بررسی کارآئی روش ایمنوفلورسانس غیرمستقیم در تشخیص نوکاردیا

سید سعید اشراقی*[۱]، عبدالفتاح صراف نژاد[۲] ، شهناز مزده[۳]، نازیلا اساسی[۴]

۱) گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲) گروه پاتوبیولوژی، بخش ایمنی شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳) بیمارستان امام خمینی(ره)، دانشگاه علوم پزشکی تهران

٤) گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

نویسنده رابط: سید سعید اشراقی، دانشیار گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تلفن: ۸۸۹۷۳٦٦۰ همراه: ۰۹۱۲٦۳٦۳۱۳٤ eshraghs@sina.tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۳/۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۳/۲۲

چکیده :

زمینه و اهداف: نوکاردیوز بیماری عفونی خطرناکی است که معمولاً بواسطه ورود بعضی از گونه های نوکاردیا به دستگاه تنفسی و یا پوست آسیب دیده بوجود می آید. نوع ریوی بیماری شیوع بیشتری داشته و اغلب در اثر استنشاق آئروسل های حاوی نوکاردیا استروئیدس در میزبان مستعّد بوجود می آید، حال آن که نوکاردیا برازیلینسس نیاز به شرایط خاص میزبانی ندارد. جستجوی آنتی بادی در سرم کلیه افراد تحت مطالعه با استفاده از آزمون ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم (IFA)، ضمن اینکه بررسی رابطه سنّ، جنس، شغل، ابتلا به بیماریهای ریوی مزمن و مصرف داروهای کورتیکوستروئید با سطح آنتی بادی بدست آمده علیه نوکاردیا از اهداف دیگر این مطالعه بود.

روش بررسی: این مطالعه بر روی یک جمعیت ۳۰۰ نفری در مجتمع بیمارستانی امام خمینی(ره) تهران و به روش مقطعی انجام گرفت. افراد تحت مطالعه شامل ۷۹ بیمار بستری در بخش عفونتهای ریوی، ۱۲۱ نفر از کارکنان دارای مواجهۀ شغلی با عامل بیماری و نیز ۱۰۰ نفر از افراد سالم (اهدا کنندگان خون) بودند.

یافته ها: باوجود نادر بودن بیماری نوکاردیوز، ۴ نمونه (IFA) مثبت از بین افرادی که دارای بیماری زمینه ای بودند بدست آمد. این افراد بترتیب مبتلا به سل ریوی، ضایعه جلدی مایستوما، آبسه های متعدد و منتشره در ریه و کبد، و بیماری مزمن انسدادی ریه (COPD) بودند.

نتیجه گیری: یافته های این مطالعه نشان می دهد که احتمال ایجاد عفونت ریوی ثانویه در افراد در معرض خطر (ضعف سیستم ایمنی و دفاع آسیب دیده ریه ها، ضعف دفاع ایمنی سلّولی، بیماری های زمینه ای و پیوند عضو) وجود دارد. از طرفی تماس افرادی که هیچ گونه بیماری زمینه ای یا ضعف سیستم ایمنی نداشتند (پرستاران، بهیاران، کارگران و رفتگران مورد مطالعه که گروه سالم در معرض خطر محسوب میشوند) با مکانهای آلوده به نوکاردیا، باعث ابتلای آنها به نوکاردیوزیس نمی شود. از نتایج دیگر بدست آمده این بود که هیچ مورد مثبتی در گروه ٣٤ نفره از افراد مورد مطالعه با سابقه مصرف داروهای ایمونوساپرسیو دیده نشد. در نهایت بدلیل کم بودن موارد IFA مثبت، بین سنّ، جنس، شغل، ابتلا به بیماریهای ریوی و نیز ابتلای به سل ریوی، و حضور آنتی بادی علیه نوکاردیا ارتباط معنی داری بدست نیآمد.

کلید واژه ها: نوکاردیا استروئیدس، ضعف سیستم ایمنی، آزمون ایمنوفلوئرسانس غیر مستقیم (IFA)، بیماری مزمن انسدادی ریه (COPD)

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه:

به نظر می رسد در سال های اخیر بسیاری از بیماری هـای عفـونی مانند سل، ایدز، اعتیاد به مواد مخدر تزریقی، هپاتیت، بیماری هـای ایمنوساپرسیو، انواع سـرطانها، مصـرف مـداوم کورتیکوسـتروئیدها شـیوع بیشـتری پیـدا کـرده اسـت (۵-۱). اگـر چـه نوکاردیاهـا بطورگسترده در اکوسیستم آبی خـاکی و نیـز بقایـای آلـی گیاهـان پراکنده اند، لیکن هیچگاه به صورت کومنسال در بدن انسـان و یـا حیوانات یافت نشده اند (۸-۶). علیـرغم گزارشـاتی کـه در مـورد آلودگی در حیوانات از جمله سگ و گربه و خوکچه هنـدی وجـود دارد، هیچ شاهدی دال به انتقال تنفسـی از حیوانـات بـه انسـان در دسترس نیست و انتقال ازشخص مبتلا به شخص سالم نیز به اثبات نرسیده است (۱۰-۹). گزارشـهای منتشـر شـده در دنیـا از وجـود بیماران مبـتلا بـه نوکـاردیوز مهـاجم در بخشـهای پیونـد عضـو و انکولوژی (Oncology) خبر می دهد که تصّور میشـود ناشـی از استنشاق گرد و غبار آلوده بوده است (۱۷-۱۱). این بـاکتری اولـین بار در سال ۱۸۸۸ توسط یک دامپزشک فرانسوی بنام ادموند نوکارد از یک اسب مبتلا به مشمشه جدا گردید و در سال ۱۸۹۰ اپینجر آنرا به افتخار کاشف اولیه آن "نوکاردیا" نام نهادند (۹،۱۸). این بـاکتری رشته ای شکل، گرم مثبت، هوازی، نیمه اسید دوست، کاتالاز مثبت و از راسـته اکتینومایسـت مـی باشـد کـه همـراه بـا جـنس هـای مایکوباکتریوم، کرینه باکتریوم و رودوکوکوس خانواده نوکاردیـافرم را تشکیل می دهد. در پپتیدوگلیکان دیواره سـلّولی دارای مـزو دی آمینو پایملیک اسید (DAP) و قند هـای آرابینـوز و گـالاکتوز مـی باشند (۸،۹ و۲۳- ۱۹). جایگاه اصلی نوکاردیا خاک اسـت ولـی در آب، فاصلاب و بقایای آلی گیاهان نیز یافت می شـود. گونـه هـای پاتوژن درگرد و خاک منزل، شن و ماسـهٔ سـاحل، خـاک باغچـه و استخرهای شنا وجود دارد بیماری نوکاردیوز ریوی اغلـب در اثـر استنشاق و ورود آئروسـل هـای حامـل نوکاردیـا اسـتروئیدس بـه دستگاه تنفسی میزبان مستعد بوجود می آید. این باکتری شایع ترین و خطرناکترین گونهٔ پاتوژن انسانی محسوب می شود و عامل اصلی عفونت در جهاز تنفسـی اسـت کـه معمـولاً بـا ایجـاد آبسـه هـای متاستاتیک موجبات سیستمیک شدن بیماری را فراهم مـی کنـد (۵ و۱۱ و۲۵ -۲۱). ضعف سیستم ایمنی و دفاع آسیب دیدهٔ ریه ها که در طیف وسیعی از افراد آسیب پذیر دیده می شود، خطر ابـتلاء بـه نوکاردیوز ریـوی را افـزایش مـی دهـد (۱۴-۱۱ و۲-۵). نوکاردیـا برازیلینسیس و نوکاردیا کاویه نیز از گونـه دیگـر دخیـل در ایجـاد عفونت های انسانی می باشند ولی نیـاز بـه ضـعف سیسـتم ایمنـی میزبان نداشته و عفونت اولیه ایجاد می نمایند(۲۷-۲۶).

تشخیص بیماری بر مبنای یافتن میکروارگانیسـم در نمونـه بدسـت آمده از ضایعات ناشی از بیماری استوار است. نظر بـه اینکـه رشـد کامل باکتری حدود ۱ تا ٤ هفته طول می کشـد و در برخـی مـوارد بـرای بدسـت آوردن نمونـه مناسـب روشـهای تهـاجمی نظیـر برونکوسکوپی مورد نیاز است (۳۱-۲۸)، لذا امروزه برای پی بـردن به آلودگی نوکاردیایی علاوه بـر اسـتفاده از روشـهای سـرولوژی و بررسی آنتی بادی، از تکنیک های پیشرفته مولکولی نیز استفاده مـی گردد که از این طریق انجام نمونه گیری و تشخیص سریعتر امکـان پذیر بوده و قبل از پیشـرفت بیمـاری، جلـوی عـوارض غیـر قابـل برگشت و در نهایت مرگ و میر آنها گرفته می شود (۳۴-۳۲ و۲۲).

مواد و روش ها:

این مطالعه از نـوع توصـیفی بـوده و بـه روش مقطعـی –*Cross*) (*Sectional*با هدف کلی تعیین میزان شیوع آلودگی به نوکاردیـا در بیماران ایمنوساپرسیو و کارکنان در معـرض خطـر بیمارسـتان امـام خمینی(ره) انجام گرفته است. زمان پژوهش از مهرماه ۱۳۷۷ لغایت اردیبهشت ماه ۱۳۷۸ و مکان آن بیمارستان امام خمینی(ره)، سازمان انتقال خون و آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علـوم پزشـکی تهران بود. پرسشنامه به روش گردآوری اطلاعـات از جامعـه مـورد پژوهش طراحی شده بود. پس از تکمیل پرسشنامه، نمونه گیری بـا گرفتن ۵ میلی لیتر خون جهت انجام آزمون شروع و پس از انتقـال به دانشکده بهداشت، سـرم از نمونـه جـدا و هـر یـک در ۲ ویـال جداگانه تا زمان انجام آزمون در حرارت منهای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهـداری شـد. در ایـن تحقیـق از روش ایمونوفلوئورسـانس غیـر مستقیم[1] (IFA) که یک روش سـاده، ارزان و حسـاّس سـرولوژی بوده و قابل اجراء در اکثر آزمایشگاههاست، استفاده گردید.

الف- جامعه تحت پوشش، علل انتخـاب و تعـداد افـراد مـورد مطالعه:

۱-گروه بیماران بستری شده در بخش های عفـونی، ریـه، مراقبـت های ویژه (ICU) و پیوند اعضاء (۷۹نفر). لازم بـه ذکـر اسـت بـا توجه به نتایج مطالعه مشابه در بیماران بستری شده در بیمارسـتان دکتر شریعتی تهران که میـزان شـیوع آلـودگی حـدود ۴۰ درصـد حاصل شده، با در نظر گرفتن خطای نوع اول (α =۰/۰۵) و میزان خطایی برابر با ۰/ ۰۱، عدد ۹۲ بدست آمـد کـه تعـداد ۱۰۰ بیمـار

1. IFA = Indirect immunofluorescence assay.

Archive of SID

www.SID.ir

بستری در نظر گرفته شد ولی ۲۱ بیمار بدلایل مختلف از محاسبه حذف گردیدند.

۲-گروه کارکنان بیمارستان بدون هیچگونه بیماری زمینه ولی دارای مواجهه شغلی (۱۲۱نفر). برای این گروه تمامی پرسنل که شرایط ورود به مطالعه را داشتند در نظر گرفته شد.

۳- افراد سالم که جهت اهداء خون به سازمان انتقال خون مراجعه کرده بودند (۱۰۰ نفر). با توجه به اینکه میزان مورد انتظار آلودگی به نوکاردیا در افراد سالم جامعه نزدیک به صفر است، برای توصیف اولیه وضعیت آلودگی در جامعه، ۱۰۰ نمونه خون بصورت تصادفی از اهداء کنندگان گرفته شد.

ب- مواد و وسایل مورد نیاز:

بافر مونته از (BBL) ، مواد، معرفها، رنگها و محاولهای شیمیایی مانند ایوانس بلو، بافر (PBS)، سدیم آزاید از کمپانی های Merck SIGMA (&) ، کونژوگه (FITC) آنتی ایمنوگلوبولین انسانی کامل از (DAKO)، و سرم گاوی (Fetal Calf Serum) از کمپانی (Seromed). سایر مواد مانند ظروف شیشه ای، لام فلورسانس و غیره از شرکتهای داخلی تهیه گردید. دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج مناسب ۵۸۰ نانومتر و بهترین دانسیته میکروبی برای تهیه آنتی ژن حدود ۰/۰۳۲تعیین گردید)، میکروسکوپ فلورسانس مدل CETI، روتاتور و سایر دستگاها از آزمایشگاههای مجهز دانشکده بهداشت استفاده گردید.

ج- روش کار:

مراحل آزمون ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم:

۱- در ابتدا از سرم بیمار با PBS رقت های مختلف تهیه و آنها را به دمای اطاق رساندیم

۲- در هر لام سه چاهک بترتیب به کنترل مثبت، منفی و بافر PBS با $pH = 7.2$ اختصاص داده شد.

۳- حجم۱۰ میکرولیتر از سرم رقیق شده به ترتیب به چاهک های حاوی آنتی ژن اضافه شد. (سرم کنترل مثبت از یک بیمار نوکاردیوز ریوی که بیماری آن توسط کشت ثابت شده بود گرفته شد) برای سرم کنترل مثبت و منفی از رقت ۱/۸ سرم استفاده گردید.

٤- قرار دادن لام در اطاقک مرطوب به مدت نیم ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد.

۵- شستشوی لام: ابتدا لام را پس از خارج کردن از اطاقک مرطوب با چند قطره PBS به آرامی شسته و آن را در داخل جا لامی حاوی PBS به مدت ۱۰ دقیقه بر روی روتاتوری که سرعت آن ۵۰ دور در دقیقه بود قرار دادیم. پس از طی این مدت، لام را خارج کرده و دوباره با چند قطره PBS به آرامی شسته و با پوآر خشک نمودیم.

٦- به هریک از حفره‌ها ۱۰ میکرولیتر کونژوگه رقیق شده با PBS که حاوی (۱٪) FCS و چند قطره محلول رنگی ایوانس بلو است، اضافه نموده و سپس به مدت۳۰ دقیقه در اطاقک مرطوب در دمای $37\ ^{\circ}C$ قرار دادیم.

۷- انجام مراحل شستشو و خشک کردن مانند مرحلهٔ ۵

۸- با افزودن بافرمونته بر روی لام و قراردادن لامل، این مجموعه آمادهٔ مطالعه زیر میکروسکوپ IFA گردید.

برای کنترل صحت آزمون، از سرم هایی که واکنش مثبت نشان می‌دادند رقت های بالاتر تهیه و آزمایش برروی آنها تکرار گردید. اگر چه کجلستروم در سال ۱۹۹۳ با استفاده از تست های سرولوژی (Western Blot, IFA, ELISA) نشان داد که این تست ها برای نوکاردیوز کاملاً اختصاصی است. معذالک برای حذف واکنش های غیر اختصاصی مطالعه اثر واکنش متقاطع (Cross Reaction) سرم بیمار را با سوسپانسیون استرپتومایسز و اکتینومایسز واکنش جذب (Absorption) انجام گرفت که تفاوتی در تیتر مشاهده نگردید.

یافته ها:

افراد تحت مطالعه عبارت بودند از ۱۰۰ نفر (۳۳/۳٪) اهداء کننده خون، ۱۲۱ نفر (٤۰/۳٪) از کارکنان سالم دارای مواجهه شغلی، شامل پرستاران، بهیاران، کارگران و رفتگران و ۷۹ نفر (۲۶/۳٪) از بیماران بستری شده در بخش های عفونی، ریه، مراقبتهای ویژه (ICU) و پیوند اعضاء . جدول شماره ۱ ویژگیهای جمعیّت مورد مطالعه را به تفکیک موارد آنتی بادی مثبت، گروههای سنی، پراکندگی جنس و شغل نشان می دهد.

در جدول شماره ۲ توزیع فراوانی مطلق و نسبی جمعیّت مورد مطالعه براساس نتیجه آزمایش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم علیه نوکاردیا گنجانده شده است. در این مطالعه علیرغم نادر بودن بیماری، ٤ نمونه مثبت بدست آمد که از بین آنها یک نفر مبتلا به سل ریوی، یک نفر مبتلا به ضایعه جلدی مایستوما، یک بیمار مبتلا به آبسه منتشره در ریه و کبد و یک نفر نیز به بیماری مزمن انسدادی ریه طولانی مدت[۲] (**COPD**) مبتلا شده بود. نتایج اندازه گیری عیار آنتی بادی در ٤ بیمار سرولوژی مثبت نوکاردیا در جدول شماره ۳ درج گردیده است ضمن اینکه پراکندگی نوع

[۲] **COPD = Chronic obstructive pulmonary disease**

Archive of SID

www.SID.ir

بیماری زمینه ای در بیماران بستری شده در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.. لازم به ذکر است با وجود سابقه مصرف داروهای ایمونوساپرسیو در ۳٤ نفر از افراد مورد مطالعه، مورد مثبتی در آنها دیده نشد.

جدول۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی سرولوژی مثبت در جمعیّت مورد مطالعه براساس جنس،گروههای سنّی و شغل

جنس		مرد		زن		کل	
مشخّصات افراد		مثبت (درصد)	جمع (درصد)	مثبت (درصد)	جمع (درصد)	مثبت (درصد)	جمع (درصد)
گروههای سنّی(سال)	۱۰-۳۰	۰ (۰)	۳۰ (۱۰۰)	۰ (۰)	۱۵ (۱۰۰)	۰ (۰)	٤۵ (۱۰۰)
	۳۰-۵۰	۲ (۱/۹)	۱۰۳ (۱۰۰)	۰ (۰)	٦۰ (۱۰۰)	۲ (۱/۲)	۱٦۳ (۱۰۰)
	۵۰ -۷۰	۱ (۱/۹)	۵۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۳۲ (۱۰۰)	۱ (۱/۱)	۸٤ (۱۰۰)
	۷۰-۹۰	۰ (۰)	۷ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۰۰)	۱ (۱۲/۵)	۸ (۱۰۰)
شغل	محصّل	۰ (۰)	۵ (۱۰۰)	۰ (۰)	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	٦ (۱۰۰)
	پرستار و بهیار	۰ (۰)	۱۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۲۵ (۱۰۰)	۰ (۰)	۳٦ (۱۰۰)
	کارگر	۲ (٦/٦)	۳۰ (۱۰۰)	۰ (۰)	۱۵ (۱۰۰)	۲ (٤/٤)	٤۵ (۱۰۰)
	رفتگر	۱ (۲/۵)	٤۰ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱ (۲/۵)	٤۰ (۱۰۰)
	سایر مشاغل	۰ (۰)	۱۰٦ (۱۰۰)	۱ (۱/٤)	٦۷ (۱۰۰)	۱ (۰/۵)	۱۷۳ (۱۰۰)
جمع کل		**۳ (۱/۵)**	**۱۹۲ (۱۰۰)**	**۱ (۰/۹)**	**۱۰۸ (۱۰۰)**	**٤ (۱/۳)**	**۳۰۰ (۱۰۰)**

جدول ۲: توزیع فراوانی مطلق و نسبی جمعیّت مورد مطالعه براساس نتیجه آزمایش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم علیه نوکاردیا

جمعیت تحت مطالعه	مثبت	در صد	منفی	در صد	جمع
گروه سالم بدون مواجههء شغلی	۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
گروه سالم دارای مواجههء شغلی	۰	۰	۱۲۱	۱۰۰	۱۲۱
بیماران بستری تحت مطالعه	۴	۵	۷۵	۹۵	۷۹
جمع	**۴**	**۱/۳**	**۲۹۶**	**۹۸/۷**	**۳۰۰**

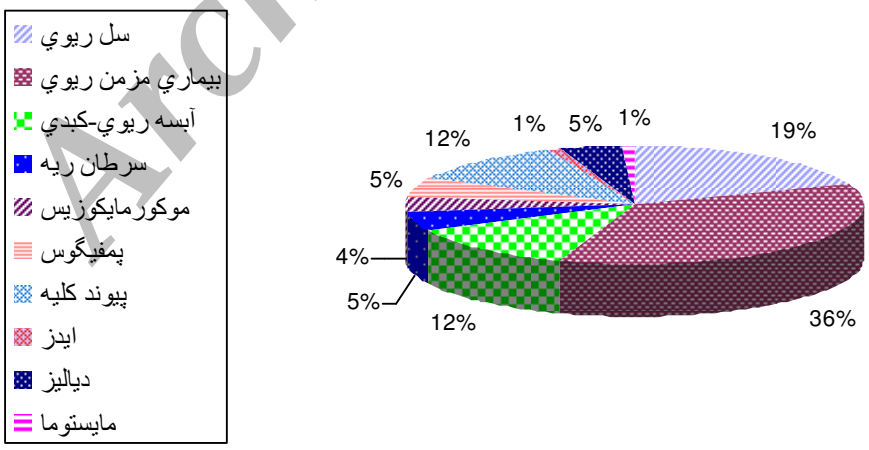
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳: نتایج عیار آنتی بادی در ٤ بیمار سرولوژی مثبت نوکاردیا

نوع بیماری	سنّ	جنس	شغل	سرم رقیق نشده کامل	رقت سرم رقیق شده				
					½	¼	⅛	1/16	1/32
مایستوما	۳۹	مرد	کارگر	++++	+++	+++	++	+	–
عفونت مزمن ریوی	۵۷	مرد	کارگر	++++	+++	+++	++	+	–
آبسه منتشره	۷۱	زن	خانه دار	+++	+++	++	++	+	–
سل ریوی	**٤۲**	**مرد**	**رفتگر**	++	+	–	–	–	–

نمودار شماره۱: پراکندگی نوع بیماری زمینه ای در بیماران بستری مورد مطالعه



بحث:

Archive of SID

www.SID.ir

سرکوب سیستم ایمنی خصوصاً عملکرد ناهنجار ایمنی سلّولی، زمینه را برای تهاجم نوکاردیا استروئیدس کمپلکس (استروئیدس، نووا و فارسینیکا) به ریه ها فراهم می کند (۳۹-۳۵). این فرایند اغلب در گیرندگان عضو مانند پیوند کلیه، کبد، قلب و مغز استخوان دیده می شود (۱۳-۱۰). آمفیزم ریوی، برونشکتازی، عفونتهای مزمن ریوی، امپیم، مصرف مداوم کورتیکوستروئیدها، ایدز، انواع سرطانها و بطور کلّی تمام کسانی که به هر دلیل سیستم دفاع سلّولی آنها تضعیف شده باشد، در معرض ابتلاء به نوکاردیوز ریوی می باشند(۷-۱). در حالیکه ابتلاء به نوکاردیوز غیر ریوی که با تهاجم نوکاردیا برازیلینسیس، نوکاردیا کاویه و غیره ممکنست رخ دهد، نیاز به ضعف سیستم ایمنی میزبان نداشته و عفونت اولیه ایجاد می نمایند (۲۷-۲۶).

پیوند مغز استخوان یکی از عوامل خطرساز (Risk factors) و مهم بوده و متوسط زمان لازم برای موفقیّت پس از دریافت پیوند، ۲۱۰ روز تخمین زده شده است که این زمان برای رشد نوکاردیا کافی است (۱۶، ۱۲). از طرفی انسیدانس بیماری نوکاردیوز بین گیرندگان پیوند کلیه بین صفر تا۲۰ در صد برآورده شده است (۴۲،۳۹،۱۱) و ابتلا به این بیماری عامل مهم در افزایش میزان ناتوانی و مرگ و میر در این گروه از بیماران به شمار می آید. از آنجا که علائم بالینی و رادیولوژیک مبتلایان به نوکاردیوز ریوی مشابه سل ریوی میباشد، بررسی نوکاردیا بخصوص در بیماران HIV مثبت که با علائم ریوی مراجعه می کنند و یافته مثبتی به نفع سل ریوی (TB) ندارند، امری ضروری به نظر می رسد (۳-۲).

با بررسی بانک های علمی و اطلاعاتی، مقالات متعددی در سراسر دنیا درباره نوکاردیا به چاپ رسیده که این باکتری را به عنوان عامل اصلی نوکاردیوز ریوی معرفی کرده اند (۱۳-۱۰). لوپز و همکارانش درتحقیقات خود عنوان می دارند که اگرچه نوکاردیا در خاک به صورت ساپروفیت زندگی می کند، اما در انسان و حیوانات به شکل کومنسال یافت نمی شود، ضمن اینکه عفونت های نوکاردیایی اغلب در ریه جایگزین شده و بین عفونت نوکاردیایی و بعضی بیماری های زمینه ای یک رابطه مستحکم وجود دارد (۶). با این وجود این محققین معتقدند حداقل ۱۵ درصد بیماران مبتلا به نوکاردیوزیوز ریوی هیچ بیماری زمینه ای ندارند (۴۱-۴۰). در ایران نیز پژوهشهای متعدّدی انجام شده که بعضی از آنها به گزارشهای موردی پرداخته است (۴۲ و۳۲ و۲۲)، دراغلب مطالعات انجام شده تاکید به این نکته شده است که تشخیص بالینی بیماری نوکاردیوز در مراحل اولیه به آسانی میسّر نبوده و نیاز به انجام آزمایشات پاراکلینیکی دارد (۵-۱و ۱۲-۱۱)، بنابراین بایستی در هر بیمار با ضایعه یا عفونت ریوی که بدنبال عفونت ها و بیماریهای زمینه ای بوجود می آید، به حضور نوکاردیا در عفونت توجه کرد و انجام آزمایشات پاراکلینیکی را جهت تشخیص قطعی مدّ نظر قرار داد.

روش کشت بعنوان یک روش پایه و نیز استاندارد طلائی سالهاست که در آزمایشگاهها کاربرد دارد، امّا در مورد باکتری های کند رشد مانند نوکاردیا، روش مناسبی برای تشخیص سریع نیست. تهیه لام مستقیم از نمونه خلط بیمار نوکاردیائی نیز بدلیل مخلوط شدن با ترشحات دهان از دقت لازم برخوردار نمی باشد. لذا تهیه نمونه های بیوپسی و لاواژ به تشخیص کمک می نماید (۴۴-۴۳ و۳۱-۲۸). با وجود این، بعلّت پائین بودن سرعت و حساّسیت تشخیص، نیاز به استفاده از روشهای سریع و مطمئن تری احساس می شود. روشها و تست های سرولوژیک (IFA, ELISA, Western-blot, Enzyme Immunoassay) که کاربرد زیادی در تشخیص نوکاردیوز دارد، قادر است بسیاری از نقاط ضعف روش کشت را جبران نماید (۳۴-۳۲ و۲۲). نظر به اینکه امروزه تکنیکهای مولکولی پیشرفته ای نظیر PCR 16S rDNA, DNA Probing, PCR fingerprinting کاربرد PCR Assay, PCR RFLP بسیاری پیدا نموده (۲۵و۴۷-۴۴) لذا با برخورداری مراکز علمی، تحقیقاتی و دانشگاهی از دستگاههای پیشرفته، بتدریج امکان تشخیص قطعی باکتری فراهم می گردد. اگر چه هنوز از نظر اقتصادی امکان بهره برداری از از تکنیکهای پیشرفته مولکولی برای تشخیص باکتری در آزمایشگاه های تشخیص طبی و مراکز درمانی فراهم نشده است، لیکن جای امیدواری است که با بودجه های تخصیصی مربوط به بخش تحقیقات بخصوص در دانشگاههای کشور این مهم هرچه سریعتر محقّق شود.

مطالعه حاضر بر روی یک جمعیت ۳۰۰ نفری در مجتمع بیمارستانی امام خمینی(ره) تهران و بروش مقطعی انجام گرفت. افراد تحت مطالعه شامل ۷۹ بیمار بستری در بخش عفونت های ریوی، ۱۲۱ نفر از کارکنان دارای مواجههٔ شغلی با عامل بیماری و نیز ۱۰۰ نفر از افراد سالم (اهدا کنندگان خون) بودند. بیماران بستری شده مورد مطالعه عمدتاً مبتلا به بیماریهایی بودند که به علّت پاتوژنز خاّص آن بیماری و یا نیاز به مصرف داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی، زمینه جهت آلودگی به نوکاردیا در آنها فراهم شده بود. با توجه به نتایج بدست آمده، در هیچ یک از

Archive of SID

www.SID.ir

اهداء کنندگان خون که به سازمان انتقال خون مراجعه کرده بودند و ۳۳/۳ درصد از کل جمعیت مورد مطالعه را تشکیل می دادند، آزمون IFA مثبت نگردید. این نتیجه بیانگر این نکته است که بدون زمینه خاّص و ضعف سیستم ایمنی، آلودگی به نوکاردیا دیده نمی شود. از طرفی در هیچ یک از افراد سالم دارای مواجههء شغلی که حدود ٤٠ در صد کّل جمعیت مورد مطالعه را تشکیل می دادند نیز آنتی بادی علیه نوکاردیا یافت نشد و این تاکیدی بر این مطلب است که داشتن بیماری زمینه ای، فاکتور اصلی آلودگی به نوکاردیا است. نداشتن آزمون مثبت IFA حتی در رقّتهای کم در کارگران و رفتگران مورد بررسی، نشان می دهد که تماس با مکانهای حاوی میکروارگانیسم در صورت نبودن بیماری زمینه ای، نقشی در بیماریزایی ندارد. علی رغم نتایج بدست آمده در دنیا مبنی بر استعداد زیاد مصرف کنندگان داروهای ایمونوساپرسیو به عنوان یکی میزبانان بیماری نوکاردیوز، در ٣٤ نفر از افراد بستری مورد مطالعه که سابقه مصرف داروهای ایمونوساپرسیو داشتند هیچ مورد مثبتی دیده نشد. بعبارت دیگر موارد مثبت آزمون IFA، ارتباط معنی داری را با مصرف داروهای ایمونوساپرسیو نشان نداد، اما یافتن نمونه های مثبت بخصوص در افراد با بیماری های زمینه ای، مؤیّد این نظریه است که اولاً ابتلاء به نوکاردیوز در ایران امر غیر شایعی نیست و ثانیاً این یافته نفی کننده وجود آنتی بادی در این گروه نمی باشد. در این رابطه بنظر میرسد نیاز به مطالعه بر روی تعداد بیشتری از بیماران ایمنوساپرسیو باشد. در این مطالعه علیرغم نادر بودن بیماری، ٤ نمونه مثبت بدست آمد که از بین آنها یک نفر به سل ریوی، یک نفر به ضایعه جلدی مایستوما، یک نفر به آبسه منتشره ریه و کبد و یک نفر نیز به بیماری مزمن انسدادی ریه طولانی مدت مبتلا بودند.

نتیجه گیری:

یافته های این مطالعه نشان می دهد که احتمال ایجاد عفونت ریوی ثانویه در افراد در معرض خطر (ضعف سیستم ایمنی و دفاع آسیب دیده ریه ها، ضعف دفاع ایمنی سلّولی، بیماری های زمینه ای و پیوند عضو) وجود دارد. از طرفی تماس افرادی که هیچ گونه بیماری زمینه ای یا ضعف سیستم ایمنی نداشتند (پرستاران، بهیاران، کارگران و رفتگران مورد مطالعه که گروه سالم در معرض خطر محسوب میشوند) با مکانهای آلوده به نوکاردیا، باعث ابتلای آنها به نوکاردیوزیس نمی شود. از نتایج دیگر بدست آمده این بود که هیچ مورد مثبتی در گروه ٣٤ نفره از افراد مورد مطالعه با سابقه مصرف داروهای ایمونوساپرسیو دیده نشد. در نهایت بدلیل کم بودن موارد IFA مثبت، بین سنّ، جنس، شغل، ابتلا به بیماریهای ریوی و نیز ابتلای به سل ریوی، و حضور آنتی بادی علیه نوکاردیا ارتباط معنی داری بدست نیآمد.

فهرست مراجع:

1. Huang HC, Yu WL, Shieh CC, Cheng KC, Cheng HH. Unusual mixed infection of thoracic empyema caused by *Mycobacteria tuberculosis*, nontuberculosis *mycobacteria* and *Nocardia asteroides* in a woman with systemic lupus erythematosus. *J Infect*. 2007; **54**: 25-28.
2. Jinno S, Jirakulaporn T, Bankowski MJ, Kim W, Wong R.A Rare Case of *Nocardia asteroides* Pericarditis In An HIV-Infected Patient. *J Clin Microbiol*. 2007; **16**: (Epub ahead of print).
3. Soto-Hernandez JL, Moreno-Andrade T, Gongora-Rivera F, Ramirez-Crescencio MA. *Nocardia* abscess during treatment of brain toxoplasmosis in a patient with AIDS, utility of proton MR spectroscopy and diffusion-weighted imaging in diagnosis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2006; **108**: 493-498.
4. Chow E, Moore T, Deville J, Nielsen K. *Nocardia asteroides* brain abscesses and meningitis in an immunocompromized 10-year-old child. *Scand J Infect Dis*. 2005; **37**: 511-513.
5. Baldi BG, Santana AN, Takagaki TY. Pulmonary and cutaneous nocardiosis in a patient treated with corticosteroids. *J Bras Pneumol*. 2006; **32**: 592-595.
6. Lopez, E, Ferrero M, Lumbreras C, Gimeno C, González-Pinto I, Palengue E. "A case of testicular nocardiosis and literature review". *Euro J Clin Microbiology infect Dis.* 1994; **13:** 310 -313.
7. Agterof MJ, van der Bruggen T, Tersmette M, Ter Borg EJ, van den Bosch JM, Biesma DH. Nocardiosis: a case series and a mini review of clinical and microbiological features. *Neth J Med*. 2007; **65**: 199-202.

Archive of SID

www.SID.ir

8. Conville PS, Witebsky FG. *Nocardia* and other aerobic Actinomycetes. In: Topley & Wilson's. SP Borriello, PR Murray, G Funke eds: A Text book of Microbiology, Vol.2 Bacteriology, 10th ed. Hodder Arnold. 2005; pp: 1153-1166.
9. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Nocardia, Streptomyces, Rhodococcus,* and Similar Organisms. In: Bailey & Scott's. Diagnostic Microbiology: A Text book of Microbiology. 12th ed. MOSBY, Elsevier. 2007; pp: 311-322.
10. Wingard JR. The changing face of invasive fungal infections in hematopoietic cell transplant recipients. *Curr Opin Oncol*. 2005; **17**: 89-92. Review.
11. Ozturk S, Tufan F, Alisir S, Gorcin S, Guven D, Cagatay A, Turkmen A. A case of isolated *Nocardia asteroides* brain abscess in a kidney transplant recipient. *Transplant Proc*. 2006; **38**: 3121-3124.
12. Laurence AD, Peggs KS. Cerebral and pulmonary *Nocardia* in a bone marrow transplant patient. *Br J Haematol*. 2005; **129**: 711.
13. Oszoyoglu AA, Kirsch J, Mohammed TL. Pulmonary nocardiosis after lung transplantation: CT findings in 7 patients and review of the literature. *J Thorac Imaging*. 2007; **22**: 143-148.
14. Apostolakis S, Chalkiadakis I, Ventouri M, Maraki S, Tsoussis S. Lymphocutaneous nocardiosis in a lymphopenic breast cancer patient under treatment with docetaxel. *Breast J*. 2005; **11**: 469-472.
15. Yamada SM, Nakai E, Toyonaga S, Nakabayashi H, Park KC, Shimizu K. A rapidly enlarging Nocardial brain abscess mimicking malignant glioma. *J Nippon Med Sch*. 2005; **72**: 308-311.
16. Lin JT, Lee MY, Hsiao LT, Yang MH, Chao TC, Chen PM, Chiou TJ.Pulmonary nocardiosis in a patient with CML relapse undergoing imatinib therapy after bone marrow transplantation. *Ann Hematol*. 2004; **83**: 444-446.
17. Whyte M, Irving H, O'Regan P, Nissen M, Siebert D, Labrom R.Disseminated Scedosporium prolificans infection and survival of a child with acute lymphoblastic leukemia.*Pediatr Infect Dis J*. 2005; **24**: 375-377.
18. Sorrel TC, Mitchell DH, Iredell JR. Nocardiosis. In: GL Mandell, RG Douglas and JE Bennett, eds. Principles and practice of infectious diseases: A Text book of infectious Diseases 6th ed. Churchill Livingstone.2005; Vol 2. pp: 2916-2924.
19. Filice GA. Nocardiosis. In: Harison's. DL Kasper, E Braunwald, AS Fauci, SL Hauser, DL Longo, JL Jameson eds. Principles of Internal Medicine: A Text book of infectious Diseases. 16th ed. McGraw-Hill. 2005; pp: 934-937.
20. Kilincer C, Hamamcioglu MK, Simsek O, Hicdonmez T, Aydoslu B, Tansel O and *et al*. Nocardial brain abscess: review of clinical management. *J Clin Neurosci*. 2006; **13**: 481-485.
21. Ramulu HG, Adindla S, Guruprasad L.Analysis and modeling of mycolyl-transferases in the CMN group. *Bioinformation*. 2006; **18**:161-169.
22. Eshraghi S, Amin M. Pulmonary Nocardiosis associated with Cushing's Syndrome, *Pak J Med Sci*. 2004; **20**: 18-23.
23. O'Neill E, Fitzpatrick F, Smyth E. Nocardial brain abscess: an unusual cause of acute confusion. *Ir Med J*. 2005; **98**: 116.
24. Menku A, Kurtsoy A, Tucer B, Yildiz O, Akdemir H. Nocardial brain abscess mimicking brain tumour in immunocompetent patients: report of two cases and review of the literature. *Acta Neurochir* (Wien). 2004; **146**: 411-414.
25. Yamamura H, Hayakawa M, Nakagawa Y, Iimura Y. Characterization of *Nocardia asteroides* isolates from different ecological habitats on the basis of repetitive extragenic palindromic-PCR fingerprinting. *Appl Environ Microbiol*. 2004; **70**: 3149-3151.
26. Ahmed AA, van de Sande WW, Fahal A, Bakker-Woudenberg I, Verbrugh H, van Belkum A. Management of mycetoma: major challenge in tropical mycoses with limited international recognition. *Curr Opin Infect Dis*. 2007; **20**: 146-151. Review
27. George SJ, Rivera AM, Hsu S. Disseminated cutaneous nocardiosis mimicking cellulitis and erythema nodosum. *Dermatol Online J*. 2006; **12**: 13.
28. Shaikh MA, Byrd RP Jr, Roy TM. Pulmonary nocardiosis: an unusual cause of a solitary pulmonary nodule. *J Ky Med Assoc*. 2006; **104**: 184-189.
29. Kumar N, Ayinla R. Endobronchial pulmonary nocardiosis. *Mt Sinai J Med*. 2006; **73**: 617-619.
30. Gowrinath K, Das S, Ranjitham M, Sekhar U, Thanasekaraan V. Nocardial

Archive of SID

www.SID.ir

hydropneumothorax. *Indian J Chest Dis Allied Sci*. 2004; **46**: 51-53.
31. Kawkitinarong K, Sittipunt C, Wongtim S, Udompanich V. Pulmonary alveolar proteinosis: a report of seven patients from King Chulalongkorn Memorial Hospital. *J Med Assoc Thai*. 2005; **88**: 312-316.
32. Eshraghi S, Sarrafnejad AF, Taheri Roudsary H. A diagnostic study of Nocardiosis patients being confined in Shareati Training Hospital in Tehran, using cultural and serological methods. *Pak J Med Sci*, 2005; **21**: 345-351.
33. Salinas-Carmona MC, Perez-Rivera I.Humoral immunity through immunoglobulin M protects mice from an experimental actinomycetoma infection by *Nocardia brasiliensis*. *Infect Immun*. 2004; **72**: 5597-5604.
34. Ellis TN, Beaman BL.Murine polymorphonuclear neutrophils produce interferon-gamma in response to pulmonary infection with *Nocardia asteroides. J Leukoc Biol*. 2002; **72**: 373-381.
35. Salinas-Carmona MC, Perez-Rivera I. Humoral immunity through immunoglobulin M protects mice from an experimental actinomycetoma infection by *Nocardia brasiliensis*. *Infect Immun*. 2004; **72**: 5597-5604.
36. Brown JM, Cowley KD, Manninen KI, McNeil MM. Phenotypic and molecular epidemiologic evaluation of a *Nocardia farcinica* mastitis epizootic. *Vet Microbiol*. 2007; **6** (Epub ahead of print).
37. Cremades MJ., Menendez R, Santos M, Gobernado M. Repeated pulmonary infection by *Nocardia asteroides* complex in a patient with bronchiectasis. *Respiration*. 1998; **65**: 211-213.
38. Liff DA, Kraft C, Pohlel K, Wade J, Franco-Paredes C, Chen EP, Clements S Jr, Sperling L. *Nocardia nova* aortitis after coronary artery bypass surgery. *J Am Soc Echocardiogr*. 2007; **20**: 537.e7-8.
39. Sharma M, Gilbert BC, Benz RL, Santoro J. Disseminated *Nocardia otitidiscaviarum* infection in a woman with sickle cell anemia and end-stage renal disease. *Am J Med Sci*. 2007; **333**: 372-375.
40. Perez-Camarero E, Marti J, Idigoras I, Anton E. Pulmonary nocardiosis in non-immunocompromised patient. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1999; **17**: 476-478.
41. Brechot JM, Capron F, Prudent J, Rochemaure J. Unexpected pulmonary nocardiosis in a non-immunocompromised patient. *Thorax*. 1987; **42**: 479-480.
42. Pourmand G, Jazaeri SA, Mehrsai A, Kalhori S, Afshar K Nocardiosis: report of four cases in renal transplant recipients. Renal Transplantation Unit, Sina Hospital, Tehran University of Medical Sciences, *Iran Transplant Proc.* 1995; **27**: 2731-2733.
43. Gouriet F, Fenollar F, Patrice JY, Drancourt M, Raoult D. Use of shell-vial cell culture assay for isolation of bacteria from clinical specimens: 13 years of experience *J Clin Microbiol.* 2005; **43**: 4993-5002.
44. Wanner TJ, Gerhardt SG, Diette GB, Rosenthal DL, Orens JB. The utility of cytopathology testing in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2005; **24**: 870-874.
45. Valenzuela-Tovar JF, Contreras-Perez C, Shibayama-Hernandez H, Chavez-Gonzalez L, Vazquez-Chacon CA, Olivera-Diaz H. Biochemical identification and molecular characterization (PCR-RFLP) of *Nocardia* isolates from sputum. *Arch Med Res*. 2005; **36**: 356-361.
46. Brown JM, Pham KN, McNeil MM, Lasker BA.Rapid identification of *Nocardia farcinica* clinical isolates by a PCR assay targeting a 314-base-pair species-specific DNA fragment. *J Clin Microbiol*. 2004; **42**: 3655-3660.
47. Wada R, Itabashi C, Nakayama Y, Ono Y, Murakami C, Yagihashi S.Chronic granulomatous pleuritis caused by *Nocardia*: PCR based diagnosis by nocardial 16S rDNA in pathological specimens. *J Clin Pathol*. 2003; **56**:966-969.

Archive of SID

www.SID.ir