

نوکار دیوزیس؛ نشانه های بالینی و تشخیص های آزمایشگاهی

و بافت ها اغلب تشکیل رشته هایی را می دهند که به آسانی به عناصر کوکسی و باسیلی شکل تبدیل می شوند همچنین این باکتری ها فرصت طلب و درون سلولی اختیاری هستند که قادرند در صورت سرکوب سیستم ایمنی بدن، در قسمت های مختلف بدن از جمله ریه ها مستقر شوند. همچنین می تواند به صورت باکتری می بروز نماید که آبه های مغزی یا عفونت های پوستی در پی خواهد داشت (۳، ۴، ۹، ۱۰).

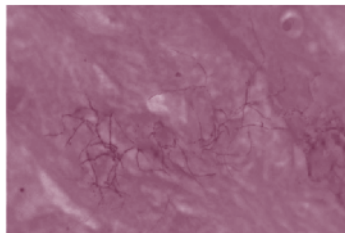
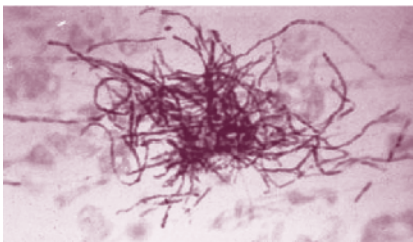
میزان شیوع بیماری در ایران مشخص نبوده و اغلب به صورت موردی گزارش شده است (۱). در ایالات متحده امریکا میزان بروز بیماری سالانه ۱۰۰۰ - ۵۰۰ مورد گزارش شده است (۳، ۱۱، ۱۲). مشخصات بالینی و ویژگی های رادیولوژیک نوکار دیوزیس ریوی شبیه بیماری سل ریوی است، اما پیشرفت آن نسبت به بیماری سل سریع تر بوده و دوره بیماری چند ماه به طول خواهد انجامید. ضایعه ریوی ناشی از نوکار دیوزیس ریوی موضعی و بدون علائم بالینی همراه با آبه و گاهی به صورت پنومونی دیده می شود (۳، ۱۳). ارگانیسیم می تواند همراه با ذرات گرد و غبار به شکل آنروسول در آمده و اصلی ترین راه ورود آن دستگاه تنفسی است که در ۵۰ تا ۷۰ درصد موارد پلومونری بروز پیدا می کند (۱۳، ۱۴). وجود موارد گزارش شده از بیماران مبتلا به نوکار دیوزیس مهاجم در بخش های پیوند عضو و انکولوژی (oncology) می تواند نشانه ایی از انتقال بیماری به واسطه گرد و غبار باشد و با توجه به این نکته که زیستگاه اصلی این میکروارگانیسیم در خاک است شناسایی این باکتری در خاک نواحی مختلف علاوه بر بررسی اپیدمیولوژیکی یکی از راه های کمکی مهم در تشخیص و درمان بیماران مبتلا نوکار دیوزیس است (۲، ۱۴، ۱۵). بر پایه ی پژوهش های مختلف: درمان به موقع این عفونت و پیشگیری از شیوع آن، عامل بسیار مهمی در جلوگیری از مرگ و میر بیماران است (۱۶). برای تشخیص این باکتری نمی توان به نشانگان بالینی و کلینیکی به تنهایی تکیه کرد، زیرا در بیشتر عفونت های نوکار دیوزیس به علت نبود نشانه های بالینی ویژه به گونه ی مشخص و روشن آن، تشخیص سریع دشوار است (۲، ۱۵). روش های مرسوم میکروب شناسی مانند رنگ آمیزی و کشت، یکی از ابزارهای مهم استاندارد در تشخیص عفونت های نوکار دیوزیس است (۱، ۲، ۶، ۱۷، ۱۸).

نوکار دیوزیس بیماری عفونی خطرناکی است که بیشتر ریه را گرفتار می کند، ولی می تواند اندام های دیگر نظیر پوست و سیستم عصبی مرکزی را نیز آلوده سازد. این بیماری در بیشتر موارد در افراد با نقص سیستم ایمنی دیده می شود، اما افراد سالم از لحاظ سیستم ایمنی نیز می توانند مستعد عفونت باشند. نوکار دیوزیس عامل ایجاد کننده این بیماری است، که به صورت رشته ای، گرم مثبت، هوازی، پارشیاال اسید فست و به عنوان یکی از مهم ترین جنس های اکتینومایست های هوازی و ساکن خاک مطرح است. شیوع عفونت نوکار دیوزیس از نظر سنی، جنسی، شغلی و فصلی محدود و خاصی ندارد. با توجه به این که نشانگان بالینی نوکار دیوزیس ریوی شبیه عفونت های سلی و قارچی ریوی است، ولی درمان آن کاملا با عفونت های فوق متفاوت است. معمولا درمان این بیماری طولانی مدت بوده و در بیماری های شدید درمان چند آنتی بیوتیکی اعمال می شود. تشخیص و ردیابی بیماری نوکار دیوزیس و نوکار دیوزیس کار بسیار دشوار بوده، به طوری که نیاز به تجربه و ورزیدگی بالا است. همچنین با اشاره به اهمیت عفونت های ریوی در ایران تشخیص صحیح و به موقع نوکار دیوزیس دارای اهمیت است. اگرچه رنگ آمیزی گرم، رنگ آمیزی اسید فست اصلاح شده و کشت همچنان به عنوان روش های تشخیصی استاندارد در تشخیص نوکار دیوزیس است، ولی تکنیک های مولکولی جدید نیز تشخیص نوکار دیوزیس را سرعت بخشیده است. در این مطالعه سعی کردیم تا خصوصیات بالینی بیماری نوکار دیوزیس و روش های تشخیصی نوکار دیوزیس را مورد بررسی قرار دهیم.

از میان بیماری های مختلف، نوکار دیوزیس یکی از مهم ترین بیماری های بالینی است که میتواند بیماران با سرکوب سیستم ایمنی (مانند افراد مبتلا به ایدز، سرطان، دیابت و پیوند عضو) را درگیر کند. این بیماری کما بیش مرگ و میر بالایی دارد، که میزان آن در نوکار دیوزیس منتشر بین ۷ تا ۴۴ درصد است (۱-۵). شایع ترین شکل عفونت نوکار دیوزیس در انسان فرم ریوی است، که از راه استنشاق، گونه های نوکار دیوزیس از محیط ایجاد می شود. تاکنون بیش از ۵۰ گونه نوکار دیوزیس شناسایی شده است که گونه های مهم بیمارارز شامل N. asteroid complex، N. pseudobrasiliensis، N. brasiliensis، N. transvalensis، N. otitidiscaviarum است (۵-۷). این باکتری اولین بار در سال ۱۸۸۸ توسط یک دامپزشک فرانسوی به نام ادموند نوکار از یک اسب مبتلا به مسمومه جدا شد که در سال ۱۸۹۰ به افتخار او نام این باکتری را نوکار دیوزیس گذاشتند (۸). گونه های نوکار دیوزیس، باکتریهای گرم مثبت و نیمه اسیدفست از راسته اکتینومایست ها بوده و در محیط های کشت

شدت افزایش می دهد. همچنین این باکتری معمولاً در ایزوله های مایکوباکتریوم دیده می شود. (۱۰، ۱۲، ۱۵). به طور معمول نمونه گیری از ترشحات تنفسی، بیوپسی پوستی و مایع مغزی نخاعی انجام می گیرد (۱، ۲). علائم و نشانه ها و مطالعات رادیولوژی ممکن است راهنمایی برای تشخیص بیماری باشد، اما دلیل تشخیصی به شمار نمی آید. تست های سرولوژیکی نیز غیر قابل اطمینان بوده و از لحاظ تجاری مقرون به صرفه نیستند. کشت و بررسی اسمیر از آسان ترین روش های ارزیابی است. (۱، ۲، ۱۲، ۱۷).

برای تشخیص در ابتدا رنگ آمیزی انجام می گیرد که رنگ امیزی گرم و کینون اصلاح شده از متداول ترین آنها است این باکتری مورفولوژی رشته ای داشته که به صورت گرم مثبت و اسید فست ضعیف قابل مشاهده است. در رنگ آمیزی گرم رشته های گرم مثبت دراز، شاخه شاخه و پر پیچ و خم با اشکال باسیلی دیده می شوند، این رشته در رنگ آمیزی اسید فاست از نوع کاینون از اکتینومیکوزیس افتراق داده می شوند چرا که اکتینومایسس ها اغلب اسیدفاست نیست.



(۱، ۲، ۶، ۱۲، ۱۷).

نوکاردیا در محیط های کشت روتین آزمایشگاهی که برای باکتری و قارچ ها استفاده می شود مانند بلاد آگار (با خون گوسفندی ۵٪)، شکلات آگار و BACTEC قادر به رشد خواهد بود، اما می توان از محیط های انتخابی که برای این میکروارگانیسم استفاده می شود: شامل تایر مارتین آگار همراه با آنتی بیوتیک modified Thayer-Martin (buffered charcoal-yeast agar, colistin-nalidixic acid agar) استفاده کرد.

BCYE (extra) استفاده کرد. این ارگانیسم ها هر چند هوازی است اما در شرایط بی هوازی هم قادر به رشد است. (۲، ۱۷). کلنی های نوکاردیا به رنگ گچ، پنبه ای شکل، چین خورده و با برجستگی در وسط هستند که از خصوصیات آن می توان به کلنی های زرد



مایل به نارنجی و همچنین میسلیم های هوایی و ظریف اشاره نمود) (۱) که در شکل روبرو مشاهده می شود.

علائم بالینی نوکاردیوزیس

علائم و نشانه ها تا حد زیادی به ارگان درگیر شده بستگی دارد (۱) سه عضوی که بیشترین درگیری را در این بیماری دارند ریه، مغز و پوست هستند که علائم درگیری در بافت های ذکر شده به شرح زیر است:

❖ **نوکاردیوزیس ریوی (pulmonary nocardiosis):** نشانه ها شامل درد قفسه سینه هنگام تنفس کردن که این درد ممکن است به صورت ناگهانی یا به تدریج به وجود آید، سرفه خونی، تب، عرق شبانه، کاهش وزن.

❖ **نوکاردیوزیس مغزی (cerebral nocardiosis):** همراه با تب، سردرد، تشنج است.

❖ **عفونت مزمن پوستی (mycetoma):** با زخم ها و ندول ها تظاهر نموده و گاهی ممکن است همراه با انتشار ندول های لنفاوی باشند. ضایعات پوستی در بیماران با نقص سیستم ایمنی معمولاً به شکل سلولیت، آبسه و اسپروتریکویت بروز می کند (۱، ۲، ۵، ۷، ۹، ۱۴، ۱۷، ۱۸).

اپیدمیولوژی

نوکاردیا آستروئیدس با انتشار جهانی شایع ترین عاملی است که باعث بیماری در انسان می شود واز خاک نیز جدا شده است. بیماری در سراسر جهان دنیا دیده می شود. شغل و یا نژاد در ابتلا به آن تاثیری ندارد. همچنین بیماری در ایران به اشکال ریوی، زیرجلدی و آبسه مغزی گزارش شده است. گونه غالب در ایران نوکاردیا آستروئیدس است (۱، ۲، ۳، ۱۵). فراوانی ابتلا به بیماری در مردها ۲-۳ مرتبه فراوان تر از زن ها است و در همه گروه های سنی دیده می شود. ولی در سنین ۳۰-۵۰ سالگی شایع تر است. در حدود ۵۰ درصد موارد، عوامل زمینه ای مانند درمان با استروئیدها و سیتوتوکسین ها و ابتلا به بیماری هایی مانند لوسمی، لنفوم و یا نوتروپنی درابتلا به بیماری دخیل است. نوکاردیا برازیلنسیس بیماری زایی بیشتری دارد و عفونت اولیه بدون عامل زمینه ای را موجب می شود (۳، ۱۵).

شناسایی و تشخیص های آزمایشگاهی

در سال های اخیر تعداد گزارش های مینی بر عفونت نوکاردیوزیس رو به افزایش است، که دلیل این امر را می توان در پیشرفت زمینه های تشخیصی و همچنین افزایش بیماران با نقص سیستم ایمنی دانست. (۲، ۱۵). تشخیص نوکاردیا با چالش هایی همراه است. از آنجائی که حضور نوکاردیا در محیط می تواند باعث لودگی نمونه ها شود، این موضوع می تواند باعث سردرگمی در تشخیص شود بنابراین به علت اهمیت تشخیصی آن هر ایزوله باید بدقت بررسی شود (۲، ۳، ۱۲، ۱۷). حضور نوکاردیا در مناطق استریل بدن و مشاهده آن درنمونه های مستعد عفونت مانند خلط، گمان بر عامل اتیولوژیک بودن نوکاردیا را به

Isolate	Reaction								Growth at 45°C
	Galactose	Glycerol	Trehalose	Adonitol	Esculin	Opacificatio n of 7H11 agar	Acetamide utilization	Growth at 45°C	
<i>N. asteroides sensu stricto</i>	=	+	=	=	=	=	=	=	V
<i>N. transvalensis</i>	+	+	+	=	=	=	=	=	=
<i>N. farcinica</i>	=	+	=	=	+	+	+	+	+
<i>N. otitidiscaviarum</i>	=	+	+	=	+	=	=	=	V
<i>N. brasiliensis</i>	+	+	+	=	+	=	=	=	=
<i>N. pseudobrasiliensis</i>	+	+	+	=	+	=	=	+	=
<i>N. transvalensis</i>	+	+	+	+	=	=	=	=	V
<i>N. brevicatena</i>	=	=	+	=	+	=	=	=	V
<i>N. nova</i>	=	=	=	=	=	=	=	=	=
⇒ negative reactivity ⇒ positive reactivity ⇒ variable reactivity									

رشد گونه های نوکاردیا بر روی محیط کشت از ۴۸ ساعت تا چند هفته متغیر است، که به طور معمول ۳ تا ۷ روز در محیط های کشت رایج رشد می کند. به نظر می رسد که این میکروارگانیسم در محیط هایی که برای قارچ ها استفاده می شود، مانند سیکلوهاگزامید حاوی آگار رشد خوبی داشته باشند. البته این گونه ها ممکن است توسط جنتامایسین موجود در inhibitory mold agar مهار شود. (۶، ۱۷، ۱۸). بررسی ترکیبات دیواره سلولی با استفاده از روش های کروماتوگرافی مایع با فشار بالا high-pressure liquid chromatography یا کروماتوگرافی لایه نازک thin-layer chromatography جهت تشخیص در سطح

جنس کاربرد دارد. (۱۷). برای افتراق نوکاردیا از استرپتومایسس از تست مقاومت به لیزوزیم استفاده می کنیم که در این تست نوکاردیا مقاوم به لیزوزیم و استرپتومایسس حساس به لیزوزیم است (۲، ۱۷).

تشخیص در سطح گونه

گونه هایی که برای انسان بیماری زا هستند: شامل نوکاردیا برازیلینسیس و نوکاردیا آستروئیدس است (۷). برای تشخیص و افتراق گونه های نوکاردیا می توان از تست های مقدماتی موجود در آزمایشگاه های کلینیکی شامل استفاده از آنزیم آریل سولفاتاز، مصرف استامید، الگوی رشد در دمای ۳۵ تا ۴۵°C، کدورت در محیط 7H11 آگار و... استفاده کرد (۲، ۳، ۱۷، ۱۸). همچنین افتراق گونه ها بر اساس هیدرولیز casein, tyrosine, xanthine و hypoxanthine انجام می گیرد که به طور مثال برای افتراق آستروئیدس از برازیلینسیس می توان از واکنش هیدرولیز تیروزین، کازوئین و ژلاتین استفاده کرد. در نوکاردیا آستروئیدس هیدرولیز تیروزین، ژلاتین و کازوئین منفی ولی در نوکاردیا برازیلینسیس هر سه آزمون فوق مثبت است (۲، ۱۸).

افزون بر روش های بالا، امروزه برای تشخیص گونه ها از روش های مولکولی مانند تجزیه و تحلیل ژن 16 S rRNA با استفاده از اندونوکلازهای محدودالایتر، RFLP بر روی ژن hsp و سکوانسینگ ژن استفاده می شود (۱۷-۱۹).

جدول بالا برخی از خصوصیات افتراقی جهت تشخیص گونه های

مهم نوکاردیا را نشان می دهد (۲، ۱۷).

واکنش های بیوشیمیایی برای جداسازی گونه های نوکاردیا

درمان

سولفانامیدها درمان استاندارد برای نوکاردیا محسوب می شود و اغلب موثر است. همچنین ترکیب سولفونامید ها با آنتی بیوتیک های دیگر می تواند به عنوان درمان انتخابی به کار برده شود. ولی در بعضی از مراکز از ترکیب ایمپینم و آمیکاسین نیز استفاده می شود. از داروهای مختلف دیگر مانند آمیکاسین، ماینوسایکلین، آموکسیسیلین، کلانویک اسید و سفالوسپورین های نسل سوم نیز برای درمان بیماران می توان استفاده کرد (۱، ۶، ۲۰).

منابع

- ۱- شادزی، شهلا. قارچ شناسی پزشکی: روش های تشخیص آزمایشگاهی و درمان. انتشارات جهاد دانشگاهی ۱۳۹۲.
2. Satoh S, Oishi K, Watanabe K, Nagatake T. [A case report of pulmonary nocardiosis associated with bronchiectasis after pulmonary tuberculosis successfully treated with sparflaxacin]. Kansenshogaku zasshi The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases. 2002;76(3):212-5.
3. Saubolle MA, Sussland D. Nocardiosis review of clinical and laboratory experience. Journal of clinical microbiology. 2003;41(10):4497-501.
4. Corti ME, Fiotti MEV. Nocardiosis: a review. International journal of infectious diseases. 2003;7(4):243-50.
5. Manivasagan P, Gnanam S, Sivakumar K, Thangaradjou T, Vijayalakshmi S, Balasubramanian T. Studies on diversity of marine actinobacteria from Tamilnadu part of bay of Bengal, India.