بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده پزشکی

پایان‌نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته قارچ شناسی پزشکی

عنوان

بیان ژنهای ALS 2 و ALS9 از خانواده ژنی ALS کاندیدا آلبیکنس در زنان مبتلا به واژنیت کاندیدیایی با تکنیکRT PCR

نگارش

حسین رحیمی

استاد راهنما

دکتر شهلا رودبارمحمدی

استاد مشاور

دکتر رضا کچوئی

شهریور ۱۳۹۱

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از
پایان‌نامه کارشناسی ارشد

آقای **حسین رحیمی** رشته **قارچ شناسی پزشکی** پایان‌نامه **کارشناسی ارشد** خود را با عنوان **« بیان ژنهای ALS2 و ALS9 در خانواده ژنی ALS کاندیدا آلبیکنس در زنان مبتلا به واژنیت کاندیدیایی با تکنیک RT-PCR»** در تاریخ **۱۳۹۱/۶/۲۶** ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر شهلا رودبار محمدی (استاد راهنما)

دکتررضا کچویی (استاد مشاور)

دکتر فاطمه غفاری فر (استاد ناظر)

دکترزهره شریفی (استاد ناظر)

دکتر محمد حسین یادگاری (نماینده تحصیلات تکمیلی)

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته قارچ شناسی پزشکی است که در سال ۱۳۹۱ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی خانم دکتر شهلا رودبار محمدی ، مشاوره آقای دکتر رضا کچوئی از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب حسین رحیمی دانشجوی رشته قارچ شناسی پزشکی مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

۹۱، ۱۲، ۲۳

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **حسین رحیمی** دانشجوی رشته **قارچ شناسی پزشکی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۹** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

امضا

تاریخ

۹۱/۱۲/۲۳

تقدیم به:

پدر و مادر بزرگوارم ، خواهران و برادران عزیزم که

تجسم فداکاری و ایثارند و همواره در تمامی فراز و

نشیب‌های زندگی راهنما و پشتیبان من بوده‌و دعای

خیرشان روشنایی بخش راهم بوده است.

تشکر و قدردانی

سپاس خداوند یکتا و آفریدگار توانا را که همه خوبی‌ها از اوست و بزرگی سزاوار او. اکنون که به خواست خداوند متعال، مراحل تحقیق و نگارش این پایان نامه به اتمام رسیده، لازم می‌دانم که مراتب تقدیر و سپاس خود را نسبت به تمام سرورانی که مرا در تکمیل و تدوین آن مساعدت نموده‌اند، ابراز نمایم:

استاد گرانقدر خانم دکتر شهلا رودبار محمدی

که صمیمانه و صبورانه مرا در انجام تمامی مراحل پایان‌نامه هدایت نمودند و همواره از راهنمایی‌های ارزشمند و نظرات ارزنده ایشان بهره‌مند بوده‌ام، سپاسگزارم و از ایزد منان برای ایشان سلامتی و شادکامی را خواستارم.

استاد محترم آقای دکتر رضا کچوئی که از مشاوره های ارزنده ایشان بهره برده ام.

اساتید ارجمند گروه قارچ شناسی، جناب آقای دکتر یادگاری و سرکار خانم دکتر شمس که توفیق کسب علم در محضر این عزیزان را داشته ام.

سرکار خانم رازقی کارشناس محترم آزمایشگاه قارچ شناسی که با در اختیار گذاشتن امکانات و وسایل، مرا در انجام تحقیق یاری نمودند.

و

تمام آنان که در مسیر زندگی، از آغاز تا کنون، به من درس علم و اخلاق داده‌اند.

چکیده

تعریف مساله، اهداف و سوالات تحقیق: تقریبا سه چهارم زنان در معرض واژینال کاندیدیازیس می باشند. در این بین کاندیدا آلبیکنس عامل ۸۰٪ درصد موارد گزارش شده این بیماری و از طرفی چهارمین عامل موثر در عفونت های بیمارستانی گزارش شده است. از فاکتور های ویرولانس کاندیدا آلبیکنس می توان از ژن ALS(agglutinin-like sequence) نام برد که در کد کردن دسته بزرگی از گلیکوپروتئین ها که عامل ارتقا چسبندگی قارچ به میزبان می باشند نقش دارند.

ژن های ALS کاندیدا آلبیکنس عبارتند از :ALS1,2,3,4,5,6,7,9

مواد و روش ها: در این مطالعه از زنان مبتلا به کاندیدیازیس واژن نمونه گیری حاصل شد و از تست کشت بر روی محیط های کشت قارچی سابوردکستروز آگار و کروم آگار و انجام PCR وRFLP PCR به منظور تشخیص و تایید کاندیدا آلبیکنس به عنوان عامل عفونت بهره برده شد و سپس با طراحی پرایمر ویژه ژن های ALS2 و ALS9 آزمایش RT-PCR به منظور مشاهده حضور این ژن ها انجام گرفت.

یافته ها: از میان ۵۵ ایزوله بالینی جمع آوری شده حضور ALS2 در ۲۳ بیمار و ALS9 در ۲۱ بیمار بوده است که در ۲۰ مورد مشترکاً مشاهده شده اند.

نتیجه گیری: حضور ۴۱٪ ژن ALS2 و ۳۰٪ ALS9 در نمونه های گرفته شده می تواند بیانگر ایفای نقش این ژن ها در ارتقا چسبندگی و تشکیل بیوفیلم در قارچ کاندیدا آلبیکنس باشد. اما حضور مشترک هر دو ژن در ۸۶٪ موارد مثبت گزارش شده حکایت از نقش مثبت این ژن ها در تکمیل فعالیت دیگری دارد.

کلمات کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، واژینال کاندیدیازیس، ژن ALS

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. عفونت قارچی کاندیدیازیس ۲

۱-۲ . واژینال کاندیدیازیس ۲

۱-۳. کاندیدا آلبیکنس ۴

۱-۴. فاکتورهای ویرولانس کاندیدا ۵

۱-۵ . بیماری زایی ۶

۱-۶ .عوامل مستعد کننده ۶

۱-۶-۱. ژنتیک ۶

۱-۶-۲. بارداری ۶

۱-۶-۳. پیشگیری از بارداری ۷

۱-۶-۴. دیابت ملیتوس ۷

۱-۶-۵. آنتی بیوتیک ۷

۱-۶-۷. فاکتورهای رفتاری ۷

۱-۷. انتقال به فرم واژنیت علامت دار ۸

۱-۸. تشکیل بیوفیلم ۸

۱-۹. خانواده ALS ۸

۱-۱۰. مروری بر مطالعات گذشته ۱۰

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱. جمع آوری ایزوله های بالینی ۱۳

۲-۲. کشت ایزوله ها ۱۳

۲-۲-۱. تهیه محیط کشت سابور دکستروز آگار ۱۳

۲-۲-۲. نگهداری طولانی مدت گونه های کاندیدا ۱۴

۲-۴. تشخیص فنوتیپی ایزوله های کاندیدای جدا شده از واژینال کاندیدیازیس ۱۴

۲-۴-۱. محیط کروم آگار ۱۴

۲-۴-۱-۱. مواد و وسایل مورد نیاز ۱۵

۲-۵. شناسایی مولکولی ایزوله های کاندیدا جدا شده از واژینال کاندیدیازیس با تکنیک PCR RFLP ۱۵

۲-۵-۱. استخراج DNA ۱۵

۲-۵-۲ . واکنش PCR با پرایمر های ITS1 و ITS4 ..... ۱۷

۲-۵-۲-۱. اجزای واکنش PCR ۱۷

۲- ۵- ۲-۲. برنامه واکنش PCR ۱۸

۲-۵-۳. الکتروفورز محصولPCR ۱۹

۲-۵-۳-۱. مواد و و سایل لازم ۱۹

۲-۵-۴. تهیه بافر TBE5X ۲۰

۲- ۶ . واکنش هضم آنزیم ۲۰

۲- ۶- ۱. الکتروفورز محصول هضم آنزیم های MspI و BlnI ۲۱

۲-۶. استخراج RNA ۲۱

۲- ۷. حذف DNA ژنومی از Total RNA استخراج شده: ۲۳
۲-۸. تیمار کردن Total RNA یا مرحله DNase Treatment ۲۳
۲-۹. قرائت غلظت نمونه های RNA استخراج شده ۲۴
۲-۹-۱. مواد و وسایل مورد نیاز ۲۴
۲-۱۰. سنتز cDNA ۲۴
۲-۱۱. واکنش RT-PCR ۲۶
۲-۱۲. الکتروفورز محصول RT PCR ۲۸
۲-۱۲-۱. مواد و و سایل لازم ۲۸
۲-۱۲-۲. تهیه بافر TBE5X ۲۹

فصل سوم: نتایج و یافته ها

۳-۱. شرح حال بیماران ۳۲
۳-۲. جمع آوری نمونه و شناسایی مخمرها در نمونه‌های بالینی ۳۴
۳-۳. انتقال به محیط کروم آگار ۳۴
۳-۴. نتایج حاصل از PCR با استفاده از پرایمر های ITS1 و ITS4 ۳۵
۳-۵. شناسایی ایزوله های کاندیدا آلبیکنس به روشRFLP ۳۶
۳-۶. نتایج مربوط به استخراج RNA و بررسی کیفی آن توسط الکتروفورز ۳۹
۳-۷. نتایج حاصل از بررسی کمی غلظت RNA توسط روش اسپکتوفتومتری ۳۹
۳-۸. نتایج مربوط به بررسی پرایمر درNCBI BLAST و نرم افزار Gene Runner ۴۲
۳-۹. آزمایش RT- PCR ۴۴
۳-۱۰. نسبت بیان ژن ALS2 به ALS9 ۴۴

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱. بحث و نتیجه گیری ۵۱
فهرست منابع ۵۶
چکیده انگلیسی ۵۹

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱. ترکیب بافر لیز کننده ۱۶
جدول ۲- ۲. اجزاء واکنش PCR برای واکنش ۲۵ میکرولیتری با آغازگرهای ITS ۱۷
جدول ۲-۳. توالی آغازگرهای ITS و درجه حرارت اتصال آغازگر به DNA الگو ۱۸
جدول ۲- ۴. برنامه داده شده به دستگاه PCR جهت تکثیر ناحیه ITS ۱۸
جدول ۲- ۵ .ترکیبات واکنش هضم آنزیم های MspI و BlnI ۲۱
جدول ۲- ۶. ترکیب RNA بافر ۲۲
جدول ۲-۷. مقادیر مورد استفاده جهت مرحله اول سنتز cDNA ۲۵
جدول ۲- ۸. مقادیر مورد استفاده جهت سنتز مرحله دوم سنتز cDNA ۲۵
جدول ۲-۱۰. ترکیبات و مقادیر PCR Master mix ۲۶
جدول ۲-۱۱. توالی آغازگرهای ALS و درجه حرارت اتصال آغازگر به RNA الگو ۲۷
جدول ۲-۱۲. اجزاء فرآیند RT-PCR برای واکنش میکرولیتری با پرایمرهای ALS2 وALS9 ..... ۲۷
جدول۲-۱۳. چرخه دمایی دستگاه ترموسایکلر جهت انجام PCR با پرایمرهای ALS2,9´ ۲۸
جدول۳-۱. جدول شرح حال بیماران ۳۰
جدول۳-۲. جدول ثبت اطلاعات بیماران ۳۱
جدول۳-۳. راهنمای تشخیص اولیه گونه های کاندیدا بر روی محیط کروم آگار کاندیدا ۳۴
جدول ۳-۴. اندازه محصول PCR گونه های کاندیدا قبل و بعد از هضم با آنزیم MspI ، (bp) ۳۸
جدول ۳-۵. جذب نوری RNA های استخراج شده ۳۹
جدول ۳-۶. فراوانی وجود ژن های ALS2 وALS9 در نمونه های بالینی ۴۵
جدول۳-۷. درصد بیان ژن های ALS2, ALS9 ..... ۴۷

فهرست عکس ها

عنوان **صفحه**

عکس ۳-۱. کشت نمونه های بالینی بر روی محیط کشت سابور دکستروز آگار ۳۴
عکس۳-۲. کشت نمونه ها بر روی محیط کروم آگار. ۳۵
عکس ۳-۳. محصول PCR معمولی ۳۵
عکس۳-۴. عکس PCR با آنزیم Msp1 ..... ۳۷
عکس۳-۵. عکس PCR با آنزیم BlnI ۳۷
عکس ۳- ۶. الگوی باندی محصولات PCR و هضم آنزیم استرین های استاندارد کاندیدا .....
با آنزیم های MspI ، BlnI ۳۸
عکس ۳-۷. ایزوله های بالینی بعد از تیمار RNA ۳۹
عکس ۳-۸. توالی پرایمر یافت شده فوروارد ژن ALS2 توسط برنامه Gene Runner ۴۲
عکس ۳-۹. توالی پرایمر یافت شده فوروارد ژن ALS9 توسط برنامه Gene Runner ۴۳
عکس۳- ۱۰. بلاست پرایمر ALS2 در سایت NCBI ٤٣
عکس۳-۱۱. بلاست پرایمر ALS9 در سایت NCBI ۴۴
عکس ۳-۱۲. عکس RT-PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی ALS2 . ..... ۴۴
عکس ۳-۱۳ . عکس RT-PCR با استفاده از پرایمر اختصاصی ALS9 . ..... ۴۵
عکس ۳-۱۴. آنالیز باند توسط نرم افزار UVITec ۴۸

فصل اول

مقدمه و

مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱. تعریف کلی کاندیدیازیس

جراحی های پیوندی، سرکوب سیستم ایمنی، وسایل مصنوعی به کار رفته در بدن، اقامت های طولانی در بخش مراقبت های ویژه باعث افزایش احتمال ابتلا به بیماری های قارچی می شوند. اغلب این عفونت ها به وسیله جنس کاندیدا و بیشتر توسط گونه کاندیدا آلبیکنس می باشد که عامل بیماری های سیستمیک و سطحی می باشد. حتی با وجود درمان های ضد قارچی میزان مرگ و میر بیماران مبتلا به کاندیدیازیس تهاجمی بیشتر از ۴۰ ٪ می باشد. کاندیدیازیس بیشتر به وسیله ابزارهای مصنوعی ای مثل کاتاترها، دریچه های مصنوعی قلب، ایمپلنت های دهانی، لنزهای چشمی، مفصل های مصنوعی،پیوندهای انشعابی عروقی دیده می شود.

مشاهده است که عفونت قارچی در ۶۵٪ بیماران بعد از درمان آنتی بیوتیکی بلافاصله بروز مجدد یافته است. این مشاهدات بر اهمیت شکل گیری بیوفیلم در کاندیدیازیس سطحی و سیستمیک و عدم توانایی درمان های ضد قارچی در معالجه چنین بیماری هایی تاکید دارد.[۱]

۱-۲ . کاندیدیازیس واژن[1]

تقریبا سه چهارم زنان در معرض واژینال کاندیدیازیس می باشند. در این بین کاندیدا آلبیکنس عامل ۸۰٪ درصد موارد گزارش شده این بیماری بوده است که عواملی مانند فنوتیپ سوئیچینگ[2] ، توانایی فیلامنته شدن(تولید هیف)[3]، چسبندگی[1] و هیدرولاز های ترشحی [2]باعث توانایی بیماری زایی

[1] -Vaginal candidiasis
[2] -Phenotype switching
[3] -Filamentation

این قارچ می شود. کاندیدا آلبیکنس قارچ فرصت طلبی است که باعث آلودگی های موکوسی دهانی و واژینال و همچنین بیماری های سیستمیک می شود و از طرفی چهارمین عامل موثر در عفونت های بیمارستانی گزارش شده است.[۲ ، ۳]

این بیماری در زنانی که در سنین باروری هستند، زنان مبتلا به دیابت ملیتوس، کسانی که از آنتی بیوتیک وسیع الطیف استفاده می کنند و یا از درمان های که باعث تغییرات هورمونی می شود بهره می برند، اشخاص ایمنو ساپرس و کسانی که از داروی ضد سرطان سینه[۳] استفاده می کنند بیشتر دیده شده است. [۴]

با وجود پیشرفت های درمانی، واژینال کاندیدیازیس در زنان هر قشری از جامعه دیده می شود و همچنان به عنوان یک مشکل جهانی باقی مانده است. دانش مکانیسم هایی علیه کاندیدا در این بیماری به آهستگی شکل می گیرد و با وجود شناخت ریسک فاکتورهای مربوط به ابتلا به این بیماری ولی باز همچنان مکانیسم های دیگر بیماری زا دانشمندان را درگیر کرده است. فقدان تست های سریع، ساده و ارزان باعث شده است که اطلاعات نسبت به تشخیص و چگونگی شیوع بیشتر این بیماری همچنان ناقص باشد. مجموعه اطلاعات ناقصی که ناشی از عدم تشخیص درست و نبود جمعیت های مورد مطالعه مستقل و حقیقی می شود باعث شده است که اطلاعات کاملی درباره این بیماری در دست نباشد. این بیماری در بین ۷۰ تا ۷۵٪ زنان برای یکبار در طول زندگی گزارش شده است که اغلب در زنانی که در سنین باروری هستند دیده شده است. ۴۰ تا ۵۰٪ زنان نیز دفعات ابتلای مجدد را داشته اند. هزینه تشخیص و درمان این بیماری سالانه یک بیلیون دلار می باشد، این در حالی است که واژینال کاندیدیازیس بعد از عفونت های باکتریایی دومین عامل واژینیت بوده و تعداد تجویز های دارویی مربوط به عفونت های مخمر از سال ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۰ نشان دهنده افزایش دو برابری کاندیدیازیس واژن بوده است.[۵]

بر اساس گزارشی از کشور هلند از هر هزار زن مراجعه کننده به متخصص بیماری های زنان ۵۰ مورد به دلیل واژینیت بوده است. در این میان بین ۲۵ تا ۳۵٪ درصد از عوامل عفونتهای واژینال مربوط به

---

[1] -Adherence
[2] -Secretory hydrolase
[3] - *tamoxifen*

عفونت های قارچی بوده و ۲۰٪ ناشی از عوامل باکتریایی و بین ۵ تا ۱۰٪ نیز مربوط به تریکوموناس واژینالیس بوده است.[۶]

۱-۳. کاندیدا آلبیکنس[1]

بین ۸۵ تا ۹۵٪ ایزوله های مخمری که از واژن جدا شده اند مربوط به سویه های کاندیدا آلبیکنس می باشد و ما بقی مربوط به دیگر گونه ها ی کاندیدا می باشد که بیشترین میزان آن مربوط به کاندیدا گلابراتا است، تا جایی که در برخی نقاط جهان میزان نقش آن در ۱۰ تا ۲۰٪ درصد موارد ابتلا بوده است. واژنیت در موارد کمی نیز مربوط به دیگر گونه های کاندیدا شامل کاندیدا پاراپسیلوزیس[2]، کاندیدا تروپیکالیس[3]، و کاندیدا کروزه ای[4] بوده که البته در مراجعه کلینیکی قابل تشخیص نیست و نیاز به کشت دارد. این در حالی است که درمان های تک دز، میزان دز آزولی پایین و استفاده غیرمعمول داروهای ضد قارچی، میزان ابتلا به واژینال کاندیدیازیس را توسط گونه های غیر از کاندیدا آلبیکنس افزایش داده است. تحقیقات انجام شده در بعضی مراکز درمانی آمریکا تایید کننده افزایش میزان شیوع کاندیدیازیس بوسیله دیگر گونه های کاندیدا می باشد.[۷]

۱-۴. فاکتورهای ویرولانس کاندیدا

کلونیزه شدن قارچ نیازمند اتصال مخمر به سلول های اپیتلیال واژن می باشد. در این میان قدرت اتصال کاندیدا آلبیکنس نسبت به دیگر گونه های کاندیدا به طور قابل توجهی بالاتر می باشد. این در حالی است که در میان گونه ها میزان چسبندگی به سلول های اپیتلیال واژن و دهان به یک میزان می باشد. جوانه زنی سلول های کاندیدا باعث افزایش کلونیزه شدن و سهولت تهاجم به بافت را به همراه دارند.[۸ ، ۹]

[1] -C.Albicans
[2] -C.parapsilosis
[3] - C.tropicalis
[4] -C.Krusei

عواملی که باعث افزایش و سهولت جوانه زدن می شوند باعث افزایش علائم ظاهری واژنیت می شوند، به طوری که جلوگیری از جوانه زدن مانع بروز واژنیت در حاملینی بوده است که فاقد علائم بالینی بیماری بوده اند. بیماری زایی بوسیله آنزیم های پروتئولیتیک ، توکسین و فسفولیپازی که بوسیله مخمر ترشح شده است، افزایش می یابد. آسپارتیل پروتئیناز تنها در زنانی مشاهده شده است که علائم بیماری را با خود داشته اند و در زنان فاقد علائم بیماری دیده نشده است.[۹ ، ۱۰]

این آنزیم پروتئولیتیک باعث تخریب پروتئین های اتصالی سلول که مانع از کلونیزه شدن و تهاجم قارچ می شوند، نقش دارد. بعضی ژن ها در تولید پروتئیناز ها نقش دارند که شامل *SAP*[۱]*1,* *SAP2, SAP3* می باشند و بیان آنها نقش مهمی ترشح آسپارتیل پروتئیناز و توانایی ایجاد بیماری را دارد.مایکوتوکسین ها با جلوگیری از فاگوسیت کردن باعث سرکوب سیستم ایمنی می شوند.اتصال کاندیدا به آهن نیز به عنوان عوامل سهولت بیماری زایی در این مخمر شده است.فاکتورهای ویرولانس دیگر شامل مقاومت داروئی، فنوتیپ سوئیچینگ می باشند.[۱۱-۱۴]

پروتئین های دیواره سلولی در چرخه زیستی سلول ها به ویژه بیوسنتز دیواره سلولی، سازماندهی و یک پارچگی، نفوذپذیری دیواره سلولی و حفاظت از غشای پلاسمایی در مقابل مواد سمی و آنزیم های تجزیه کننده نقش دارند. خاصیت آبگریزی و مقابله با آنتی ژن در کنار خاصیت اتصال و رشته ای شدن دو عامل بعدی بوجود آورنده خاصیت پاتوژنیسیته قارچ ها می باشند. از میان پروتئین های دیواره سلولی، پروتئین های سطحی دیواره سلولی در مقایسه با پروتئین های داخلی دیواره سلولی برای داروهای ضد قارچی قابل دسترس تر می باشند. یکی از بهترین گروههای مشخص شده پروتئین های دیواره سلولی خانواده *ALS* می باشند که دسته بزرگی از گلیکوپروتئین ها را کد می کنند که در جریان کلونیزه شدن و اتصال نقش دارند. همچنین گزارش شده است که در تنظیم پروتئین دیواره هایف ها با نام *HWP1*[۲] نقش دارد.این دو ساختار پروتئینی در انتقال آنزیم ها از مسیر های ترشحی کلاسیک

1-secreted aspartyl proteinases
2- Hyphal wall protein

نقش دارند. به عنوان مثال در ترشح آسپارتیل پروتئینازها که در تامین مواد غذایی، کلونیزه شدن، اتصال، نفوذ و تهاجم کاندیدا آلبیکنس نقش دارند.[۱۵]

۱-۵ . بیماری زایی

کاندیدا به عنوان یک فلور میکروبی نرمال بدن بدون کوچکترین علامت بیماری زایی در اغلب زنان با تعداد کم دیده می شود و می تواند به عنوان یک میکروارگانیسم همسفره در بدن زندگی کند و تغییرات در محیط واژینال میزبان باعث تحریک تاثیرات بیماری زایی ارگانیسم می شوند.[۱۶]

۱-۶ .عوامل مستعد کننده واژینال کاندیدیازیس

این بیماری می تواند توسط عوامل متعددی بروز پیدا کند. فاکتورهایی که باعث ایجاد کلونیزه شدن می شوند از فاکتورهایی که باعث تبدیل فرم غیربیماری زا به بیماری زا می شوند متمایزند.

۱-۶-۱. ژنتیک

گزارش هایی که از میزان ابتلا خانواده های مختلف به واژینال کاندیدیازیس ارائه شده است و مطالعات انجام شده دلالت بر این دارند که این بیماری در زنان با نژاد آفریقایی- آمریکایی و افرادی که دارای گروه خونی *ABO* هستند، دارای استعداد بیشتری در ابتلا به واژنیت می باشند. مطالعات *invivo* روی موش ها از امکان نقش ژنتیک موجودات در ابتلا سخن گفته است.[۱۷-۱۹]

۱-۶-۲. بارداری

یکی از فاکتورهای شایع برای کلونیزه شدن و ایجاد فرم بیماری زای واژنیت که بیشتر از دیگر عوامل نقش دارد، حاملگی می باشد. میزان عود مجدد بالا بوده و در مقایسه با زن هایی که باردار نیستند، پاسخ درمانی کاهش می یابد. غلظت بالای هورمون های جنسی به همراه افزایش مقدار گلیکوژن بافت واژن منبعی از کربن را برای ارگانیسم کاندیدا فراهم می کند. استروژن باعث افزایش اتصال مخمر به سلول های اپیتلیال واژن می شود. [۱۶ ، ۲۰-۲۲]

۱-۶-۳. پیشگیری از بارداری

بعضی مطالعات نشان داده اند که استفاده از داروهای پیشگیری از حاملگی که دارای استروژن بالایی هستند، نیز عاملی در افزایش کلونیزه شدن قارچ به حساب می آیند.این در حالیست که برخی مطالعات دیگر نقش این دارو ها و دیگر وسایل پیشگیری از حاملگی را در ابتلا به عفونت های قارچی نفی می کنند. [۲۳-۲۵]

۱-۶-۴. دیابت ملیتوس

در مقایسه با زنان سالم واژنیت در زنان مبتلا به دیابت بیشتر شایع بوده است و کاندیدا گلابراتا بیشترین عامل قارچی ای بوده است که از این افراد جدا شده است.[۲۶ ، ۲۷]

۱-۶-۵ . آنتی بیوتیک

واژنیت اغلب به دنبال استفاده از آنتی بیوتیک های سیستمیک یا واژینال می تواند رخ دهد. تمام عوامل ضد میکروبی به نظر می رسد این اثر را دارند. به دنبال استفاده ازآنتی بیوتیک ها میزان ابتلا به واژنیت از ۲۸٪ به ۳۳٪ افزایش یافته است و و میزان کلونیزه شدن از ۱۰ ٪ به ۳۰٪ افزایش یافته است. عامل این رخداد حذف فلور باکتریایی و به د نبال آن رشد بیش از حد قارچ می باشد.گونه های لاکتوباسیلوس عاملی بر علیه کلونیزه شدن قارچ ها می باشند و از جوانه زدن مخمرها جلوگیری کرده و فلور آنها را در حد کمی قرار می دهند. اما در موارد بیماری دیده شده است که این مقدار لاکتوباسیل ها هستند که در حد کمی قرار دارند.[۱ ، ۲۸ ، ۲۹]

۱-۶-۷. فاکتورهای رفتاری

نقش دیگر رفتارهایی که باعث عفونت می شوند شامل تماس با مواد شیمیایی، آلرژن های موضعی و افزایش حساسیت می باشند.

۱-۷. انتقال به فرم واژنیت علامت دار

مکانیسم اینکه کدام گونه کاندیدا باعث عفونت واژینال می شوند هنوز مورد بررسی قرار دارد. مخمرهای کاندیدایی قادر به تولید پروتئاز ها و فسفولیپازهای خارج سلولی هستند. نبود سلول های فاگوسیت کننده نیز احتمالا به خاطر وجود مواد کموتاکتیک می باشد. بلاستوکونیدی و سودوهایف هر دو قادر به تخریب سلولهای سطحی در فرم مهاجم می باشند.سودوهایف و هایف هر دو در فرم حاد بیماری دیده می شوند. عوامل هایفی باعث کلونیزه شدن و نفوذ به سلول های اپیتلیال می شوند.این بیماری در زنانی که مبتلا به آتوپی و افزایش حساسیت هستند، بیشتر دیده شده است.[۳۰ ، ۳۱]

۱-۸ . تشکیل بیوفیلم

تجمع میکروارگانیسم ها در سطوح مختلف را بیوفیلم می گویند، این ساختارمیکروبی بر روی سطوح سلولهای بدن و ابزار آلات پزشکی، نقش حدت زا در بیماری کاندیدا آلبیکنس داشته و باعث مقابله در برابر درمان آنتی بیوتیکی بوده و نقش موثر در بقای عامل عفونی را دارد.[۳۲]

بیوفیلم می تواند بر روی سطوح طبیعی و مصنوعی تشکیل شود که می تواند شامل سطوح صنعتی یا انسان سالم باشد. تشکیل بیوفیلم در وسایل کاشتنی در پزشکی همراه با عفونت های خونی می باشد که تنها در آمریکا باعث گزارش بیش از ده میلیون مورد آلودگی در سال شده است .[۳۳ ، ۳۴]

انواعی از بیوفیلم نیز دیده شده است که با همکاری ژن های *ALS1*، *3* و*Hwp1* بوده که به آن بیوفیلم هیبریدی می گویند.[۳۵]

۱-۹. خانواده *ALS*[1]

از ژن هایی که در بیماری زایی کاندیدا آلبیکنس نقش دارند می توان به ژن *Hwp1* و خانواده ژنی *Sap*، خانواده *ALS* وفسفولیپازها اشاره کرد [۳۶-۳۹]

1-agglutinin-like sequence