوی انتی بادی ها یا انتی ژن ها گردش خون در بیماران مبتلا به عفونتهای قارچی نسبت به الیزا کمتراستفاده می شوند.در مجموع الیزا ترجیح دارد چون ارزانتر و به رادیوایزوتوپ بستگی ندارد.

۸)ایمونوبلوتینگ(Immunoblotting):

بعنوان یک روش تشخیص سرمی ایمونوبلوتینگ خصوصیات با ارزش مختلفی دارد.اولا حساس است برای جستجوی تیترهای پائین پادتن با الیزا وRIAقابل مقایسه است.ثانیا انتی بادیهای اختصاصی نسبت به انتی ژن خاصی را مشخص می کند .ثالثا قابل استفاده برای جستجوی انواع مختلف ایمونوگلبولین ها می باشد .با این تست ممکن است بتوان بین انتی ژنهایی که در پاتوژنز نقش دارند تفکیک نمود.گزارشاتی مبنی بر شناسایی اتنی ژنهای اختصاصی که در تشخیص سرمی کاندیدا البیکنس اهمیت دارند وجود داردولی هنوز مورد تائید همگانی قرار نگرفته اند.در ایمونوبلوتینگ نیز مانند دیگر تست های سرمی عکس العمل های غیر اختصاصی مشاهده می شود .بطور مثال وجود شاخص های انتی ژنیک مشابه بین بعضی از پروتئینهای سرمی و پروتئینهای کاندیدا البیکنس مشاهده شده است ولی این تست از نظر جستجوی انتی ژنها و انتی بادی های اختصاصی با ارزش است.

۹)الایزا Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISI):

روش حساس و متنوعی است که برای جستجوی ایمونوگلبولینهای مختلف کمپلکسهای ایمن و انتی ژنمی به کار می رود .از معایب ان حساسیت شدید نسبت به تغییراتی می باشد که در روند ازمایش و معرفها ممکن است به وجود اید.

جدول تستهای سرولوژیک معمول برای عفونتهای قارچی سیستمیک یا زیر جلدی:

بیماری(عوامل)	تست	تفاسیر
اسپرژیلوزیس (اسپرژیلوس فومیکاتوس)	DD/CIE	برای بیماری الرژیک و اسپرژیلوما مفید می باشد. واکنشهای مثبت در افراد سالم نادر است .
	CF	ارزش نامعین دارد.
	ELISA	حساس برای جستجوی انتی بادیها با انتی ژن می تواند بکار رود.
	IFA	سریع اما اختصاصی بودنش نا مشخص است.
بلاستومایکوزیس	DD	

بلاستومایسس درماتیتیدس	CF	افزایش تیتر با تیترهای بالا کمک کننده است اما واکنشهای متقاطع با دیگر بیماریهای قارچی سیستمیک ایجاد می نمایند.
کاندیدوزیس کاندیدا البیکنس ودیگرگونه های کاندیدا	DD/CIE	افزلیش یا کاهش تیترها کمک کننده است اما نتایج مثبت از کلنیزاسیون یا کاندیدمی جلوگیری نمی کند.
		انتی ژنهای سیتوپلاسمیک اختصاصی تر از مانان می باشند.
	WCA	سریع وحساس وتمایز قابل اطمینانی بین مثبتهای حقیقی و کاذب نیست.
	HA	حساس /افزایش تیتر با تیترهای بالا ممکن است معنی دار باشد.
	ELISA,RIA	حساس اما از نظر تکنیکی مشکل می باشد .برای جستجوی انتی ژن می تواند بکار رود.
	LPA	برای جستجوی انتی ژن نتایج مثبت کاذب ومنفی کاذب بویژه برای جستجوی مانان وجود دارد.

کوکسیدیومایکو زیس	DD	بسیار کمک کننده است .نتیجه مثبت به عفونت فعال بستگی دارد.
	TP	پرسیپیتین ها در طول ٦ ماه کاهش می یابند.
	CF	سطوح بالای انتی بادیها معنی داراست. افزایش تیترهایCF به انتشار بیماری بستگی دارد. انتی بادیهایCFبعدا ظاهر می شوند وطولانی تر ازپرسیپیتین ها پایدار می مانند.
	LPA	حساستر از DDیاTPمی باشد اما کمتر اختصاصی می باشد.
کریپتوکوکوزیس کریپتوکوکوس	IFA/WCA	در بیش از ۳۰٪موارد مثبت است .ارزش تشخیصی محدودی دارد.
نئوفورمنس	LPA	برای جستجوی انتی ژن نتایج مثبت واقعا سودمند برای نئوفورمنس می باشد.
	CIE/ELISA	برای جستجوی انتی ژن یا انتی بادی کاربرد زیلدی ندارد.
هیستوپلاسموز	DD/CIE	خطوط رسوبیM,H در حدود

یس		۸۵٪موارد دیده می شود .
هیستوپلاسماکپ سولاتوم	CF	تیترهای مثبت نسبت به انتی ژن عصاره کشت فاز مخمری در حدود ۹۵٪موارد دیده می شود.افزایش یا کاهش تیترها ارزش پیش گویی دارد.
	LPA	نسبت به تستهای روسوبی کمتر اختصاصی است .
اسپوروتریکوزیس شنکئی	DD/CIE	کمک بیشتری برای پیگیری در مقایسه یا تشخیص می کند.
	ELISA	واکنش متقاطع با انتی ژنهای قارچی دیگر ایجاد می کند.
	WCA	
	LPA	سودمند
مایستوما	LPA	اگر ازمایش مستقیم یا بیوپسی قابل اجرا نباشد در افتراق مایستوما واکتینومایستهاباارزش است.

فصل سوم

1)کاندیدیازیس :

سیستم ایمنی و کاندیدیازیس:

کاندیداالبیکنس قارچ مخمری است که جزء فلور طبیعی بدن می باشد واز قارچ های فرصت طلب است این قارچ معمولا بیماری زا نیست ولیکن نزد افرادی که مکانیسم های دفاعی بدنشان دستخوش اشکالاتی شده باشد بیماری زا می گردد.

توانایی تضعیف سیستم ایمنی:

اگرچه ضعف سیستم ایمنی میزبان که در اثر موارد کاندیدیازیس مشاهده می شود عمدتا اولیه بوده و خود البیکنس در بروز ان نقشی ندارد ولی با توجه به اینکه این مخمر قادر است مانع از اثر میتوژن ها بر روی لنفوسیت های طحال موش گردد محققان معتقد به وجود نقش ساپرین کننده سیستم ایمنی برای ان هستند.مطالعات نشان داده است که تولید Abعلیه البیکنس در تمام موارد عفونت مشاهده شده و حتی در بعضی موارد قادر هستیم Agهای کلاس IgA وIgG را به صورت استروئید بادی در اطراف ان مشاهده کنیم

اثر مهاری ارگانیسم عمدتا روی سیستم ایمنی وابسته به سلول اعمال می گردد و به عبارت بهتر اگر برای کاندیدا نقش مهاری قائل باشیم اثر ان عمدتا روی لنفوسیت های Th1 خواهد بود.

پاسخ های ایمنی هومورال:

فاکتورهای انتی ژنیک موجود در ساختمان این قارچ باعث تحریک سیستم ایمنی هومورال گشته و تولید انتی بادی می کند.جدول زیر انتی بادی های مونوکلونال که علیه کاندیداالبیکنس تولید می شود را نشان می دهد.

انتی بادی مونوکلونال	نوع ایمونوگلوبوبین	Aسرو تایپ	B سرو تایپ
AC3	IgM	-	-
DC5	IgG	-	-
BC4	IgM	-	-
CB6	IgM	-	-

همچنین توانسته اند انتی بادی مونوکلونال علیه انتی ژن ٤٨ کیلو دالتونی کاندیدا البیکنس را تهیه کنند و این انتی ژن پروتئینی که در سیتوپلاسم ارگانیسم وجود دارد در سرم بیماران مبتلا به کاندیدیازیس سیستمیک دیده می شود.یک انتی بادی علیه انتی ژن ٩٦ کیلو دالتونی نیز درعفونت سیستمیک

کاندیدیازیس تولید می شود.در افراد مبتلا به ایدز زیر گروههای انتی بادی IgAیعنی IgA2 و IgA1 ضد انتی ژن های کاندیداالبیکنس تولید می شود.
به طور کلی ایمونوگلوبولین های نوع IgM,IgG,IgE,IgA در ترشحات تولیدمختلف علیه کاندیدا به وجود می ایند.

نقش مونوسیت ها و ماکروفاژها در کاندیدیازیس:

قدرت ماکروفاژها در شناسایی و تخریب فرم مخمری وهایف کاندیدا البیکنس یکی از عوامل مهم دفاع بدن بر ضد قارچ است.پلی مورفونوکلئرهای خون و ماکروفاژهای بافت ها دربلع و کشتن گونه های کاندیدا نقش مهمی را در دفاع بدن ایفاء می کنند.سلولهای بیگانه خوار نقش بارزی در جلوگیری از تهاجم کاندیدا به قسمت های عمقی بدن را بر عهده دارند اما نقش انها در دفاع نواحی سطحی بدن از اهمیت کمتری برخوردار است.مطالعات در بافت های بیماران مبتلا به کاندیدیازیس سیستمیک مخلوطی از کاندیدای تخریب شده را با ماکروفاژ نشان می دهد گرچه چنین یافته هایی با قدرت کشندکی ماکروفاژ مطابق است اما ممکن است کشته شدن کاندیدا در نتیجه سایر فاکتورهای میزبان نیز باشد.مکانیسم های انهدام کاندیدا بوسیله مونوسیت های انسان عموما" در بیماران با کمبود ارثی میلوپراکسیداز ویا بیماری گرانولوماتوزمزمن مطالعه شده است مونوسیت هایی که نقص میلوپراکسیداز دارند.قدرتشان نسبت به انهدام کاندیدا البیکنس به مقدار قابل ملاحظه ای کاهش می یابد. مونوسیت هایی که نمی توانند O2 وH2O2 تولید کنند قادر به کشتن کاندیداها نیستند.به طور خلاصه اطلاعات موجود نشان می دهد:

۱)مونوسیت های طبیعی انسان می تواند حداقل به اندازه پلی مورفونوکلئرها کاندیدا البیکنس را بکشند.
۲)مکانیسم کشتن کاندیدا وابسته به محصولات اکسیداتیو است.
۳)مونو نوکلئرهای انسان بالقوه دارای ترکیبات ضد کاندیدا می باشند.

نقش ماکروفاژهای ریوی و صفاقی در کاندیدیازیس:
ماکروفاژهای ریوی انسان به وسیله فرایند اکسیداتیو کاندیدا البیکنس را بلع و هضم می نمایند.اوانس گزارش کرد که عوامل کاندیدایی که در حالت بلاستوسپور وهایف از طریق ورید تزریق شده اند توسط مونوسیت های ریه ها بیش از سایر ارگان ها منهدم می شوند.
لکوسیت های پلی مورفونوکلئر:
این سلول ها نقش اساسی در دفاع بر علیه عفونت سیستمیک دارند.در واقع:
۱)بیماران نوتروپی در برابر گسترش کاندیدیازیس بسیار حساس هستند.

۲)حذف ارگانیسم در بافت ها به حضورPMN بستگی دارد.
۳)در بیماران با نقص های لکوسیتی مثل حالت ارثی یا فقدان میلوپراکسید و یا بیماران گرانولوماتوزمزمن عفونت های قارچی به وسیله گونه های کاندیدا و سایر ارگانیسم ها به وجود می اید.

ائوزینوفیل ها:

قدرتشان شبیه نوتروفیل ها است و همچنین قدرت بیگانه خواری انها به ایمونوگلوبوبین ها و اجزاء کمپلمان بستگی دارد که احتمالا از طریق پدیده ADCCکاندیدا را می کشند.

نقش Tسل ها:

تحقیقات نشان می دهد کهCD4,TCELL نقش مهمی در عفونتهای کاندیدایی در پوست یا ناحیه معدی-روده ای دارند. کانتورناوبالیش دریافتند موش هایی که به طوا مادرزادی هم در فعالیت سلولهای T هم در فاگوسیتوز نقص داشتند به پیشرفت کاندیدیازیس مخاطی و ایجاد حالت سیستمیک حساس بودند.در بیماران مبتلا به ایدز که پاسخ های ایمنی سلولی تضعیف و سلول های CD4- TCELL کاهش می یابند اغلب این بیماران به کاندیدیازیس مبتلا می شوند و این امر نشان می دهد که دفاع اصلی بدن در برابر کاندیدیازیس جلدی مخاطی توسط سلولهایT صورت می گیرد.

تغییرات انتی ژنیک در کاندیدا البیکنس:

محققین در مطالعات خود با استفاده از انتی بادی ضد کاندیدا البیکنس نشان داده اند که انتی بادی بر ضد کاندیدا البیکنس که از افراد سالم یا بیمار جدا شده است و همچنین کاندیدا البیکنس تازه جدا شده واکنش های متفاوتی نشان می دهد همچنین نشان داده شده است که انتی ژن های سطحی گاندیدا

البیکنس با نوع استرین محیط کشت و سن سلول های کاندیدا البیکنس تغییر می کند.جدا سازی گونه های کاندیدا درکشت مناطق استریل بدن ارزش معنی داری بویژه در بیماران مبتلا به اختلال سیستم ایمنی دارد.

تست سرولوژی در تشخیص ازمایشگاهی کاندیدیازیس سیستمیک:
اساس بیشتر روش های ایمونولوژیکی بر مبنای واکنش های بین انتی بادی با انتی ژن های محلول و سلولی می باشد. روش های مختلفی برای تشخیص انتی ژن و انتی بادی قارچی مورد استفاده قرار می گیرد.تولید انتی بادی در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی ممکن است کاهش یابد و یا اصلا" تولید نشود و چون در مراحل اولیه عفونت انتی ژن ها ی محلول در سرم یا سایر مایعات بدن بیمار ممکن است بیشتر از انتی بادی ها باشد بنابراین با استفاده از تست های تشخیص انتی ژن های محلول در جریان خون بیماران می توان برای تشخیص بیماری در عفونت های فرصت طلب استفاده کرد.
تست های اصلی شامل:کانترایمونوالکتروفورز-اگلوتیناسیون-الیزا-ایمونوفلورسانس-کمپمان فیکساسیون-رادیوایمنواسی و ایمونوبلاتتنگ می باشد.
روشCIE جز روش های رسوبی در ایمونولوژی است.در این روش از خاصیت انتشار انتی ژن و انتی بادی در محیط جامد استفاده می شود.وقتی جریان الکتریسیته برقرارشود انتی ژن به علت دارا بودن بار الکتریکی منفی به طرف قطب مثبت و انتی بادی به طرف قطب منفی به حرکت درامده در اثر

تلاقی با یکدیگر خطوط رسوبی می دهند. سرولوژی کلاسیک شامل روش هایی برای تعیین Ab در سرم به وسیله تست اگلوتیناسیون است و لیکن نظر به اینکه کاندیداSpp طبیعت کامنسال دارد انتی بادی بر علیه کاندیدا که توسط اگلوتیناسیون اشکار می شود عموما انتی مانان بادی بوده که می توانند در افراد سالم یا در انهایی که عفونت های سطحی دارند ایجاد شود.بنابراین این تست در تشخیص کاندیدیازیس سیستمیک ارزش لازم ندارد.

تعیینAb بر علیه جرم تیوپ کاندیدا البیکنس با روش ایمونوفلورسنت غیر مستقیم یکی از روش های بسیار سودمند در تشخیص سرولوژی کاندیدیازیس سیستمیک است.خصوصا اینکه این انتی بادی در بیماران ایمونوساپرین کاهش یافته و قابل اندازه گیری می باشد.

۲)کریپتوکوکوزیس:

دفاع سلولی:

برای کلیرانس کریپتوکوکوس از بافت و پیدایش مصونیت و ایمنی نیاز به سیستم ایمنی سلولی است.مشخص شده که در ابتدا نوتروفیل ها اکثر کریپتوکوکوس ها را پاکسازی می نمایند و در انفلیتراسیون کبدی منوسیت ها(ماکروفاژها)غالب شده و در پاکسازی کریپتوکوکوس شرکت می نمایند.در مطالعات انجام شده در invitro مشاهده شده که نوتروفیل ها و منوسیت های انسانی قادرند کریپتوکوکوس را بلعیده و ان را بواسطه مکانیسم های کشندگی اکسیداتیو بکشند.

ماکروفاژهای حاصل از منوسیت ها و سلول های میکروگلیال مغزی و سلول های T قادرند در invitro رشد کریپتوکوکوس را مهار کرده و ان را از بین ببرند.شواهد غیر مستقیم بیانگر ان است که اکسید نیتریک(NO) حاصل از ماکروفاژهای الوئولی در حذف کریپتوکوکوس نقش داشته باشد.در افراد مبتلا به HIV مکانیسم های وابسته به اکسیژن و غیروابسته به اکسیژن نقص داشته و gp120 وپوشش HIV از بین رفتن کریپتوکوکوس را توسط منوسیت های نرمال مهار می کند.پاکسازی کریپتوکوکوس پس از عفونت نیاز به حرکت و فعال شدن ماکروفاژها و سایر سلول های افکتور دارد.عمل پاکسازی بدون گسترش سلول های لنفوسیتT که منجر به پاسخ Th1 می شود امکان پذیر نیست.سیتوکاین های ازاد شده توسط سلول های فاگوسیت و لنفوسیت ها موجب افزایش پاسخ ضد کریپتوکوکوسی سلول های افکتور مختلف می شود فاکتور نکروز دهنده توموری الفا(TNFα) اینترلوکین۲ (IL2) و اینترلوکین۱۸

(IL18) و فاکتور تحریک کننده کلنی گرانولوسیتی منوسیتی(GMCSF) واینترفرون گاما(INFγ) پروتئین یک مهار کننده ماکروفاژی (MIP-1) و پروتئین یک کموتاکتیک ماکروفاژی(CMP-1)در بروز و گسترش پاسخ ایمنی ضد کریپتوکوکی از نوع Th-1 و حرکت سلول های التهابی نقش دارند.

در عفونت های ناشی از کریپتوکوکوس نئوفورمنس که دارای ویرولانس بیشتری هستند میزبان در القاء و تشکیل بعضی از این سیتوکاین های کلیدی ناتوان می باشد.پلی ساکارید کپسول کریپتوکوکوسی می تواند تولیدIL10 و

پاسخTh-2را که ایمنی وابسته به سلول را تضعیف نموده تحریک کند این وضعیت پیچیده بین کریپتوکوکوس و انتی ژن های ان و سلول های دفاعی میزبان مشخص کننده محافظت ایمنی(پاکسازی کریپتوکوکوس)و یا ساپرشن سیستم ایمنی و گسترش عفونت می شود.

دفاع هومورال:

دفاع سلولی میزبان در مقاومت طبیعی و ذاتی بالای میزبان نسبت به کریپتوکوکوس نقش عمده و اصلی را دارد.ایمنی هومورال در جلوگیری و پیشرفت کریپتوکوکوزیس نیز موثر است انتی بادی ضد کریپتوکوکوس و کمپلمان به طور مستقیم نمی توانند به کریپتوکوکوس صدمه زده ولی انها بعنوان ترکیبات کلیدی در بعضی از مکانیسم های دفاع سلولی میزبان مطرح اند.انتی بادی ضد کپسول نقش بسیار مهمی در پاکسازی انتی ژن های در حال گردش دارد.

بعضی از انتی بادی های ضدGXM محافظت کننده بوده اما برخی دیگر چنین تاثیری را نداشته بلکه پیش اگهی بیماری را بدتر می نمایند.در مطالعات انجام شده که براساس ساختار ویژگی اپی توپ یا ایزوتایپ انتی بادی های منوکلونال تزریقی از طریق درون وریدی یا درون عضلانی ممکن است منجر به محافظت یا افزایش طول عمر موش شود.

انتی بادی ضد GXM قادر است:۱)باعث پاکسازی انتی ژن های در حال گردش کریپتوکوکوس شود.۲)اپسونیزاسیون را افزایش دهد.۳)موجب القاء اثر کشندگی سلول های ایمنی با واسطه انتی بادی شود.٤)فیکساسیون

کمپلمان را افزایش داده.۵)موجب افزایش کارایی کموتراپی ضد قارچی شود.٦)ا لگوی بیان سیتوکاین ها را تغییر دهد.۷)افزایش بروز گرانولوما و ایمنی سلولی را تحت تاثیر قرار می دهد.

تفاوت ساختاری در انتی بادی های ضدGXM تاثیرات متعددی بر روی رسوب اجزاءکمپلمان بر روی کپسول کریپتوکوکوس دارند بطوریکه بعضی از انتی بادی های منوکلونال ضدGXM عملا نسبت و میزان کلی رسوب کمپلمان را بر روی کپسول می دهند.

واکسن کونژوگه ای از توکسوئید تتانی و GXM در موش و انسان ایمنوژن بوده و در موش محافظت کننده است کارایی انتی بادی های محافظت کننده بستگی به یک پاسخ سالم و دست نخورده ایمنی وابسته به سلول (CMI)دارد.سرم طبیعی حاوی انتی بادیهایی است که با کریپتوکوکوس واکنش می دهد.IgGاسرم طبیعی انسان موجب فاگوسیتوز سویه های بدون کپسول کریپتوکوکوس می شود این IgGبه مانوپروتئین متصل شده و موجب اپسونیزاسیون ارگانیسم می گردد.IgGفوق قادر است به سویه های کپسولدار متصل شود ولی قادر به القاءفاگوسیتوز و اگلوتیناسیون نمی باشد .گفته می شود که در این حالت IgGموجب پوشیده شدن سطح قارچ شده در نتیجه گیرنده های مناسب سطح ماکروفاژ قادر به واکنش مناسب با قارچ نمی باشند.منبع انتی بادی واکنش دهنده با GXMدر سرم طبیعی مشخص نیست ممکن است واکنش متقاطع با ارگانیسمهایی همچون پنوموکوک, باسیل DF2وتریکوسپورون بژلی مطرح شود و در اثر عفونت با این ارگانیسم ها

در فرد انتی بادی با واکنش متقاطع بوجود می اید.انتی بادی با اگلوتیناسیون ارگانیسم و ایجاد کلامپ مانع از انتشار عفونت و ارگانیسم می شود.ک.نئوفورمنس کپسولدار در غیاب اپسونین ها (انتی بادی و کمپلمان)براحتی فاگوسیته نمی شود.سویه های فاقد کپسول ک.نئوفورمنس در غیاب اپسونین ها براحتی فاگوسیته می شوند.دلیل این امر این است که در سطح سویه های بدون کپسول گیرنده بتاگلوکان و مانوز وجود داشته که در سویه های کپسولدار این رسپتورها توسط کپسول پوشیده می شود.

نقش کپسول بعنوان فاکتور ویرولانس کریپتوکوکوس نئوفورمنس :

در بافت میزبان ک.نئوفورمنس دارای کپسول بزرگ و واضحی بوده که مهمترین ساختار کپسول زنجیره غیر منشعب مانوز با اتصال ۳-۱ که در بعضی موارد با گروههای زایلوزیل(Xylosyl)و بتا-گلوکورونیل-ß) (Glucuronylجایگزین شده می باشد.بعبارت دیگر مهمترین جزءکپسول پلی ساکاریدی گلوکورونوزایلومانان (GXM)بوده است.

کپسول پلی ساکاریدی در ک.نئوفورمنس جزءعوامل ویرولانس مطرح می شود و سویه های کپسولدار بیماریزا بوده و سویه های بدون کپسول بیماریزایی ندارند.

۱)جلوگیری از فاگوسیتوز:کپسول پلی ساکاریدی ک.نئوفورمنس موجب شارژ منفی بسیار زیادی شده که این شارژ منفی بدلیل سیالوگلیکوکونژوگه ها بوده و از واکنش بسیار نزدیک سلول به سلول که برای فاگوسیتوز و پاکسازی ک.نئوفورمنس لازم است جلوگیری می نماید.

۲)اثر کموتاکتیک بر لکوسیت ها:

کپسول موجب فیکساسیون کمپلمان از مسیر الترناتیو شده و موجب تولیدC5aمی شود C5aکموتاکتیک قوی برای نوتروفیل ها به شمار می رود.از طرف دیگر کپسول پلی ساکاریدی موجب ریزش ال-سلکتین ها از سطح نوتروفیل شده و بدینوسیله از اتصال نوتروفیل ها با سلولهای اندوتلیال عروقی و مهاجرت انها از خون به محل عفونت در بافت جلوگیری می شود.

۳)اثر بر کمپلمان:

سویه های کپسولدار کمپلمان را از مسیر الترناتیو یا جنبی فعال نموده و موجب تولید C3b,ic3b می شود کهC3b,ic3b به سطح کپسول متصل شده و کپسول روی C3b,ic3bرسوب کرده و روی انها را می پوشانداگرC3b,ic3bپوشیده نشوندامکان اتصال به CR3موجود بر روی لکوسیت ها فراهم امده و موجب اپسونیزاسیون می شود.

4)اثر ضد اپسونیزان:

ممکن است انتی بادی اختصاصی ضد GXM به کپسول متصل شده و کپسول بخش FC انتی بادی فوق را پوشانده و مانع از اتصال ان به گیرنده های FC بر روی لکوسیت ها شود.

کپسول پلی ساکاریدی از اتصال IgG سرم نرمال به دیواره سلولی ممانعت نموده و بدین وسیله از اپسونیزاسیون جلوگیری می کند.

۵)تغییر در بیان انتی ژن:

عدم توانایی هضم کریپتوکوکوس نئوفورمنس کپسولدار توسط ماکروفاژها موجب می شود عرضه انتی ژن به سلول های لنفوسیتT دچار اختلال و بدین ترتیب پاسخ ایمنی بدن کاهش یابد.

٦)اثر بر روی ایمنی سلولی (CMI):

کپسول ک.نئوفورمنس موجب مهار پاسخ سلول های لنفوسیت T به کریپتوکوکوس می شود بنظر می رسد پلی ساکارید کپسولی در ک.نئوفورمنس نقش ساپرس نمودن سیستم ایمنی را دارد.در موش ها پس از تزریقGXM(که یک انتی ژن غیر وابسته بهT است)یک تولرانس با دوز پایین (low-dose tolerance) توسط سلولهای لنفوسیت +TCD4

ایجاد می شود.تولرانس دوز بالا غیروابسته به سلول لنفوسیتT است.در افراد حتی پس از مدت های طولانی پس از درمان کریپتوکوکوزیس وضعیت ایمنولوژیک اختصاصی غیر پاسخ دهنده با پلی ساکارید کریپتوکوکوسی چه در invitro و چه در invivo مشاهده می شود.

۷)اثر بر روی سیتوکاین ها:

برخلاف سویه های فاقد کپسول و سویه هایی که کپسول اندک دارند سویه هایی که کپسول زیادی تولید می نمایند منوسیت ها و ماکروفاژها را برای تولید سیتوکاین ها و ماکروفاژها را برای تولید سیتوکاین ها پیش التهابی

مانند فاکتور نکروز دهنده توموری الفا(TNF-α) و اینترلوکین۱ بتا(IL1ß) و اینترلوکین6(IL6) تحریک می نماید.دلیل این امر این است که این سویه ها فاگوسیته نشده اند تا منوسیت ها و ماکروفاژها سیتوکاین های پیش التهابی فوق را تولید نمایند.سویه هایی که کپسول زیادی تولید می نمایند تولید اینترلوکین۱۰(IL10) را از منوسیت ها القا نموده و بدین ترتیب پاسخ ایمنی سلولی از Th1 (که برای مقابله با کریپتوکوکوزیس نیاز است)به سمت Th2 (که پاسخ مناسبی برای پاکسازی کریپتوکوکوس نبوده و منجر به بروز ایمنی هومورال می شود)می رود.در مطالعات انجام شده مشخص شده که برای پاکسازی کریپتوکوکوس نئوفورمنس ایمنی سلولی نقش اساسی داشته که TNf-αدر القاء پاسخ های ایمنی سلولی محافظتی برای ک.نئوفورمنس ضروری است.سایتوکاین های TNf-α و GM.CSF

با افزایش افینیتی بین C3b,ic3bدر سطح ارگانیسم و گیرنده انها یعنی CR3در سطح ماکروفاژها فاگوسیتوز را افزایش دهند.

سایر عملکردهای کپسول ک.نئوفورمنس:

۸)کپسول پلی ساکاریدی موجب تکثیر HIVدر بیماران مبتلا به عفونت HIVمی شود بطوریکه در invitroمشخص شده ک.نئوفورمنس می تواند تولید HIVرا در عفونتهای نهفته در کشت سلولهای منوسیتی انسانی را افزایش دهد این افزایش تولید HIV با افزایش بیان پروتئین ۲٤ HIV(P24)مشخص می شود بدین ترتیب احتمال می رود که عفونت با ک.نئوفورمنس موجب تسریع ابتلا به عفونت باHIVمی شود.

تست لاتکس اگلوتیناسیون برای تشخیص کریپتوکوکوزیس:

از بین تستهای سرولوژیک تنها ردیابی انتی ژن کپسول پلی ساکاریدی از نظر بالینی بعنوان تست تشخیصی مفید می باشد و کیت تجارتی لاتکس اگلوتیناسیون جهت ردیابی کپسول پلی ساکاریدی در سراسر دنیا مورد استفاده قرار می گیرد.این تست انتی ژن پلی ساکاریدی کپسول را در CSFو سرم در بیش از ۹۸٪بیماران مبتلا به مننژیت کریپتوکوکوسی تشخیص می دهد و این تست در نمونه CSFنسبت به سرم از حساسیت بیشتری برخوردار است.این انتی ژن همچنین در لاواژبرونکوالوئولار و اسپیراسیون ترانس توراسیک و ادرار نیز قابل ردیابی است ولی ردیابی انتی ژن پلی ساکاریدی کپسول ک.نئوفورمنس در نمونه های فوق هنوز استاندارد نشده است.

۳)اسپرژیلوزیس

از انجائیکه نتایج لام مستقیم و کشت از خلط در موارد اسپرژیلوما اکثرا منفی است ازمایشات سرم شناسی یگانه راه تشخیص ازمایشگاهی ان محسوب می شود .هر چند معمولا ازمایشات رسوبی را جهت تشخیص اسپرژیلوما پیشنهاد می نمایند ولی احتمال منفی شدن نتایج با وجود علائم بالینی را نباید از نظرها دور داشت.انجام ازمایشات رسوبی جهت قارچهای متفرقه عمده ترین روش تشخیصی پس از منفی شدن نتایج ازمایشات جهت اسپرژیلوسها می باشد.از انجایی که عیار انتی بادی ها بعد از برداشتن کامل ضایعات کاهش می یابد ازمایشات رسوبی را معمولا"جهت تائید صحت اعمال جراحی

نیز در خواست می نمایند.تفسیر نتایج ازمایشات سرم شناسی در اسپرژیلوس مهاجم و منتشره مشکلتر است چرا که سیستم ایمنی اکثر مبتلایان گرفتار نقائص اولیه بوده و احتمال کسب عیارهای ضعیف و حتی منفی چندان دور از انتظار نمی باشد .از انجائیکه مقدار انتی بادیهای تولید شده در این موارد ناچیز است استفاده از روشهای حساستری چونELISA,IRMAبجای روشهای رسوبی و یا تغلیظ ابتدایی سرم پیشنهاد گشته اند.هر چند با استفاده از این روشها حساسیت ازمایشات را می توان از ۲۰٪به ۸۰٪افزایش داد ولی ایا یافتن مقادیر ناچیزانتی بادی بر علیه یکی از گونه های اسپرژیلوس را می توان به راحتی در ارتباط با بیماری دانست ؟به همین منظور محققان روشی را پیشنهاد نموده اند که در عین داشتن حساسیت بسیار بالا از تخصص بیشتری نیز بر خوردار باشد.بر طبق پیشنهاد انها می توان بجای یافتن انتی بادی از تکنیکهای فوق جهت تجسس انی ژن در نمونه های بالینی سود جست .با استفاده از این روش در صورت وجود انتی بادیهای بسیار تخصصی می توان وجود مقادیر بسیار ناچیز انتی ژن را در نمونه ها ثابت نمود. از انجائیکه تخصص یافتن انتی ژن در نمونه های بالینی به مراتب بیشتر از ثبات وجودانتی بادی در سرم است تفسیر نتایج بدست امده با این روش نیز به مراتب راحت تر خواهد بود.هر چند در صورت مزمن بودن سیر بیماری شاید بتوان چند باند رسوبی ضعیف و یا قوی را در ازمایش این مبتلایان مشاهده نمود ولی بعلت مختل بودن سیستم ایمنی در مبتلایان به انواع حاد و در نتیجه کاهش چشمگیر در قابلیت تولید

انتی بادیهای اختصاصی توسط انها احتمال منفی شدن ازمایشات انها بالا است .در عین حال به این نکته نیز باید توجه داشت که چون تمام گونه های اسپرژیلوس می توانند برای این گونه افراد بیماری زا باشند منفی شدن نتایج ازمایشات جهت گونه هایی که همچون فومیگاتوس از بیماری زایی بالاتری برخوردار هستند نمی توان احتمال اسپرژیلوس را به طور کامل منتفی نماید. در این موارد ارجح است ابتدا ازمایشات را با انتی ژنهای اشتراکی گروه و یا مخلوطی از چندین انتی ژن اختصاصی انجام داده و سپس در صورت مثبت بودن ازمایشات اولیه از تعداد انتی ژنها کا ست .اگر چه نتایج روشهای ثبوت مکمل هماهنگی کاملی با روشهای رسوبی داشته و حتی زودتر از انها مثبت می شوند ولی از ویژگی کمتری برخوردار بوده و انجام ان چندان توصیه نمی شود .از انجائیکه پاره ای از مواد مترشحه از اسپرژیلوسها از خصوصیات انزیمی برخوردار هستند با اندازه گیری مقادیر انها در نمونه ها می توان به وجود و شدت عفونت پی برد.

پایان

منابع:

۱)قارچ شناسی پزشکی جامع

تالیف :دکتر فریده زینی . دکتر امیر سید علی مهبد. دکتر مسعود امامی

۲)قارچ شناسی پزشکی و روشهای تشخیص ازمایشگاهی

تالیف :دکتر شهلا شادزی

۳)تکنیکهای عملی در ازمایشگاه تشخیص(PAS)

دکتر امیر سید علی مهبد . ناصر نژادی . شبنم فهامی . سید رضا موسوی

٤)قارچ شناسی پزشکی در روشهای عملی

ترجمه :دکتر علیرضا خسروی

۵)تهیه انتی ژن و انتی بادی کاندیدا البیکنس به منظور تشخیص سرولوژی کاندیدیازیس در مدل حیوانی به روشCIE.

افیونی اکبری- فرزانه /پایان نامه کارشناسی ارشد بهداشت عمومی

٦)ارزیابی تعیین انتی بادی بر علیه تیوب کاندیدا البیکنس به روش ایمونوفلورسنت غیر مستقیم جهت تشخیص کاندیدیازیس سیستمیک در مدل حیوانی .

جعفری ارین -نازنین/پایان نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی

۷)بررسی اسپرژیلوس و انتی بادیهای موجود در سرم افراد مشکوک .

مهبد-امیر سید علی/پایان نامه درجهPh.D

۸)تهیه Ag,Abک.نئوفورمنس جهت تست لاتکس اگلوتیناسیون برای ردیابی انتی ژن کریپتوکوکوس در مدل حیوانی .

صف ارا-مهین /پایان نامه کارشناسی ارشد .

۹)بررسی انتی ژنهای فیلتره محیط کشت کریپتوکوکوس نئوفورمنس در پاتوژنز گلومرولونفریت تجربی در رات .

محرابیان-فرهاد /پایان نامه کارشناسی ارشد

۱۰)تهیه انتی کریپتوکوکال گلوبولین -لاتکس برای جستجوی انتی ژن پلی ساکاریدی ک.نئوفورمنس در تشخیص کریپتوکوکوزیس در مدل حیوانی .

بهشتی-بیتا/پایان نامه کارشناسی ارشد

11)Use of Recombinant Antigens for Diagnosis of Invasive Candidiasis.

Ana Lain,Natalia Elguezabel,Elena Amutio .January.31.2008

12)Dectin-1mediates Macrophage recognition of Candida albicans yeast.

Benjamin N Gantner,Randi M simmons. February.2.2005

13)Rol of Macrophages in Host Defense Against Aspergillosis.

Brahm H .segal . July.20 .2007

14)Intestinal Immuno Response to Human Cryptosporium sp.Infection.

Birte Panteburg ,sara M .Dann, Heuy-ching uang. .October.29.2007