

مشاهده نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس در بیمار مبتلا به زخم قرنیه: اولین گزارش موردی از ایران

سیده زینب سید یوسفی^۱، مهدی فتاحی بافقی^۲، سید سعید اشراقی^{۳*}، باقر حسینی^۴، شادی حبیب‌نیا^۵، معصومه رسولی‌نسب^۶، پروین حیدریه^۷

خلاصه

مقدمه: نوکاردیا نوعی باکتری گرم مثبت از خانواده اکتینومیست‌های هوازی و پارشیال اسید فاست است که باعث عفونت ریوی و طیف وسیعی از بیماری‌های پوستی، مغزی، چشمی و... می‌شود. گزارش مورد: بیمار، مردی ۶۰ ساله مبتلا به دیابت بود که در خرداد ماه سال ۱۳۹۳ با زخم قرنیه به بیمارستان مراجعه کرد. با توجه به شرح حال و معاینه بیمار و همچنین، ارزیابی تست‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی، نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس به عنوان باکتری عامل عفونت شناخته شد. بیمار مورد نظر با داروهای آمیکاسین و سیپروفلوکساسین درمان شد و پس از بهبودی اولیه در نوبت پیوند قرنیه قرار گرفت. نتیجه‌گیری: به دلیل تشخیص دشوار کراتیت ایجاد شده توسط نوکاردیا و امکان اشتباه گرفتن آن با کراتیت‌های ناشی از مایکوباکتریوم‌های غیر سلی (Non-tuberculosis mycobacterium یا NTM)، استفاده از روش‌های مناسب جهت تشخیص آن و درمان به موقع، ضروری به نظر می‌رسد. در مطالعه حاضر، نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس از زخم قرنیه این بیمار جدا گردید. واژه‌های کلیدی: نوکاردیوزیس، کراتیت چشمی، نوکاردیا آستروئیدس

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، ۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران ۳- استاد میکروبیولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران ۴- پاتولوژیست، بانک چشم جمهوری اسلامی ایران ۵- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران ۶- دانشجو دکتری میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران ۷- استادیار میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

* نویسنده مسؤل، آدرس پست الکترونیک: eshraghs@tums.ac.ir

پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۳/۲۰

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۴/۳/۶

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۶

مقدمه

نوکاردیا نوعی باکتری گرم مثبت، پارشیال اسید فاست، هوازی و غیر متحرک می‌باشد (۱). این باکتری در زیستگاه طبیعی مانند هوا، خاک و آب وجود دارد و می‌تواند از طریق استنشاق از راه دستگاه تنفسی، عفونت ریوی خطرناک و زخم‌های پوستی جلد مخاطی و مایستوماپی به وجود آورد (۲). جنس نوکاردیا اولین بار توسط Nocard (دامپزشک فرانسوی) از اسب مبتلا به مسمشه ریوی جدا و به عنوان عامل لنفادنیت حیوانی گزارش گردید. یک سال بعد، Travisan نام میکروارگانیزم را نوکاردیا فارسنیکا نهاد. در سال ۱۹۵۴ نوکاردیا فارسنیکا به عنوان گونه مرجع نوکاردیا شناخته شد (۳).

شایع‌ترین اشکال بالینی نوکاردیوزیس شامل عفونت‌های تنفسی، عصبی، جلدی، زیرجلدی، جلدی-لنفووی و مایستوماپی است (۴، ۳). امروزه نوکاردیوزیس چشمی به عنوان یک بیماری به نسبت نادر بسیار حایز اهمیت می‌باشد (۵). یکی از بیماری‌های چشمی ناشی از نوکاردیا، زخم قرنیه به صورت از بین رفتن استافیلوم قرنیه (*Staphylocoma corneae*) همراه با ارتشاح بافت استرومای زیرین آن به علت نبودن عروق در قرنیه است که از اورژانس‌های پزشکی محسوب می‌شود و استفاده از درمان مناسب برای کاهش عوارض آن ضروری است (۶).

عوامل مستعد کننده زخم قرنیه شامل ضربه، بی‌حسی قرنیه، جسم خارجی، جراحی اخیر چشم، اختلال پلک، استفاده از لنز تماسی و آسیب شیمیایی می‌باشد (۶). درمان نوکاردیا به عنوان عامل عفونت‌های چشمی حایز اهمیت است. امروزه، به علت استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها و در نتیجه، ایجاد مقاومت در باکتری‌ها، درمان‌ها رضایت‌بخش نیست و به جای درمان‌های تک دارویی قبلی، باید از آنتی‌بیوتیک‌های ترکیبی مانند سه داروی ایمی‌پنم، سفتریاکسون و آمیکاسین استفاده کرد (۷). بررسی آنتی‌میکروبی و تست آنتی‌بیوگرام جهت کمک به درمان

بیمار ضروری به نظر می‌رسد. مطالعه حاضر، اولین گزارش موردی نوکاردیوزیس چشمی توسط نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس در ایران بود.

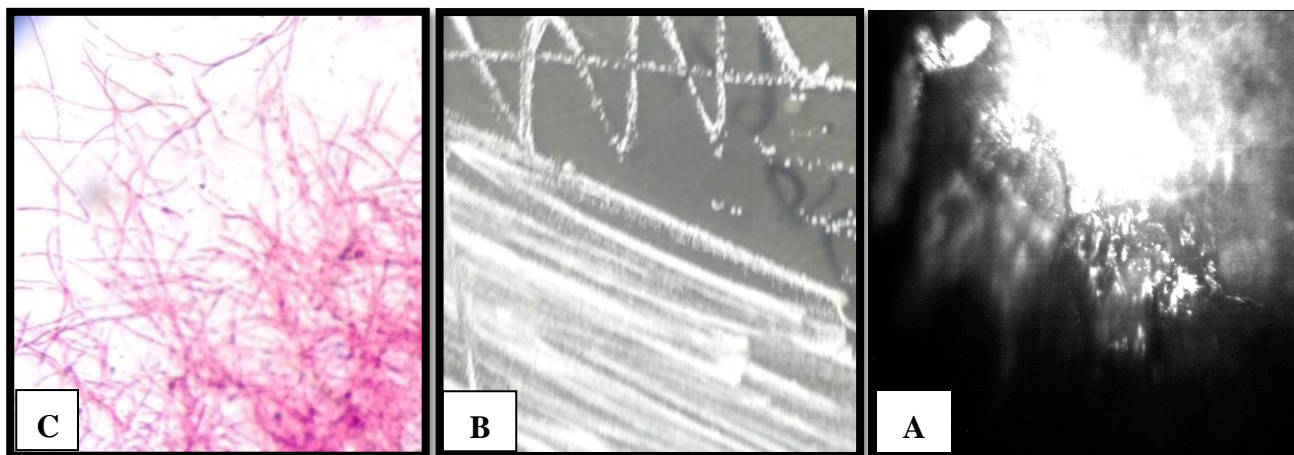
گزارش مورد

بیمار مورد مطالعه، مردی شصت ساله مبتلا به دیابت بود که با زخم قرنیه به بیمارستان مراجعه کرد. با توجه به شرح حال و معاینات انجام شده و تغییراتی از جمله اختلال در میتوز سلول‌های اپی‌تلیال، استروما (*Estroma*) و اسکولاریزاسیون قرنیه (*Corneal scleralization*)، تورم بین سلولی و فقدان میکروویلی، تشخیص کراتیت نوروتروفیک (*Neurotrophic keratitis*) داده شد. بیمار به مدت دو ماه تحت درمان با داروهای کراتیت نوروتروفیک قرار گرفته و به علت عدم بهبودی، به مرکز بانک چشم ایران مراجعه کرده بود و بعد از انجام اسکن کانفو کال (*Confocal scan*)، مشکوک به نوکاردیوزیس چشمی شناخته شد. بعد از رد تشخیص مبنی بر کراتیت نوروتروفیک، نمونه دوباره به آزمایشگاه ارسال گردید.

در مرحله بعد، پس از بی‌حسی موضعی به وسیله قطره چشمی تتراکائین ۰/۵ درصد، با استفاده از متیل سلولز به عنوان ماده واسط بین عدسی و سطح قرنیه، اسکن کانفو کال صورت گرفت (شکل ۱، قسمت A). بعد از انجام نمونه‌گیری با شرایط استریل، نمونه به محیط آزمایشگاه منتقل گردید. سپس، در محیط‌های ژلوز خون‌دار (*Blood agar*) و نوترینت آگار (*Nutrient agar*) کشت داده شد (شکل ۱، قسمت B) و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سه روز بعد از کشت، کلنی‌های سفید مایل به نارنجی مشاهده گردید. کلنی‌های گرم مثبت، اسید فاست منفی و پارشیال اسید فاست مثبت که در محیط لیزوزیم براث رشد کرده بودند، به عنوان جنس نوکاردیا تشخیص داده شد (شکل ۱، قسمت C). جهت تعیین گونه، تست‌های فنوتیپی شامل رشد در دمای

رافینوز، لاکتوز و گلوکز، سویه ایزوله شده به عنوان نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس شناخته شد (۱۰، ۹). آنتی بیوگرام برای سویه جدا شده با استفاده از روش دیسک دیفیوژن انجام گرفت (۹). طبق نتایج به دست آمده، سویه مورد نظر به کلیندامایسین، توبرامایسین و اریترومایسین مقاوم و به سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، آمپی سیلین، تتراسایکلین، ایمپنم و کوتریموکسازول حساس بود. لازم به ذکر است، برای کنترل آنتی بیوگرام از پسدوموناس آئروژینوزا (ATCC27853) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923) استفاده شد.

۴۵ درجه سانتی گراد، بررسی تولید اوره آز و نیترات ردوکتاز، هیدرولیز ترکیباتی مانند کازین، ژلاتین، گزانتین، هیپوگزانتین و تیروزین و همچنین استفاده از سیترات نیز انجام گرفت (۸). تولید اسید از قندهایی از جمله سالیسین، سوربیتول، ساکارز، مالتوز، رافینوز، لاکتوز، گلوکز، گزیلوز و آرابینوز نیز انجام شد. طبق نتایج مثبت به دست آمده از تست‌های فوتیپی (وره، سیترات، نیترات، رشد در لیزوزیم برات و رشد در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد) و همچنین، نتایج منفی حاصل از آرابینوز، ژلاتین، کازین، تیروزین، گزانتین، هیپوگزانتین، گزیلوز، سالیسین، سوربیتول، ساکارز، مالتوز،



شکل ۱. نماهای مختلف سویه نوکاردیای جدا شده از عفونت قرنیه بیمار. نمای اسکن کانفوکال قرنیه که به صورت نواحی هایپرفلکتیو از زخم قرنیه به همراه آگزودای انتهایی و ساختارهای میکروسکوپی ظریف به شکل گرد تا استوانه‌ای که در بعضی موارد با آرایش ردیفی در کنار هم به صورت رشته‌های نقطه‌دار قابل مشاهده هستند، نشان دهنده نوکاردیا می‌باشد (قسمت A)، کلنی‌های نوکاردیا بر روی محیط کشت نوترینت آگار (قسمت B)، رنگ آمیزی پارشیال اسید فاست (قسمت C)

بحث

غیر سلی (Non-tuberculosis mycobacterium یا NTM) وجود دارد، گاهی ممکن است درمان آن به علت تشخیص نادرست، به تعویق بیافتد (۱۳). در مطالعه حاضر، از عفونت چشمی بیمار شصت ساله مبتلا به زخم قرنیه نوکاردیوزیس چشمی، نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس جدا گردید. مطالعه Yin و همکاران بر روی عفونت‌های چشمی نشان داد که از

تشخیص نوکاردیوزیس چشمی به عنوان یک بیماری به نسبت نادر به دلیل مطالعات کم انجام شده بر روی آن، حایز اهمیت می‌باشد (۱۲، ۱۱). از آنجایی که تشخیص کلینیکی نوکاردیوزیس چشمی دشوار است و امکان اشتباه شدن آن با کراتیت ایجاد شده توسط مایکوباکتریوم‌های

هستولوژی و اسکن کانفو کال، نوع سویه جدا شده از عفونت قرنیه چشم آن‌ها، باکتری نوکاردیا بود (۱۵). مطالعه حاضر به بررسی جنس نوکاردیا به عنوان عامل ایجاد کننده زخم قرنیه و عفونت چشمی ناشی از آن پرداخت و با توجه به نتایج تست‌های میکروسکوپی و فنوتیپی، گونه نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس تشخیص داده شد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر بعد از بررسی نتایج تست‌های فنوتیپی، سویه جداسازی شده به عنوان نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس شناخته شد. با توجه به نتایج الگوی آنتی بیوگرام، بیمار با داروهای آمیکاسین و سیپروفلوکساسین درمان گردید. بهبودی حاصل شد و فرد در نوبت پیوند قرنیه قرار گرفت.

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران برای انجام این مطالعه، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

۱۱ نمونه کلینیکی مثبت، ۳ نمونه مربوط به نوکاردیا آرتریتریدیس (*Nocardia arthritidis*)، ۳ نمونه مربوط به نوکاردیا نوکالدونینسیس (*Nocardia neocaledoniensis*)، ۲ نمونه مربوط به نوکاردیا آسیاتیکا (*Nocardia asiatica*)، ۱ نمونه مربوط به نوکاردیا آستروئیدس تیپ چهار (*Nocardia asteroides* type IV)، ۱ نمونه مربوط به نوکاردیا برازیلنسیس (*Nocardia brasiliensis*) و ۱ نمونه مربوط به نوکاردیا سودو برازیلنسیس (*Nocardia pseudobrasiliensis*) بود (۱۴).

Manikandan و همکاران در خصوص عفونت‌های چشمی، به بررسی اپیدمیولوژی و خصوصیات نوکاردیا از جمله حساسیت آنتی‌بیوتیکی پرداختند. در مطالعه آنان گزارش شد که نوکاردیوزیس چشمی در بین عفونت‌های چشمی نادر است و تشخیص درست و درمان به موقع آن می‌تواند در کنترل عفونت چشمی نقش مهمی داشته باشد (۱۳). در مطالعه فرامیزی و همکاران، بیمارانی که تحت عمل جراحی کراتکتومی فوتورفرکتیو (PRK یا Photorefractive keratectomy) قرار گرفته بودند، بررسی شدند و پس از آزمایش‌های میکروبیولوژی و

actinomycetes of medical importance. In: Murray P, Editor. Manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington, D.C: Amer Society for Microbiology; 1995. p. 379-99.

- Lopez MR, Mendez Tovar LJ, Lavalle P, Welsh O, Saul A, Macotela RE. [Epidemiology of mycetoma in Mexico: study of 2105 cases]. *Gac Med Mex* 1992; 128(4): 477-81.
- Perez-Santonja JJ, Sakla HF, Abad JL, Zorraquino A, Esteban J, Alio JL. Nocardial keratitis after laser in situ

References

- Fatahi Bafghi M, Heidarieh P, Habibnia S, Rasoulinasab M, Kalantar Neyestanaki D, Afshar D, et al. Phenotypic and Molecular Properties of the *Nocardia* species. *Avicenna J Clin Microb Infec* 2014; 1(1): e19215.
- Bafghi MF, Heidarieh P, Soori T, Saber S, Meysamie A, Gheitoli K, et al. *Nocardia* isolation from clinical samples with the paraffin baiting technique. *Germes* 2015; 5(1): 12-6.
- Beaman BL, Saubolle MA, Wallace RJ. *Nocardia*, *rhodococcus*, *Streptomyces oerskovia*, and other aerobic

- keratomileusis. *J Refract Surg* 1997; 13(3): 314-7.
6. Mishra SK, Gordon RE, Barnett DA. Identification of *nocardiae* and streptomycetes of medical importance. *J Clin Microbiol* 1980; 11(6): 728-36.
 7. Gordon RE, Mishra SK, Barnett DA. Some bits and pieces of the genus *Nocardia*: *N. carnea*, *N. vaccinii*, *N. transvalensis*, *N. orientalis* and *N. aerocolonigenes*. *J Gen Microbiol* 1978; 109(1): 69-78.
 8. Fatahi Bafghi M, Sori T, Heidarieh P, Rasolinasab M, Habibnia S, Eshraghi S. Isolation and phenotypic identification of *Nocardia nova* complex of breast abscess in a patient with pemphigus vulgaris: the first report from Iran. *Iran J Breast Dis* 2012; 5(2-3): 44-9. [In Persian].
 9. Gordon R, Barnett DA, Handerhan JE, Pang CH. *Nocardia coeliaca*, *Nocardia autotrophica*, and the *Nocardin* Strain. *Int J Syst Evol Microbiol* 1974; 24(1): 54-63.
 10. Rasoulinasab M, Habibnia S, Heidarieh P, Fatahi Bafghi M, Pourmand MR, Eshraghi SS. Identification of *nocardia* species isolated from soil samples of the city of Tehran, Iran, using phenotypic tests. *J Isfahan Med Sch* 2013; 31(265): 45-54. [In Persian].
 11. Matulionyte R, Rohner P, Uckay I, Lew D, Garbino J. Secular trends of *nocardia* infection over 15 years in a tertiary care hospital. *J Clin Pathol* 2004; 57(8): 807-12.

Observation of *Nocardia Asteroides* Complex in a Patient with Corneal Ulceration: The First Case Report from Iran

Seyedeh Zeinab Seyyed-Yousefi, B.Sc.¹, Mehdi Fatahi-Bafghi, Ph.D.², Seyed Saeed Eshraghi, Ph.D.^{3*}

Bagher Hoseini, M.D.⁴, Shadi Habibnia, M.Sc.⁵, Masoumeh Rasouli-Nasab, M.Sc.⁶, Parvin Heidarieh, Ph.D.⁷

1. Postgraduate Student of Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 2- Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
- 3- Professor, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Pathologist, Iran Eye Bank, Tehran, Iran
- 5- Ph.D. Candidate of Microbiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Ph.D. Candidate of Microbiology, Pasteur Institute, Tehran, Iran
7. Assistant Professor of Microbiology, Department of Bacteriology & Virology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

* Corresponding author; e-mail: eshraghs@tums.ac.ir

(Received: 26 Jan. 2015 Accepted: 10 June 2015)

Abstract

Background & Aims: *Nocardia asteroides* is gram-positive, partially acid-fast, aerobic actinomycetes which cause a wide range of skin infections, and pulmonary, cerebral, and ocular infection.

Case Presentation: A 60-year-old man with diabetes presented with ocular ulcers in 2015. Through the medical records evaluation, physical examination, and biochemical evaluation of the patient, *Nocardia asteroides* complex was identified as the cause of infection. The patient was treated with amikacin and ciprofloxacin, and recovery was obtained and the patient was placed on the waiting list for corneal transplantation.

Conclusion: Diagnosis of keratitis caused by *Nocardia asteroides* is difficult and it may be misdiagnosed due similarities with keratitis caused by nontuberculous mycobacteria (NTM). Therefore, suitable diagnosis methods and early diagnosis of ocular nocardiosis are necessary. In the present study, *Nocardia asteroides* complex was isolated from a corneal ulceration.

Keywords: Ocular nocardiosis, *Nocardia asteroides*, Keratitis

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2016; 23(2): 228-233