

Study on the Role of *Alternaria alternata* in the Etiology of Allergic Asthma in Patients Admitted to Loghman Hospital by using the Skin Prick Test and Solid-phase Immunoassay

Fardis Teifoori¹, Masoomeh Shams-Ghahfarokhi^{2*}, Ali Eslamifar³, Maryamossadat Moinazad-Tehrani⁴, Parisa Mashayekhi⁵, Mehdi Razzaghi-Abyaneh⁶

- 1- Ph.D. Candidate, Department of Mycology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2- Associated Professor, Department of Mycology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3- Associated Professor, Department of Clinical Research, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
4- Assistant Professor, Department of Internal Medicine (Pulmonology), Loghman Hospital, Tehran, Iran
5- M.Sc., Vaccination Unit, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
6- Associated Professor, Department of Mycology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

*Corresponding Address: P.O.Code: 1411713116, Department of Mycology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: shamsm@modares.ac.ir

Received: 06/Oct/2013, Accepted: 03/Nov/2013

Abstract

Objective: The prevalence of respiratory allergies, especially those induced by fungi such as *Alternaria alternata*, has dramatically increased over the past decade. This increase has caused major health problems worldwide. This study aimed to investigate the role of *A. alternata* in the etiology of allergic asthma, by using the skin prick test and assessment of IgE specific to the fungus in the patient's sera.

Methods: This study enrolled 202 patients with allergic asthma, aged 12 to 83 years. Participants included 40.1% males and 59.9% females who were enrolled after recording demographic information. A skin prick test with the whole cell extract of *A. alternata* was performed on the epidermis of the patients' forearms. Histamine and normal saline were used as positive and negative controls, respectively. Serum levels of IgE specific for *A. alternata* were measured for all patients using the ImmunoCAP Phadiatop method in which the specific *A. alternata* allergen cocktail that connected to the solid phase reacted to IgE antibodies in each patient's sera. Data were analyzed by analysis of variance and chi-square tests.

Results: Among 202 patients with allergic asthma, 14 (6.93%) had mild asthma, 73 (36.10%) were moderate asthmatics and 115 (56.90%) had severe asthma. In total, 14 (6.93%) patients were positive for both the skin test and IgE specific to *A. alternata*, 35 (17.33%) had negative specific IgE and positive skin test results, and 36 (17.82%) had a positive specific IgE and negative skin test. A total of 117 (57.92%) patients were negative for both tests.

Conclusion: The results of this study showed the presence of IgE specific for *A. alternata* in 50 of 202 (24.75%) patients diagnosed with allergic asthma. The skin prick test was successfully used as a screening test. The results were further confirmed by solid-phase immunoassay of the IgE specific for *A. alternata* crude allergenic extract.

Keywords: Allergy, Skin prick test, *Alternaria alternata*, Solid-phase immunoassay, Allergic asthma

Modares Journal of Medical Sciences: *Pathobiology*, Vol 16, No 2, Summer 2013, Pages: 1-12

بررسی نقش آلترناریا آلترناتا در بروز آسم آلرژیک در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان لقمان با استفاده از آزمون‌های پوستی پریک و ایمونواسی فاز جامد

فردیس طیفوری^۱، معصومه شمس قهفرخی^{۲*}، علی اسلامی فر^۳، مریم السادات معین آزاد تهرانی^۴، پریسا مشایخی^۵، مهدی رزاقی ایبانه^۶

- ۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فارچ‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۲- دانشیار، گروه فارچ‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۳- دانشیار، بخش تحقیقات بالینی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
- ۴- استادیار، بخش داخلی (ریه)، بیمارستان لقمان، تهران، ایران
- ۵- کارشناس ارشد، واحد واکنش‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
- ۶- دانشیار، بخش فارچ‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۴۱۱۷۱۳۱۱۶، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه فارچ‌شناسی
Email: shamsm@modares.ac.ir

پذیرش مقاله: ۹۲/۰۸/۱۳

دریافت مقاله: ۹۲/۰۷/۱۵

چکیده

هدف: شیوع آلرژی‌های تنفسی به‌ویژه آلرژی‌های فارچی از جمله آلرژی‌های ناشی از آلترناریا آلترناتا در دهه‌های اخیر افزایش یافته و موجب بروز مشکلات بهداشتی زیادی در جهان شده است. هدف از تحقیق حاضر بررسی نقش قارچ آ. آلترناتا در اتولوژی آسم آلرژیک با استفاده از آزمون سنجش IgE اختصاصی و آزمون غربالگری آزمون پوستی پریک است. **مواد و روش‌ها:** در تحقیق حاضر تعداد ۲۰۲ بیمار مبتلا به آسم آلرژیک در محدوده سنی ۱۲ تا ۸۳ سال در دو جنس مذکر (۴۰/۱ درصد) و مونث (۵۹/۹ درصد) پس از ثبت اطلاعات دموگرافیک بررسی شدند. آزمون پوستی پریک با عصاره سلولی کامل آ. آلترناتا در ناحیه اپیدرم بازو برای غربالگری بیماران استفاده شد. از هیستامین به عنوان کنترل مثبت و از نرمال سالین به عنوان کنترل منفی استفاده شد. حضور IgE اختصاصی ضد آ. آلترناتا در سرم بیماران توسط روش ایمونوکپ فادیاتوپ بررسی شد. داده‌ها توسط آزمون‌های آنالیز واریانس و مجذور کای تجزیه و تحلیل شد. **نتایج:** از ۲۰۲ بیمار مورد بررسی، ۱۴ نفر (۶/۹۳ درصد) دارای آسم خفیف، ۷۳ نفر (۳۶/۱۰ درصد) آسم متوسط و ۱۱۵ نفر (۵۶/۹۰ درصد) آسم شدید بودند. تعداد ۳۵ نفر (۱۷/۳۳ درصد) از کل افراد IgE اختصاصی منفی و آزمون پوستی مثبت، ۳۶ نفر (۱۷/۸۲ درصد) آزمون IgE اختصاصی مثبت و آزمون پوستی منفی، ۱۴ نفر (۶/۹۳ درصد) در هر دو آزمون مثبت و ۱۱۷ نفر (۵۷/۹۲ درصد) در هر دو آزمون منفی بودند. **نتیجه‌گیری:** نتایج به‌دست آمده نشان داد که قارچ آ. آلترناتا با توجه به حضور IgE اختصاصی در سرم ۲۴/۷۵ درصد افراد مبتلا به آسم آلرژیک می‌تواند به عنوان یکی از عوامل با اهمیت آلرژی در این گروه از بیماران مطرح باشد. آزمون پوستی به عنوان یک آزمون غربالگری اولیه و ایمونواسی فاز جامد به عنوان آزمون تکمیلی در شناسایی آسم آلرژیک فارچی کاربرد دارد.

کلیدواژگان: آلرژی، آزمون پوستی پریک، آلترناریا آلترناتا، ایمونواسی فاز جامد، آسم آلرژیک

مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی، دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲، صفحات: ۱-۱۲

آسم اختلال مزمن التهابی طولانی مدت مجاری تنفسی است که کودکان و بزرگسالان و به عبارتی تمام سنین را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با وجود راه‌کارهای درمانی مناسب، آسم آلرژیک (Allergic Asthma) در صورت عدم کنترل می‌تواند منجر به مرگ شود و به‌طور قابل توجهی با اختلال در فعالیت‌های طبیعی به‌طور جدی بر کیفیت زندگی فرد تأثیرگذار باشد. از آن‌جا که تلاش کمی در ارائه خدمات بالینی برای بیمارانی که از آلرژی‌ها رنج می‌برند انجام شده است، اغلب به دنبال جایگزین‌های درمانی مبتنی بر تشخیص‌های تکمیلی برای این چنین بیماری‌هایی هستند. طبق گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی، مرگ و میر سالانه ناشی از آسم در جهان حدود ۲۵۰۰۰۰ نفر تخمین زده می‌شود [۱، ۲].

متأسفانه شیوع آسم و آلرژی در دهه‌های اخیر رو به افزایش است و این امر ممکن است با عوامل ژنتیکی و محیطی مختلف در ارتباط باشد. در این میان قارچ‌ها به‌عنوان یکی از شایع‌ترین عوامل ایجاد کننده آسم آلرژیک در انسان مطرح هستند. قارچ‌ها ارگاناسم‌هایی هستند که در تمامی نقاط دنیا پراکنده‌اند و به همین دلیل تماس با آن‌ها امری اجتناب‌ناپذیر است. مطالعات گسترده‌ای در رابطه با حضور عوامل آئروآلرژن (Aeroallergen) قارچی در دنیا صورت گرفته است. در حال حاضر حدود ۶۹/۰۰۰ گونه قارچ طبقه‌بندی شده‌اند که در این میان تعداد ۸۰ گونه به عنوان آئروآلرژن شناسایی شده‌اند و نقش آن‌ها در سبب‌شناسی (Etiology) موارد آلرژی در انسان به اثبات رسیده است [۳، ۴]. جنس آلترناریا (*Alternaria*) شامل گروهی از قارچ‌های رشته‌ای است که نقش با اهمیتی در ایجاد آلرژی‌های قارچی پس از اعضای جنس اسپرژیلوس (*Aspergillus*) دارند [۳]. گونه‌های آلترناریا به عنوان فلور قارچی تقریباً در تمام انواع زیستگاه‌های محیطی اعم از هوا، خاک و آب یافت می‌شوند. در ایران گونه‌های مختلف آلترناریا شامل گونه‌های آلترناتا (*A. alternata*)، براسیسیکولا (*A. brassicicola*)، پوری (*A. porri*)، توئیسیما (*A. tenuissima*)

نقش قارچ آلترناریا آلترناتا در بروز آسم آلرژیک

و سولانی (*A. solani*) از هوای تهران گزارش شده‌اند [۴]. صدها نفر از مردم در سراسر جهان از رینیت آلرژیک (Allergic Rhinitis) رنج می‌برند و حدود ۳۰۰ میلیون نفر مبتلا به آسم آلرژیک هستند [۳]. قارچ‌ها عامل حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع یک یا همان بی پاسخی ایمونولوژیک در سرتاسر جهان به حساب می‌آیند [۵]. در ایران فراوانی آلرژی‌ها به طور کلی در حدود ۶/۸۵ درصد ارزیابی شده است [۶، ۷].

شیوع آلرژی‌های تنفسی در ایران بین ۱۰ تا ۳۰ درصد در مطالعات مختلف گزارش شده است [۸] که در بین آن‌ها شیوع آلرژی‌های قارچی در حدود ۴/۷ تا ۲۴ درصد در بیماران ایرانی تعیین شده است. همچنین نشان داده شده که گونه‌های آلترناریا شایع‌ترین عوامل اتیولوژیک در بیماران آسم آلرژیک در دهه سوم یا چهارم زندگی است [۸-۱۱].

اخیراً نشان داده شده است که آلرژن‌های آلترناریا ارتباط نزدیکی با ایجاد آسم دارند و حساسیت به آلرژن‌های قارچی از مهم‌ترین عوامل خطر برای افراد آسمی است. آ. آلترناتا گونه‌ای از جنس آلترناریا است که بسیاری از آلرژن‌های تولید شده توسط این قارچ مانند انولاز (Enolase)، پروتئین‌های ریبوزومی و آلدئید دهیدروژناز (Aldehyde Dehydrogenase) منجر به القای واکنش‌های آلرژیک در انسان می‌شود. Alt a 1 به عنوان مهم‌ترین آلرژن این قارچ باعث افزایش سطح سرمی IgE در ۹۰ درصد از بیماران مبتلا به آسم می‌شود [۱۲]. برای تشخیص آلرژن‌ها علاوه بر شرح حال و معاینه بالینی از آزمون‌های مختلف آزمایشگاهی استفاده می‌شود. آزمون پوستی پریک (Skin Prick Test)، آزمونی مناسب برای اثبات واکنش فوری (آلرژی نوع یک) است که IgE اختصاصی باند شده به بافت را که بیانگر آتوپی بیمار است، نشان می‌دهد. آزمون پوستی پریک که به آسانی قابل انجام و در دسترس است، روش بسیار مناسبی است. این آزمون روشی مطمئن و بی‌خطر بوده که در تمامی افراد از جمله کودکان قابل انجام است [۱۳-۱۵]. با وجود توسعه روش‌های تشخیصی در شرایط آزمایشگاهی و در شرایط داخل بدن، تشخیص آلرژی هنوز هم دشوار است، زیرا

اکثر بیماران به‌طور مداوم در معرض طیف گسترده‌ای از اجزای قارچی و بسیاری از آلرژن‌های استنشاقی بدون منشأ قارچی قرار می‌گیرند. از میان روش‌های تشخیصی در شرایط آزمایشگاهی، روش تعیین آنتی‌بادی‌های اختصاصی در گردش نقش به‌سزایی دارد. وجود تجهیزات پیچیده از قبیل سیستم‌های ایمنو کپ (ImmunoCAP) اجازه می‌دهد که تجزیه و تحلیل خودکار آلرژن‌ها انجام شود. این سیستم قادر به شناسایی و تعیین آنتی‌بادی Ige اختصاصی با حساسیت بالا است.

شایع‌ترین بیماری‌های آلرژیک یعنی رینیت، آسم و درماتیت آتوپیک (Atopic Dermatitis) در جامعه از شیوع بالای حساسیت در برابر آلرژن‌ها خصوصاً آلرژن‌های قارچی برخوردار هستند [۳]. نشان داده شده است که این حساسیت را می‌توان با استفاده از اندازه‌گیری آزمایشگاهی آنتی‌بادی Ige و آزمون پوستی مورد سنجش قرار داد. مطالعات پراکنده‌ای در خصوص نقش عوامل قارچی و ارتباط سطح Ige اختصاصی سرمی ضد قارچی در بروز موارد آسم و آلرژی در ایران وجود دارد و تاکنون به دلیل عدم دسترسی به آلرژن‌های قارچی تجاری، اطلاعات جامعی در ارتباط با بروز آسم آلرژیک ناشی از قارچ‌ها در سطح جمعیت در ایران ارزیابی و تأیید نشده است.

در مطالعه مقتدری و همکاران در شیراز از ۲۳۰ کودک آسمی تعداد ۲۹ نفر (۱۰/۹ درصد) به قارچ‌ها حساسیت داشتند که البته این میزان در مطالعات دیگران از ۲ تا ۸۰ درصد متفاوت بوده است. از بین قارچ‌ها بیشترین میزان حساسیت مربوط به آسپرژیلوس و در مرتبه بعدی کلادوسپوریوم (*Cladosporium*) و آلترناریا بوده است. براساس این مطالعه آلترناریا، آلرژن قارچی شایع بیرون منزل و آسپرژیلوس مهم‌ترین آلرژن قارچی درون منزل است [۱۶].

در مطالعه خزایی و همکاران در زاهدان تعداد ۱۲۸۶ بیمار بررسی شدند که ۷۵ درصد رینیت آلرژیک داشتند. حساسیت به مایت‌ها (Mites) ۹۰ درصد، پر ۷۰ درصد و آسپرژیلوس ۶۵ درصد بوده است. در مرتبه بعدی شیوع آلترناریا ۵۷ درصد و کلادوسپوریوم ۴۷ درصد بوده است [۱۷]. در مطالعات انجام

گرفته در سایر کشورهای جهان نیز این قارچ شیوع نسبتاً بالایی در بین سایر عوامل موجود در هوا دارد (در کشور تایوان با ۲۲/۷ درصد و در مالزی نیز با فراوانی ۱۷/۶ درصد) [۱۸]. همچنین در آمریکا آنتی‌ژن‌های آلترناریا به میزان ۹۵ تا ۹۹ درصد در گرد و غبار داخل منازل گزارش شده است [۱۹].

در مطالعاتی که در ایران انجام گرفته است بیشتر به پراکنندگی این قارچ پرداخته شده است. به عنوان مثال در شهرستان‌های اهواز، شیراز، ساری، خراسان، و سمنان گزارش‌هایی از حضور آلترناریا در هوای مناطق به چشم می‌خورد [۲۰-۲۲]. همچنین در مطالعه‌ای در شمال ایران در شهر بابل شیوع قارچ آلترناریا ۱۳/۴ درصد گزارش شده است [۲۳]. در برخی از این تحقیقات مشخص شده است که بیماران مبتلا به آسم دارای حساسیت نسبت به کپک‌های شایع معلق در هوا از جمله کلادوسپوریوم (۱۳/۲ درصد)، آلترناریا (۱۴/۵ درصد)، پنی‌سیلیوم (*Penicillium*) (۱۲/۷ درصد)، آسپرژیلوس (۱۲/۷ درصد)، موکور (*Mucor*) (۲/۷ درصد) هستند [۲۲]. براساس اطلاعات موجود، هیچ‌گونه تحقیقات بالینی مستندی در خصوص نقش قارچ آلترناریا و آلرژن‌ها و متابولیت‌های تولید شده توسط آن در سبب‌شناسی آسم و آلرژی در ایران در دسترس نیست.

بنابراین با توجه به نقش اجتناب‌ناپذیر آلرژن‌های آلترناریاها در بهداشت عمومی و به‌ویژه نقش بارز آن در اتیولوژی آسم و آلرژی در انسان، در تحقیق حاضر برای اولین بار در ایران از آزمون پوستی پریک با استفاده از عصاره سلولی کامل قارچ آ. آلترناتا و همچنین از آزمون ایمنو کپ فادیاتوپ (ImmunoCAP Phadiatop) در تعیین Ige اختصاصی سرمی ضد آلترناریا برای اثبات نقش قارچ در سبب‌شناسی بیماری در مبتلایان به آسم و آلرژی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

بیماران

از بین بیماران مراجعه کننده به بیمارستان لقمان حکیم

نقش قارچ آلترناتیا آلترناتا در بروز آسم آلرژیک

تهران، افراد مبتلا به اختلالات تنفسی طی یک دوره یک ساله در سال ۱۳۹۰-۱۳۹۱ ارزیابی شدند. اطلاعات بیماران شامل سن، جنس، علائم بالینی، آزمایش‌های (Complete) CBC (Blood Count) و اسپرومتری (Spirometer Test) ثبت شد. علائم تنفسی (سرفه، تنگی نفس یا سفتی قفسه سینه)، اندازه‌گیری‌های اسپرومتری با و بدون برونکودیلاتور (Bronchodilator)، و آزمون متاکولین (Methacholine Test) (در مواردی که آزمون‌های عملکرد ریوی طبیعی بودند) زیر نظر پزشک متخصص انجام شد و فقط آن دسته از بیماران که متاکولین یا آزمون عملکرد ریوی مثبت داشتند (۲۰۲ نفر)، برای ورود به مطالعه انتخاب شدند. رضایت آگاهانه برای شرکت در این مطالعه از بیماران با تأیید کمیته اخلاقی بیمارستان لقمان حکیم انجام شد و این افراد برای بررسی آزمون پوستی نسبت به قارچ آ. آلترناتا به انستیتو پاستور ایران ارجاع شدند.



شکل ۱ آزمون پوستی پریک مثبت نسبت به عصاره آ. آلترناتا در ناحیه ساعد یک بیمار مبتلا به آلرژی؛ (الف) آلرژن استاندارد آ. آلترناتا، (ب) هیستامین و (ج) نرمال سالین

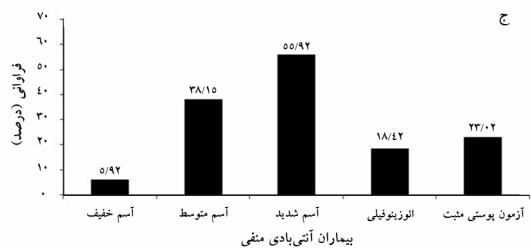
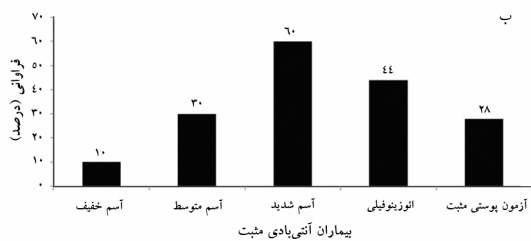
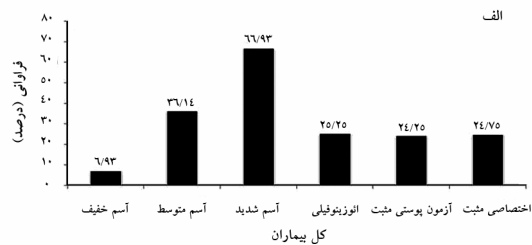
ارزیابی سرم بیماران از نظر میزان Ige اختصاصی و بررسی ائوزینوفیلی خون محیطی (Peripheral Blood Eosinophils)

برای تشخیص آلرژی قارچی نسبت به آ. آلترناتا در بیماران مورد مطالعه آزمون پوستی استفاده شد. برای انجام آزمون پوستی براساس روش مرجع استاندارد جهانی از تلقیح عصاره استاندارد آ. آلترناتا (آلرژن استاندارد تخلیص و تغلیظ شده آ. آلترناتا تولیدی شرکت Stallergenes کشور فرانسه) استفاده شد. پس از ایجاد خراش کوچک توسط لانس مخصوص در ناحیه ساعد بیمار، قطره‌ای از عصاره قارچ به میزان ۲۰ میکرولیتر با اپیدرم تماس داده شد. در کنار عصاره استاندارد آ. آلترناتا، از هیستامین به عنوان کنترل مثبت و از نرمال سالین به روش مشابه به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در صورت بروز واکنش مثبت نسبت به آزمون هیستامین فرد به مطالعه وارد و در غیر این صورت از مطالعه خارج شد. از طرف دیگر مثبت شدن آزمون کنترل منفی (سالین) نیز نشانه وجود کهیر فیزیکی بود و این افراد نیز از مطالعه کنار گذاشته شدند. واکنش‌های ایجاد تورم و برآمدگی‌های پوستی حاصل

بررسی آزمون پوستی پریک با عصاره قارچ آ. آلترناتا

شکل ۱ آزمون پوستی پریک مثبت نسبت به عصاره آ. آلترناتا در ناحیه ساعد یک بیمار مبتلا به آلرژی؛ (الف) آلرژن استاندارد آ. آلترناتا، (ب) هیستامین و (ج) نرمال سالین

خفیف، ۷۳ نفر (۳۶/۱۴ درصد) آسم متوسط و ۱۱۵ نفر (۶۶/۹۳ درصد) آسم شدید بودند. همچنین ۵۰ نفر (۲۴/۷۵ درصد) از آن‌ها دارای Ige اختصاصی علیه آ. آلترناتا و ۵۱ نفر (۲۵/۲۵ درصد) اتوزینوفیلی مثبت (با نقطه تعیین کننده بیشتر از ۵ درصد) و ۴۹ نفر (۲۴/۲۵ درصد) آزمون پوستی مثبت داشتند (شکل ۲ الف). به‌طور کلی در هیچ‌یک از موارد تفاوت معنی‌دار آماری بین میزان شیوع واکنش مثبت در مردان و زنان مشاهده نشد ولی در مقایسه میانگین ارتباط معنی‌داری بین میزان اتوزینوفیل سرم در مردان و زنان مشاهده شد.



شکل ۲ نتایج آزمون پوستی پریک، اتوزینوفیلی و شدت آسم در بیماران مبتلا به آسم آلرژیک (الف)، بیماران دارای Ige اختصاصی ضد آ. آلترناتا (ب) و بیماران فاقد Ige اختصاصی ضد آ. آلترناتا (ج)

از بین افراد دارای Ige اختصاصی مثبت نسبت به آلترناریا، ۵ نفر (۱۰ درصد) دارای آسم خفیف، ۱۵ نفر (۳۰ درصد) آسم

بدین صورت که آلرژن‌های مدنظر به‌صورت کووالانت به فاز جامد سلولزی ایمونوکپ متصل می‌شود و با آنتی‌بادی Ige موجود در نمونه سرم بیماران واکنش می‌دهد. بعد از شستشو و دور ریختن آنتی‌بادی Ige آزاد، آنتی‌بادی ضد Ige کونژوگه با آنزیم اضافه شده و بعد از انکوباسیون، آنتی‌بادی ضد Ige کونژوگه متصل نشده پس از شستشو دور ریخته می‌شود. به دنبال انکوباسیون ایمونوکپ با ماده توسعه‌گر بعد از متوقف شدن واکنش، میزان فلورسنت ماده خروجی اندازه‌گیری شده و مقدار پاسخ بالا، وجود آنتی‌بادی Ige را نشان می‌دهد. برای محاسبه نتایج آزمون، نمونه بیماران با غلظت‌های Ige توسط منحنی استاندارد براساس سازمان بهداشت جهانی مرجع شماره ۵۰۲/۷۵ بررسی می‌شود. در این تحقیق نتایج روش ایمونوکپ فادیاتوپ به‌صورت یک پاسخ مثبت یا منفی خوانده شد. نتایج مثبت با یک کیلوواحد در لیتر (KU/L) بالاتر از ۰/۳۵ تعیین شد که با میزان درستی بالا نشان دهنده وجود واکنش اختصاصی Ige نسبت به آلرژن آ. آلترناتا است [۲۶].

آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ تجزیه و تحلیل شد. در آنالیز توصیفی از شاخص‌های مرکزی همچون درصد فراوانی و میانگین و در آنالیز تحلیلی از آزمون مجذور کای برای مقایسه متغیرها استفاده شد.

نتایج

در این مطالعه ۲۰۲ بیمار با رده سنی ۱۲ تا ۸۳ سال که تعداد ۸۱ نفر مذکر (۴۰/۱ درصد) و ۱۲۱ نفر مؤنث (۵۹/۹ درصد) بودند، به دنبال مشاهده علائم بیماری آلرژیک تنفسی بررسی شدند. میانگین سنی بیماران ۴۰/۹۴ سال با حداقل ۱۲ و حداکثر ۸۳ سال بود. نتایج مربوط به فراوانی آسم و آزمون پوستی مثبت در شکل ۲ نشان داده شده است. از مجموع ۲۰۲ بیمار مورد بررسی، تعداد ۱۴ نفر (۶/۹۳ درصد) دارای آسم

نقش قارچ آلترناتاریا آلترناتا در بروز آسم آلرژیک

متوسط، ۳۰ نفر (۶۰ درصد) آسم شدید، ۲۲ نفر (۴۴ درصد) ائوزینوفیلی مثبت و ۱۴ نفر (۲۸ درصد) آزمون پوستی مثبت داشتند (شکل ۲ ب). همچنین از ۱۵۲ نفر IgE اختصاصی منفی، ۹ نفر (۵/۹۲ درصد) دارای آسم خفیف، ۵۸ نفر (۳۸/۱۵ درصد) آسم متوسط، ۸۵ نفر (۵۵/۹۲ درصد) آسم شدید، ۲۸ نفر (۱۸/۴۲ درصد) ائوزینوفیلی مثبت و ۳۵ نفر (۲۳/۰۲ درصد) آزمون پوستی مثبت داشتند (شکل ۲ ج).

از بین ۳۵ بیمار در سنین ≤ 25 سال، تعداد ۷ نفر (۲۲/۵۸ درصد) ائوزینوفیلی، ۱۱ نفر (۳۵/۴۸ درصد) IgE اختصاصی و ۷ نفر (۲۲/۵۸ درصد) واکنش آزمون پوستی داشتند. در بین ۱۴ بیمار در سنین ۲۶-۵۰، تعداد ۳۱ نفر (۲۷/۹۲ درصد) ائوزینوفیلی، ۳۰ نفر (۲۷/۰۲ درصد) IgE اختصاصی و ۲۷ نفر (۲۴/۳۲ درصد) واکنش آزمون پوستی نشان دادند. همچنین از ۳۶ بیمار در سنین ۵۱-۷۵ سال، تعداد ۱۴ نفر (۲۶/۴۱ درصد) ائوزینوفیلی، ۸ نفر (۱۵/۰۹ درصد) IgE اختصاصی و ۱۳ نفر

نتایج نشان می‌دهد که در سنین بین ۲۶ تا ۵۰ سالگی شیوع ائوزینوفیلی (۲۷/۹۲ درصد)، حضور IgE اختصاصی (۲۷/۰۲ درصد) و آزمون پوستی مثبت (۲۴/۳۲ درصد) در سرم بیماران مشاهده شد. نظر به این که بیشترین فراوانی IgE اختصاصی در سرم بیماران مورد مطالعه در گروه سنی ۲۶ تا ۵۰ سالگی بود و همچنین آزمون آماری ارتباط معنی‌داری بین این دسته و نیز IgE اختصاصی را نشان داد ($P=0/022$) و در مقایسه واکنش IgE اختصاصی مثبت و ائوزینوفیلی هم تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P<0/001$) بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین گروه سنی در معرض خطر نسبت به بیماری آلرژیک قارچی، افراد بالغ هستند.

جدول ۱ توزیع فراوانی موارد مثبت واکنش‌های پوستی، IgE اختصاصی و درصد ائوزینوفیلی در گروه‌های سنی مختلف بیماران مبتلا به آسم

گروه سنی	موارد ائوزینوفیلی مثبت (درصد فراوانی)	موارد IgE اختصاصی مثبت (درصد فراوانی)	موارد آزمون پوستی مثبت (درصد فراوانی)
≤ 25	۷ (۲۲/۵۸)	۱۱ (۳۵/۴۸)	۷ (۲۲/۵۸)
۵۰-۲۶	۳۱ (۲۷/۹۲)	۳۰ (۲۷/۰۲)	۲۷ (۲۴/۳۲)
۷۵-۵۱	۱۴ (۲۶/۴۱)	۸ (۱۵/۰۹)	۱۳ (۲۴/۵۲)
≥ 76	۰	۱ (۱۴/۲۸)	۲ (۲۸/۵۷)

تعداد ۱۴ نفر (۶/۹۳ درصد) هر دو آزمون IgE اختصاصی و آزمون پوستی مثبت داشتند و تعداد ۱۱۷ نفر (۵۷/۹۲ درصد) هر دو آزمون IgE اختصاصی و آزمون پوستی منفی نشان دادند (جدول ۲).

بحث

در تحقیق حاضر برای اولین بار در ایران نقش عصاره سلولی آ. آلترناتا در سبب‌شناسی آسم آلرژیک در مبتلایان ارزیابی و نشان داده شد که حدود ۱/۴ جمعیت مورد بررسی

جدول ۲ نتایج آزمون‌های IgE اختصاصی و آزمون پوستی در ۲۰۲ بیمار مبتلا به آسم آلرژیک

تعداد (درصد)	آزمون پوستی	IgE اختصاصی
۳۵ (۱۷/۳۳)	مثبت	منفی
۱۴ (۶/۹۳)	مثبت	مثبت
۳۶ (۱۷/۸۲)	منفی	مثبت
۱۱۷ (۵۷/۹۲)	منفی	منفی

تعداد ۳۵ نفر (۱۷/۳۳ درصد) از کل افراد IgE اختصاصی منفی و آزمون پوستی مثبت، تعداد ۳۶ نفر (۱۷/۸۲ درصد) آزمون IgE اختصاصی مثبت و آزمون پوستی منفی داشتند.

در معرض آسم آلرژیک قرار می‌دهند. آلترناریا یکی از رایج‌ترین عوامل قارچی مرتبط با بیماری‌های آلرژیک است که به عنوان بخش مهمی از فلور قارچی تقریباً در تمام نقاط کره زمین یافت می‌شود. گونه‌های آلترناریا نقش با اهمیتی در ایجاد آلرژی‌های قارچی پس از اسپرژیلوس‌ها دارند [۲۷، ۲۸]. این قارچ‌ها همچنین به عنوان آلرژن‌های شایع در بروز علائم آلرژی در انسان مطرح هستند که به دنبال رشد در داخل ساختمان‌ها منجر به ایجاد علائم تب یونجه یا واکنش‌های افزایش حساسیت و در نهایت آسم می‌شوند [۲۹]. این قارچ در آب و هوای معتدل خصوصاً در ماه‌های اردیبهشت تا آبان به فراوانی یافت می‌شود و همچنین دارای فراوانی بسیار بالایی در اواخر تابستان و اوایل پاییز است. توزیع اسپوره‌های آلترناریا در آب و هوای خشک روی می‌دهد و در مناطقی که دارای بادهای زیاد و رطوبت کم است بسیار فراوان‌تر هستند [۳۰]. اسپوره‌های آلترناریا با وجود اندازه بزرگی که دارند می‌توانند مسافتی به اندازه صدها مایل از منبع اصلی خود فاصله بگیرند. میزان اسپوره‌های آلترناریاها در آب و هوای خشک به ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ اسپور در متر مکعب می‌رسد. این میزان اسپور می‌تواند به عنوان یک عامل خطر مهم برای ایجاد آسم آلرژیک قارچی مطرح باشد [۳۱].

محققین نشان داده‌اند که پروتئین‌های آلترناریا به‌ویژه پروتئین Alt a 1 مسئول بروز موارد آلرژی هستند [۲۷]. در حال حاضر بیماری‌های آلرژیک با واسطه IgE، ۲۰ درصد از جمعیت را تحت تأثیر قرار داده است. تشخیص اغلب براساس ترکیبی از مطالعات ائروبیولوژیک (Aerobiological)، سابقه پزشکی و آزمایش‌های تشخیصی هم در داخل بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی (*In vitro*) است [۳۲].

اطلاعات بسیار اندکی در خصوص نقش آلترناریا در اتیولوژی آسم آلرژیک در بیماران ایرانی دسترس است. براساس نتایج تحقیق حاضر، ۲۴/۷۵ درصد بیماران مبتلا به آسم و آلرژی IgE اختصاصی بالا نسبت به قارچ آلترناریا داشتند که مشابه مطالعه انجام شده در بررسی هدایتی و

همکاران است که روی ۸۴ بیمار مبتلا به آسم در ساری صورت گرفته است و IgE اختصاصی آلترناتا در ۲۰ درصد، کلادوسپوریوم در ۱۹ درصد و اسپرژیلوس در ۱ درصد از بیماران مثبت بوده است. ۱۱ درصد نیز به‌طور هم زمان افزایش سطح IgE اختصاصی کلادوسپوریوم و آلترناریا را داشتند. در این مطالعه از روش RAST (Radio Allergosorbent Test) استفاده شده بود [۳۳]. در مطالعه سقازاده و همکاران با روش دات بلاتینگ (Dot Blotting) ۵۲ درصد بیماران آسمی نسبت به آ. آلترناتا سطح بالایی از IgE اختصاصی داشتند [۳۴]. این تفاوت احتمالاً می‌تواند ناشی از روش به‌کار گرفته شده در دو بررسی اخیر یا وضعیت اقلیمی و نحوه زندگی بیماران باشد که در شرایط آب هوایی گرم و مرطوب نیز بیشترین میزان IgE اختصاصی دیده شده است [۳۵]. چنان که در مطالعه هدایتی با استفاده از روش الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) حضور آنتی‌بادی اختصاصی علیه اسپرژیلوس نایجر (*Aspergillus niger*)، کلادوسپوریوم و آ. آلترناتا در سرم بیماران نشان داده شد و بیشترین فراوانی مربوط به IgE اختصاصی سرمی بیماران مورد مطالعه، بر علیه آلترناریا آلترناتا بوده است [۳۵].

با توجه به اهمیت آلترناریا در بروز آلرژی‌های سیستم تنفسی، توجه به این قارچ در گروه‌های سنی مختلف از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. همچنین در نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین حضور IgE اختصاصی در سنین بین ۲۶-۵۰ وجود داشت که بیشترین مقادیر IgE اختصاصی (۲۷/۰۲ درصد)، انوزیوفیلی (۲۷/۹۲ درصد) و آزمون پوستی پریک (۲۴/۳۲ درصد) در این رده مشاهده شد. همچنان که در مطالعه ماریا (Maria) و همکاران نیز حساسیت به آ. آلترناتا و وابستگی آن به این رده سنی گزارش شده است [۳۶].

عدم حضور IgE اختصاصی در افرادی که آزمون پوستی مثبت داشتند می‌تواند به دلیل عدم استفاده از عصاره‌های قارچی استاندارد با کیفیت بالا باشد زیرا در چنین مطالعاتی عصاره‌های قارچی استاندارد مورد نیاز است [۳۷]. عصاره

نقش قارچ آلترناریا آلترناتا در بروز آسم آلرژیک

آلترناریا ۱۰/۷ درصد و پنی سیلیوم ۸/۳ گزارش شد. حساسیت نسبت به آلترناریا با افزایش سن ارتباط معنی داری داشت [۳۹]. در مطالعه‌ای از ۶ شهر فرانسه شیوع کلی حساسیت به قارچ آلترناریا ۲۸/۶ درصد نشان داده شد [۴۰]. البته در بررسی گزارش‌های موجود در کشورهای غربی که توسط آزمون پوستی انجام شده است، ۹۱ درصد از بیماران آسمی نسبت به آنتی‌ژن آلترناریا حساسیت نشان داده‌اند که می‌تواند افزایش چشمگیری به دلیل وجود شرایط آب و هوایی و اقلیمی داشته باشد؛ همچنین نشان دهنده افزایش خطر ابتلا به آسم شدید و کشته شده است [۴۱].

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که با توجه به فراوانی واکنش آزمون پوستی در بین بیماران مبتلا به آسم مواجهه با آلرژن اصلی قارچ آ. آلترناتا از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. بنابراین شناسایی آلرژن‌های شایع منطقه و آموزش صحیح بیماران و اطلاع رسانی در خصوص علائم آلرژی در فصول گرده افشانی می‌تواند در کاهش شدت علائم بیماران و پیشگیری مؤثر واقع شود. با توجه به تفاوت ساختاری آنتی‌ژنی آلرژن‌ها آزمون‌های تکمیلی و کمی برای تشخیص اختصاصی آنتی‌ژن آلرژن‌ها در جلوگیری و کنترل پاسخ‌های آلرژیک ناشی از القای پروتئین‌های گونه‌های قارچی به‌ویژه در افراد حساس پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نتایج تحقیق حاضر بخشی از پایان‌نامه دکترای تخصصی قارچ‌شناسی پزشکی بوده است که با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از پرسنل محترم بخش‌های قارچ‌شناسی و واکسیناسیون انستیتو پاستور ایران، بخش بیماری‌های عفونی بیمارستان لقمان و کلیه بیمارانی که به‌طور داوطلبانه در انجام این مطالعه با ما همکاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

آلرژن قارچ‌ها ابزار بسیار مفیدی برای تشخیص بیماری‌های آلرژیک و برای تحقیق در فرآیندها و اجزای درگیر در این پدیده است [۳۸]. با این حال، مشکلات دسترسی به این عصاره‌ها، انجام تحقیقات در این زمینه را به شدت محدود ساخته است. همچنین در مواردی که آزمون پوستی با وجود پاسخ مثبت IgE اختصاصی، منفی شده است می‌توان گفت که در اثر عوامل مداخله کننده با آزمون پوستی (استفاده از بعضی داروها)، آزمون پوستی احتمالاً به‌طور کاذب منفی شده است؛ یا بروز مثبت کاذب در IgE اختصاصی می‌تواند به دلیل مواردی از افزایش IgE کل سرمی، علاوه بر بیماری‌های آلرژیک، به عنوان مثال در بیماری‌های انگلی باشد که در این مطالعه (۱۷/۸۲ درصد) افراد در این وضعیت قرار داشتند. در بهترین حالت که هر دو آزمون مثبت بودند کمترین درصد (۶/۹۳) بین افراد به‌صورت مثبت حقیقی مشاهده شد.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر، نشان داد که ۲۴/۲۵ درصد بیماران مورد مطالعه دارای آزمون پوستی مثبت بودند که از میان آن‌ها ۶/۹۳ درصد علاوه بر آزمون پوستی مثبت دارای IgE اختصاصی نسبت به آلرژن قارچ آ. آلترناتا نیز بودند. در حالی که این میزان در مطالعات مختلف مشابه است. در بررسی نبوی و همکاران در سمنان که روی کودکان آسمی زیر ۱۸ سال انجام شده بود تعداد ۲۴۰ نفر مورد ارزیابی آزمون پوستی پریک با قارچ‌های شایع کلادوسپوریوم، آلترناریا، پنی سیلیوم، اسپریلوس و موکور قرار گرفتند. ۳۵ درصد بیماران حداقل به یکی از قارچ‌ها حساسیت داشتند. شیوع آلترناریا ۱۴/۵ درصد بود [۲۲].

در تحقیق نبوی و همکاران که روی بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک در سمنان انجام شده است تعداد ۳۰۰ نفر تحت آزمایش پوستی پریک با آلرژن‌های شایع قارچی شامل کلادوسپوریوم، آلترناریا، پنی سیلیوم و اسپریلوس قرار گرفتند. حساسیت کلی برای همه آن‌ها ۲۶/۷ درصد بود که به‌ترتیب برای اسپریلوس ۱۲/۳ درصد، کلادوسپوریوم ۱۱ درصد،

منابع

- [1] Wijesinghe M, Weatherall M, Perrin K, Crane J, Beasley R. International trends in asthma mortality rates in the 5- to 34-year age group: a call for closer surveillance. *Chest* 2009; 135(4): 1045-9.
- [2] Rabe KF, Adachi M, Lai CK, Soriano JB, Vermeire PA, Weiss KB, Weiss ST. Worldwide severity and control of asthma in children and adults: the global asthma insights and reality surveys. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114(1): 40-7.
- [3] Pawankar R, Canonica GW, Holgate ST, Lockey RF. WAO White Book on Allergy 2011-2012: Executive Summary. A world federation of Allergy, Asthma and Clinical Immunology Societies. World Allergy Organization, 2011.
- [4] Aslani N. Identification of *Alternaria* spp. using morphological and RFLP molecular techniques from the air of Tehran. Master Thesis. Tehran: Tarbiat Modares University, 2013. (In Persian)
- [5] Shankar J, Singh BP, Gaur SN, Arora N. Recombinant glutathione-S-transferase a major allergen from *Alternaria alternata* for clinical use in allergy patients. *Mol Immunol* 2006; 43(12): 1927-32.
- [6] Assarehzadegan MA, Shakurnia A, Amini A. The most common aeroallergens in a tropical region in Southwestern Iran. *World Allergy Organ J* 2013; 6(1): 7.
- [7] Ghaffari J, Mohammadzadeh I, Khalilian A, Rafatpanah H, Mohammadjafari H, Davoudi A. Prevalence of asthma, allergic rhinitis and eczema in elementary schools in Sari (Iran). *Caspian J Intern Med* 2012; 3(1): 372-6.
- [8] Kashef S, Kashef MA, Eghtedari F. Prevalence of aeroallergens in allergic rhinitis in Shiraz. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2003; 2(4): 185-8.
- [9] Naghibzadeh B, Razmpa E, Alavi Sh, Emami M, Shidfar M, Naghibzadeh G, Morteza A. Prevalence of fungal infection among Iranian patients with chronic sinusitis. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2011; 31(1): 35-8.
- [10] Civelek E, Soyer OU, Gemicioglu B, Sekerel BE. Turkish physicians' perception of allergic rhinitis and its impact on asthma. *Allergy* 2006; 61(12): 1454-8.
- [11] Entezari A, Mehrabi Y, Varesvazirian M, Pourpak Z, Moin M. A systematic review of recent asthma symptom surveys in Iranian children. *Chron Respir Dis* 2009; 6(2): 109-14.
- [12] Vailes LD, Perzanowski MS, Wheatley LM, Platts-Mills TA, Chapman MD. IgE and IgG antibody responses to recombinant Alt a 1 as a marker of sensitization to *Alternaria* in asthma and atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2001; 31(12): 1891-5.
- [13] Behmanesh F, Shoja M, Khajedaluee M. Prevalence of aeroallergens in childhood asthma in Mashhad. *Maced J Med Sci* 2010; 3(3): 295-8.
- [14] Krouse JH, Sadrazodi K, Kerswill K. Sensitivity and specificity of prick and intradermal testing in predicting response to nasal provocation with timothy grass antigen. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 131(3): 215-9.

- [15] Choi IS, Koh YI, Koh JS, Lee MG. Sensitivity of the skin prick test and specificity of the serum-specific IgE test for airway responsiveness to house dust mites in asthma. *J Asthma* 2005; 42(3): 197-202.
- [16] Moghtaderi M, Aleyasin S, Amin R, Kashef S. Skin test reactivity to fungal aeroallergens in asthmatic children in southern Iran. *Iran J Pediatr* 2010; 20(2): 242-3.
- [17] Khazaei HA, Hashemi SR, Aghamohammadi A, Farhoudi F, Rezaei N. The study of type 1 allergy prevalence among people of South-East of Iran by skin prick test using common allergens. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2003; 2(3): 165-8.
- [18] Gendeh BS, Mujahid SH, Murad S, Rizal M. Atopic sensitization of children with rhinitis in Malaysia. *Med J Malaysia* 2004; 59(4): 522-9.
- [19] Salo PM, Yin M, Arbes SJ Jr, Cohn RD, Sever M, Muilenberg M, Burge HA, London SJ, Zeldin DC. Dustborne *Alternaria alternata* antigens in US homes: results from the National Survey of Lead and Allergens in Housing. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116(3): 623-9.
- [20] Fereidouni M, Hossini RF, Azad FJ, Assarehzadegan MA, Varasteh A. Skin prick test reactivity to common aeroallergens among allergic rhinitis patients in Iran. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2009; 37(2): 73-9.
- [21] Ghaffari J, Khademloo M, Saffar MJ, Rafiei A, Masiha F. Hypersensitivity to house dust mite and cockroach is the most common allergy in North of Iran. *Iran J Immunol* 2010; 7(4): 234-9.
- [22] Nabavi M, Ghorbani R, Farzam V. Prevalence of mold allergy in asthmatic patients of less than 18 years old in Semnan. *J Kerman Univ Med Sci* 2010; 17(4): 328-36.
- [23] Shokri, H, Khosravi AR, Naseri A, Ghiasi, M Ziapour SP. Common environmental allergenic fungi causing respiratory allergy in North of Iran. *Iranian J Vet Res* 2010; 4: 169-72.
- [24] Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, Bochner BS, Simons FER, Holgate ST. *Middleton's Allergy (Principles and Practice)*, 6th Ed, Mosby, 2003; p: 470-81.
- [25] Amorim MM, Araruna A, Caetano LB, Cruz AC, Santoro LL, Fernandes AL. Nasal eosinophilia: an indicator of eosinophilic inflammation in asthma. *Clin Exp Allergy* 2010; 40(6): 867-74.
- [26] Vidal C, Gude F, Boquete O, Fernández-Merino MC, Meijide LM, Rey J, Lojo S, González-Quintela A. Evaluation of the phadiatop test in the diagnosis of allergic sensitization in a general adult population. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2005; 15(2): 124-30.
- [27] Vijay HM, Kurup VP. Fungal allergens. *Clin Allergy Immunol* 2004; 18: 223-49.
- [28] Helbling A, Reimers A. Immunotherapy in fungal allergy. *Curr Allergy Asthma Rep* 2003; 3(5): 447-53.
- [29] Stennett PJ, Beggs PJ. *Alternaria* spores in the atmosphere of Sydney, Australia, and relationships with meteorological factors. *Int J Biometeorol* 2004; 49(2): 98-105.
- [30] O'Hollaren MT, Yunginger JW, Offord KP, Somers MJ, O'Connell EJ, Ballard DJ, Sachs MI. Exposure to an aeroallergen as a possible precipitating factor in respiratory arrest in young patients with asthma. *N Engl J Med*

- 1991; 324(6): 359-63.
- [31] Vijah HM, Thaker AJ, Banerjee B, Kurup VP. Mold allergen. In: Lockey RF, Bukantz SC, (Eds). Allergens and allergen immunotherapy. New York: Marcel Dekker; 1999: p: 113-54.
- [32] Rose N. Manual of Clinical Laboratory Immunology. Washington: ASM, 1986.
- [33] Hedayati MT, Mayahi S, Aghili SR, Goharimoghadam K, Soltani A, Shokohi T. A survey on the incidence of IgE to common allergenic mold in asthmatic patients from Sari-2003. J Mazandaran Univ Med Sci 2006; 16: 81-7. (Persian)
- [34] Saghazadeh M, Khosravi A. Evaluation specific of IgE of *Alternaria alternata* with Immunoblotting assay in asthmatic patients. 4th Congress of parasitology in Mashhad. 2003; Available at: <http://profdoc.um.ac.ir/paper-abstract>
- [35] Ezeamuzie CI, Al-Ali S, Khan M, Hijazi Z, Dowaisan A, Thomson MS, Georgi J. IgE-mediated sensitization to mould allergens among patients with allergic respiratory diseases in a desert environment. Int Arch Allergy Immunol 2000; 121(4): 300-7.
- [36] Mari A, Schneider P, Wally V, Breitenbach M, Simon-Nobbe B. Sensitization to fungi: epidemiology, comparative skin tests, and IgE reactivity of fungal extracts. Clin Exp Allergy 2003; 33(10): 1429-38.
- [37] Kurth R. Regulatory control and standardization of allergenic extracts. New York: Gustav Fisher Verlag, 1990.
- [38] Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. J Allergy Clin Immunol 1998; 102(4 Pt 1): 558-62.
- [39] Nabavi M, Ghorbani R, Bemanian MH, Rezaie M, Nabavi M. Prevalence of mold allergy in patients with allergic rhinitis referred to Semnan clinic of allergy. Koomesh 2009; 11(1): 27-32.
- [40] Randriamanantany ZA, Annesi-Maesano I, Moreau D, Raheison C, Charpin D, Kopferschmitt C, Lavaud F, Taytard A, De Blay F, Caillaud D. *Alternaria* sensitization and allergic rhinitis with or without asthma in the French Six Cities study. Allergy 2010; 65(3): 368-75.
- [41] O'Hollaren MT, Yunginger JW, Offord KP, Somers MJ, O'Connell EJ, Ballard DJ, Sachs MI. Exposure to an aeroallergen as a possible precipitating factor in respiratory arrest in young patients with asthma. New Engl J Med 1991; 324: 359-63.