

جداسازی و شناسایی فنوتیپی نوکاردیا نوا کمپلکس از آبse پستان یک بیمار مبتلا به پمفیگوس ولگاریس: اولین گزارش موردی از ایران

مهدى فتاحى بافقى: دانشگاه علوم پزشکى تهران-دانشکده بهداشت-گروه پاتوبیولوژى، بخش باكتري شناسى.

طاهره سورى: گروه آموزشى عفونى، بیمارستان رازى.

پروین حیدریه: دانشگاه علوم پزشکى البرز-گروه میکروب شناسى.

معصومه رسولی نصب: دانشگاه علوم پزشکى تهران-دانشکده بهداشت-گروه پاتوبیولوژى، بخش باكتري شناسى.

شادی حبیب نیا: دانشگاه علوم پزشکى تهران-دانشکده بهداشت-گروه پاتوبیولوژى، بخش باكتري شناسى.

سید سعید اشرفی^۱: دانشگاه علوم پزشکى تهران-دانشکده بهداشت-گروه پاتوبیولوژى، بخش باكتري شناسى.

چکیده

مقدمه: پمفیگوس ولگاریس از بیماری های اتوایمیون تاولی پوست و غشا مخاطی است که درمان آن بر اساس تجویز دارو های ایمنوساپرسیو و کورتیکواستروئیدها می باشد. ضعف سیستم ایمنی این بیماران سبب بروز عفونت های مختلفی توسط میکرووارگانیزم های فرصل طلب می شود. نوکاردیا عنوان یکی از این باكتري ها قادر به ایجاد عفونت در بیماران ایمنوساپرس می باشد. مقاله حاضر اولین گزارش موردی آبse پستان توسط نوکاردیا در بیمار مبتلا به پمفیگوس از ایران می باشد.

معرفی مورد: بیمار یک خانم ۳۳ ساله مبتلا به بیماری پمفیگوس که در حال درمان با پردنیزولون بود با شکایت از ناحیه پستان در بیمارستان رازی تهران بستره و بعد از بررسی های بالینی و کلینیکی کامل، آبse پستان تشخیص داده شد. در ادامه، از آبse بطريق آسپیره نمونه برداری و جهت بررسی به آزمایشگاه میکروبیولوژی ارسال شد. در بررسی مستقیم ترشحات و رنگ آمیزی نمونه ها به روش گرم و پارشیال اسید فاست، باسیل های متعدد و باكتري های رشته ای مشاهده گردید. کلته های رشد یافته در روش کشت نیز مورد بررسی میکروبی قرار گرفت و در وهله اول شباهت باكتري به نوکاردیا محرز شد. در ادامه بررسی میکروبیولوژی ایزوله باكتري با تست های متعدد فنوتیپی مورد شناسایی قرار گرفت و ایزوله به نوکاردیا نوا کمپلکس شباهت زیادی نشان داد. تست آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن انجام و ایزوله به آنتی بیوتیک های جنتاماپسین، ایمی پنم، آمیکاسین و سفوتاکسیم حساس و به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و مینوسپیکلین نیمه حساس و به آنتی بیوتیک های کوتربیکسازول و سیپروفلوكسازین مقاومت نشان داد.

کلمات کلیدی: پمفیگوس ولگاریس، آبse پستان، عفونت نوکاردیایی، آنتی بیوگرام، دیسک دیفیوژن.

¹ eshraghs@tums.ac.ir

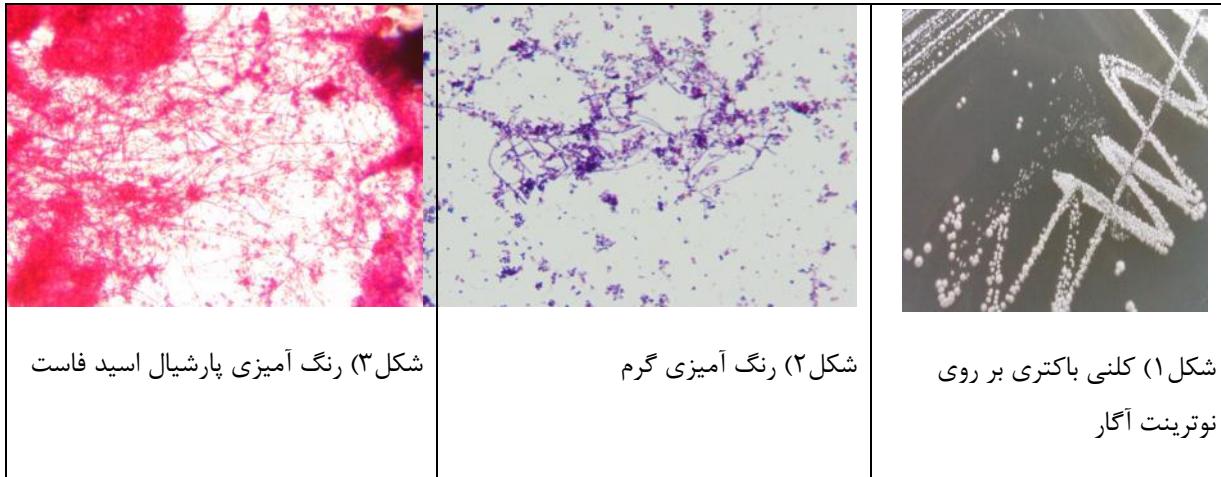
مقدمه

پمفیگوس ولگاریس از بیماری‌های اتوایمیون تاولی پوست و غشا مخاطی می‌باشد^(۱و۲). در این بیماری اتوآنتی بادی‌ها بر علیه یکی از اجزاء اتصالات سلول‌های اپیدرم به نام دسموگلین سه و دسموگلوبولین یک ایجاد می‌شوند. پمفیگوس در چند گروه طبقه بندی شده است که از مهمترین آنها می‌توان به پمفیگوس ولگاریس و پمفیگوس فولیاسئوس اشاره نمود^(۱). درمان این بیماری بر اساس تجویز کورتیکواستروئید و دارو‌های اینمنوساپرسیو استوار است. نتیجه تاثیر این داروهای سرکوب سیستم ایمنی میزان و هموار کردن راه برای ابتلا بیمار به عفونت‌های ناشی از میکروارگانیسم‌های فرصت طلب خواهد بود. آبشه‌های عفونی پستان با منشاء باکتریائی ناشی از پروتئوس، استافیلوکوکوس ارئوس، انتروکوکوس و باکتروئید در میزان‌های سالم نیز گزارش شده است^(۳و۴). ضمن اینکه اساساً در افراد سالم آبشه پستان ناشی از اکتینومایزر، نوکاردیا و مایکروبکتریوم به ندرت گزارش شده است^(۳). بطور کلی نقش میکروارگانیزم‌های فرصت طلب و از جمله نوکاردیا در ایجاد عفونت در افراد نقص ایمنی دارای اهمیت فراوان بوده و میزان مرگ و میر در این بیماران بالاست^(۵). نوکاردیا باکتری گرم مثبت، پارشیال اسید فاست، هوایی اجباری، کاتالاز مثبت، غیر متحرک و متمایل به تشکیل مایسیلیوم می‌باشد^(۶و۷). منشاء این باکتری خاک و گیاهان در نواحی مختلف طبیعت می‌باشد^(۷). بعضی از گونه‌ها در مناطق جغرافیایی با آب و هوای خاص شایع ترند. برای مثال می‌توان به نوکاردیا برازیلینسیس اشاره نمود که معمولاً عامل اصلی عفونت‌های پوستی و مایستومایی بوده و به طور معمول از مناطقی با آب و هوای استوایی و نیمه استوایی در جنوب شرق و جنوب غرب امریکا جداسازی می‌گردد. عفونت‌های نوکاردیایی مسری نیست و از شخصی به شخص دیگر انتقال پیدا نمی‌کند. این باکتری می‌تواند عامل عفونت‌های ریوی، چشمی، مغزی و پوستی در انسان باشد. در بررسی لام میکروسکپی رنگ آمیزی شده به روش گرم از نمونه‌های بالینی، مهمترین یافته‌ها، مشاهده باکتری‌های شاخه‌ای به همراه سلول‌های التهابی می‌باشد^(۸). در این مقاله اولین گزارش موردي آبشه پستان توسط باکتری نوکاردیا در یک بیمار مبتلا به پمفیگوس از ایران شرح داده شده است.

معرفی بیمار

بیمار یک خانم ۳۳ ساله مبتلا به بیماری پمفیگوس و در حال درمان با پردنیزولون بود که با شکایت از درد ناحیه پستان به بیمارستان رازی تهران مراجعه و بستری گردید. در معاینه فیزیکی که توسط پزشک معالج انجام شد، پستان‌های بیمار از نظر شکل ظاهری غیر قرینه و با بررسی‌های بالینی و کلینیکی کامل، آبشه تشخیص داده شد. در ادامه آبشه‌های چرکی آسپیره و بلاfaciale به بخش میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال گردید. نمونه آسپیره شده در دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و از رسوب آن سه عدد لام^(اسمیر) تهیه و با سه روش گرم، پارشیال اسید فاست و اسید فاست رنگ آمیزی شد. در رنگ آمیزی گرم و پارشیال اسید فاست، باکتری‌های رشته‌ای و باسیل‌های مشکوک به نوکاردیا مشاهده گردید. در ادامه مقداری از رسوب ترشحات بر روی محیط‌های نوترینت آگار، ساپرودکستروز آگار، ساپرودکستروز آگار به همراه سیکلوهگرامید وکشت به روش پارافین بایت^(۵) انجام و پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. در رنگ آمیزی کلینی‌ها، باکتری گرم مثبت و پارشیال اسید فاست مثبت مشاهده گردید(شکل شماره ۱ و ۲).

^۱-paraffin bait



در ادامه باکتری خالص شده تحت مجموعه ای از تست های فنوتیپی قرار داده شد. این تست ها شامل رشد در محیط لیزوژیم براث، رشد در دمای ۳۵ و ۴۵ درجه سانتیگراد بود. در ادامه هیدرولیز ساپلیمنت ها شامل کازئین، هیپوزانتین، تیروزین و هیدرولیز اوره، ژلاتین و اسکولین انجام شد. تست تولید نیترات ردوکتاژ، سیترات، تولید اسید از قند های رامنوز، سوربیتول، گلوکز، گزیلوز، گالاکتوز، آرابینوز، مالتوز، لاکتوز، سوکروز و رافینوز نیز روی ایزوله انجام گرفت. نتیجه تست های فنوتیپی در جدول شماره ۱ ذکر گردیده است.

جدول شماره ۱) نتایج تست های فنوتیپی

سویه ایزوله شده	تست های فنوتیپی
+	رشد در لیزوژیم براث
+	رشد در دمای ۳۵ C°
+	رشد در دمای ۴۵C°
-	هیدرولیز کازئین
-	هیدرولیز هیپوزانتین
-	هیدرولیز تیروزین
+	هیدرولیز اوره
-	هیدرولیز ژلاتین
+	هیدرولیز اسکولین
+	تولید نیترات ردوکتاژ
+	سیترات
-	تولید اسید از قند های رامنوز
-	تولید اسید از قند سوربیتول

+	تولید اسید از قند گلوکز
-	تولید اسید از قند گزبلوز
-	تولید اسید از قند گالاکتوز
-	تولید اسید از قند آرابینوز
-	تولید اسید از قند مالتوز
-	تولید اسید از قند لاکتوز
-	تولید اسید از قند سوکروز
-	تولید اسید از قند رافینوز

در آنالیز تست‌های فنوتیپی نمونه، با توجه به نتایج حاصل شده، ایزوله مورد مطالعه به نوکاردیا نوا کمپلکس شباهت بسیار زیادی نشان داد (۹۰). در آنتی بیوگرام به روش دیسک آگار دیفیوژن تهیه شده از شرکت Mast (۱۰) سویه جداسازی شده به آنتی بیوتیک‌های جنتامايسین، ایمی پنم، آمیکاسین و سفوتاکسیم حساس و به آنتی بیوتیک‌های آمپی سیلین و مینوسیکلین نیمه حساس و به آنتی بیوتیک‌های کوتريماکسازول و سپپروفلوکسازین مقاومت نشان داد. در این مطالعه ایزوله جداسازی شده به کوتريماکسازول مقاوم بوده و این مطلب را بیان می‌دارد که برای درمان عفونت‌های نوکاردیایی نباید به تنها‌ی از کوتريماکسازول استفاده گردد و ترکیب آن همراه با عوامل آنتی باکتریال دیگر ضروری می‌باشد. در این مطالعه بیمار بعد از تشخیص به مدت ۳ ماه تحت درمان با طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها مانند مروپن و ایمپینم قرار گرفت. در ابتدای درمان علائم بیماری کمی بهبود یافت اما در ادامه به دلیل ضعف سیستم ایمنی و درمان‌های طولانی با آنتی بیوتیک‌های با دوز بالا، عفونت بصورت آبse‌های متاستاتیک و پراکنده مجددأً عود کرد.

بحث و نتیجه گیری

نوکاردیا اولین بار در سال ۱۸۸۸ توسط ادموند نوکارد فرانسوی و از عفونت یک اسب پرورشی مبتلا به مشمشه جدا سازی و گزارش گردید (۳). نوکاردیا در مواجهه با میزان مناسب که عمدتاً افراد با ضعف سیستم ایمنی می‌باشند، عفونت منتشره ریوی آ، با امکان انتشار به سایر اندام‌ها مانند چشم^۳، پوست^۴ می‌تواند به آبse مغزی و مرگ منجر شود (۱۲ و ۱۱ و ۸). بیش از ۷۰ درصد عفونت‌های نوکاردیایی در بیماران ایمنو ساپرسیو گزارش گردیده است (۱۳). عفونت ناشی از نوکاردیا در بیماران پمفیگوس بندرت گزارش گردیده (۱۴) و نیز آبse پستان ناشی از نوکاردیا در بیماران ایمنو ساپرسیو کمتر گزارش شده است (۱۵ و ۳). در مطالعه‌ای که توسط Jaffé و همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام شد، از یک خانم ۶۰ ساله مبتلا به آبse پستان نوکاردیا آسترورئیدس جدا سازی گردید (۳). در مطالعه دیگری که توسط Tsouassis و همکاران در سال ۲۰۰۵ صورت گرفت، از یک خانم ۶۵ ساله مبتلا به سلطان پستان که تحت درمان با شیمی درمانی بود نوکاردیا اوتیتیدیس کاویاروم^۵ جدا سازی گردید (۱۶). در مطالعه اصلیان و همکاران در یک مرد ۵۶ ساله مبتلا به پمفیگوس، آبse چرکی نوکاردیائی همزمان در پوست و ریه گزارش شد که با تجویز کوتريماکسازول

³ - pulmonary

⁴ - keratitis

⁵ - cutaneous, subcutaneous, lymph cutaneous

⁶ - *Nocardia otitidiscavarium*

درمان گردید(۲). **Kakurai** و همکاران در سال ۱۹۹۹ از بازوی راست یک بیمار مبتلا به پمفیگوس نوکارдیا نوا کمپلکس جداسازی نمودند (۱۷). از سال ۱۹۴۰ سولفانامید‌ها به عنوان درمان انتخابی برای عفونت‌های نوکاردیایی پیشنهاد و برای بیماران نوکاردیایی مورد استفاده قرار گرفت. قبل از معروفی سولفانامید‌ها میزان مرگ و میر در این بیماران تقریباً ۱۰۰ درصد بود. در حال حاضر، علی‌رغم استفاده از سولفانامید‌ها در درمان اکثریت بیماری‌های ناشی از نوکاردیا، بدليل استفاده مکرر میزان این باکتری و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آنها، میزان موفقیت درمان در آنها کامل نمی‌باشد. بنابراین بیشتر پزشکان در مواجهه با اینگونه بیماران (نوکاردیوزیس منتشره یا CNS) و درمان موفقیت آمیز آنها آنتی‌بیوتیک‌های ترکیبی مانند ۳ داروی TMP-SMX ، آمیکاسین، سفتریاکسون و یا ایمی پنم بعنوان داروی جایگزین ۳ دارو را توصیه می‌نمایند. عوامل آنتی میکروبیال دیگر مانند سفالوسپورین‌ها (سفپیروم، سفپیم، سفتریاکسون و سفوتوکسیم) بصورت تجربی برای نوکاردیا مورد مطالعه قرار گرفته است(۸). به طور معمول این عوامل در آزمایشگاه اثرات موثر تری بر روی ایزوله‌های نوکاردیا آستروئیدس تایپ ۷^۶، نوکاردیا آبسسوس^۸، نوکاردیا نوا کمپلکس^۹ و نوکاردیا ترانس ولنسیس^{۱۰} کمپلکس نشان می‌دهند(۸). از دلایل آنتی بیوگرام برای نوکاردیا می‌توان به این موارد اشاره نمود: ۱- نوکاردیوزیس ریوی و یا نوکاردیای منتشره در صورت عدم درمان کشنده می‌باشد ۲- شکست درمان رایج با سولفانامید‌ها در بیماران ریوی ۲۰ درصد و در بیماران^{۱۱} CNS ۵۰ درصد است ۳- حساسیت آنتی بیوتیکی نوکاردیا آستروئیدس نسبت به آنتی بیوتیک‌ها خصوصاً آنتی بیوتیک‌هایی خارج از خانواده سولفانامید‌ها متغیر بوده و ارزیابی حساسیت ایزوله‌ها بسیار دارای اهمیت می‌باشد ۴- امروزه تولید آنتی بیوتیک‌های جدید فراهم بوده و بعضی ممکن است در مقایسه با سولفانامید‌ها در درمان موثر تر واقع شوند(۱۰). در این مطالعه ایزوله جداسازی شده به کوتրماکسازول مقاوم بوده و این مطلب را بیان می‌دارد که برای درمان عفونت‌های نوکاردیایی نباید به تنها یکی از کوتريماکسازول استفاده گردد و ترکیب آن همراه با عوامل آنتی باکتریال دیگر ضروری می‌باشد. در ضمن باید به این مطلب اشاره نمود که در تشخیص عفونت‌های ایجاد شده در این بیماران جداسازی نوکاردیا بايستی در اولویت قرار گیرد زیرا این باکتری یکی از عوامل مهم ایجاد کننده عفونت در این بیماران گزارش گردیده است. در این مطالعه بیمار بعد از تشخیص به مدت ۳ ماه تحت درمان با طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها مانند مروپن姆 و ایمپننم قرار گرفت. در ادامه علائم بهبودی به نشانه تاثیر مثبت درمان مشاهده شد لیکن در ادامه آبشه‌های متاستاتیک به دلیل ضعف سیستم ایمنی تظاهر کرد و نهایتاً بیمار فوت نمود.

⁷ - *Nocardia asteroides* type 6⁸ - *Nocardia abscessus*⁹ - *Nocardia nova* complex¹⁰ - *Nocardia transvalensis*¹¹ - Central nervous system

Reference

1. Sagi, L., et al., *Pemphigus and infectious agents*. Autoimmunity Reviews, 2008. **8**(1): p. 33-35.
2. Asilian, A., A. Yoosefi, and G. Faghihi, *Cutaneous and pulmonary nocardiosis in pemphigus vulgaris: a rare complication of immunosuppressive therapy*. International journal of dermatology, 2006. **45**(10): p. 1204-1206.
3. Jaffe, S., A. Nash, and N. Nasiri, *Nocardia asteroides: an unusual cause of breast abscess*. The Breast, 1999. **8**(6): p. 345-346.
4. Pallin, D.J., et al., *Increased US emergency department visits for skin and soft tissue infections, and changes in antibiotic choices, during the emergence of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Annals of emergency medicine, 2008. **51**(3): p. 291-298.
5. Mishra, S. and H. Randhawa, *Application of paraffin bait technique to the isolation of Nocardia asteroides from clinical specimens*. Applied microbiology, 1969. **18**(4): p. 686-687.
6. Eshraghi, S.S., *Molecular typing of Nocardia species*. Journal of Medical Bacteriology, 2012. **1**(1).
7. Çaydere, M., et al., *Nocardia farcinica brain abscess: a case report and review of the literature*. Neurocirugía: Organo oficial de la Sociedad Española de Neurocirugía, 2004. **15**(6): p. 600-603.
8. Brown-Elliott, B.A., et al., *Clinical and laboratory features of the Nocardia spp. based on current molecular taxonomy*. Clinical Microbiology Reviews, 2006. **19**(2): p. 259-282.
9. Conville, P.S., et al., *Nocardia kruczakiae sp. nov., a pathogen in immunocompromised patients and a member of the "N. nova complex"*. Journal of clinical microbiology, 2004. **42**(11): p. 5139-5145.
10. Wallace, R.J. and L.C. Steele, *Susceptibility testing of Nocardia species for the clinical laboratory*. Diagnostic microbiology and infectious disease, 1988. **9**(3): p. 155-166.
11. Eshraghi, S. and M. Amin, *Nocardia asteroides Complex in Patient with Symptomatic Pulmonary Nocardiosis in a patient with bronchiectasis (6). isolate the organism was also investigated*. Iranian Journal of Public Health, 2001. **30**(3-4): p. 99-102.
12. Srifuengfung, S., et al., *Prevalence of Nocardia Species Isolated from Patients with Respiratory Tract Infections at Siriraj Hospital, Thailand*.
13. Satterwhite, T.K. and R.J. Wallace Jr, *Primary cutaneous nocardiosis*. JAMA: the journal of the American Medical Association, 1979. **242**(4): p. 333-336.
14. Martin, F., A. Pérez-Bernal, and F. Camacho, *Pemphigus vulgaris and disseminated nocardiosis*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2000. **14**(5): p. 416-418.
15. Simpson A J H, J.P.A., Das S S, *Breast abscess caused by Nocardia asteroides*. J Infect, 1995. **30**: p. 266-267.
16. Apostolakis, S., et al., *Lymphocutaneous Nocardiosis in a Lymphopenic Breast Cancer Patient under Treatment with Docetaxel*. The Breast Journal, 2005. **11**(6): p. 469-469.
17. Kakurai, M., et al., *Subcutaneous Nocardial Abscesses in a Patient with Bullous Pemphigoid during Immunosuppressive Therapy: Report of a Case and Review of the Japanese Literature*. Journal of dermatology, 1999. **26**(12): p. 829-833.