

Case Report

Isolation of *Nocardia cyriacigeorgica* from brain abscess

Sepehr Navid¹ , Mehdi Khorshidi¹, Behnam Sisakhtpour¹, Masoud Keikha^{2*} 

¹ Department of Medical Microbiology, School of medicine, Isfahan university of medical sciences, Isfahan, Iran.

² Department of Medical Microbiology, School of medicine, Mashhad university of medical sciences, Mashhad, Iran

*Corresponding author; E-mail: masoudkeikha@outlook.com

Received: 20 April 2017 Accepted: 21 May 2017 First Published online: 13 December 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):106-111

Abstract

Background: *Nocardia* are filamentous, aerobic, gram positive and partially acid fast bacteria that lives in environmental sources such as: water, soil and dust. This bacteria are cause of respiratory, neurological and cutaneous infection in both of immunocompromised and immunocompetent patients.

Methods: A 20-year-old man with no history of a certain disease symptoms such as headache, weakness, drowsiness and urinary incontinence was referred to Al-Zahra hospital. Bacteria were isolated from the patient's brain abscess based on microscopic examination, culture, biochemical characteristics and molecular were identified as *Nocardia cyriacigeorgica*. And according to result of antibiogram, this patient was treated by prescription of cotrimoxazol, amikacin and linezolid.


Conclusion: Nocardial brain abscess can be seen in both of immunocompromised and immunocompetent patients that if was not diagnosed and appropriate treatment was not prescribed could associate with high mortality.

Keywords: *Nocardia cyriacigeorgica*, brain abscess, Infection, 16SrRNA

How to cite this article: Navid S, Khorshidi M, Sisakhtpour B, Keikha M. [Isolation of *Nocardia cyriacigeorgica* from brain abscess]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):106-111. Persian.

گزارش موردی

جداسازی نوکاردیا سیریاسیجورجیکا از آبسه مغزی

سپهر نوید^۱، مهدی خورشیدی^۱، بهنام سی سخت پور^۱، مسعود کیخا^{۲*} 

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
^۲ گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
* نویسنده مسوول؛ ایمیل: masoudkeikha@outlook.com

دریافت: ۱۳۹۶/۱/۳۱ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۱ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. آذر و دی ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۱۰۶-۱۱۱

چکیده

نوکاردیا باکتری رشته ای هوازی، گرم مثبت با خاصیت اسید فاست نسبی است که در منابع محیطی از قبیل آب، خاک و ذرات گرد و غبار زندگی می کند. این باکتری ها قادرند که عفونت های تنفسی، عصبی و جلدی را در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی و افراد سالم پدید آورند. یک مرد ۲۰ ساله بدون سابقه بیماری خاص به علت سردرد، ضعف، خواب آلودگی و بی اختیاری ادرار به بیمارستان الزهرا اصفهان مراجعه نمود. باکتری جدا شده از آبسه مغزی این بیمار با توجه به بررسی های میکروسکوپی، کشت و خصوصیات بیوشیمیایی و بررسی مولکولی به عنوان نوکاردیا سیریاسیجورجیکا شناسایی شد. و با توجه به نتایج آنتی بیوگرام، این بیمار با تجویز کوتریموکسازول، آمیکاسین و لنزولاید درمان شد. آبسه های مغزی نوکاردیایی در بیماران نقص سیستم ایمنی و حتی افراد سالم نیز مشاهده می شوند که در صورت عدم تشخیص صحیح و درمان مؤثر مرگ و میر بالایی دارند.

کلید واژه ها: نوکاردیا سیریاسیجورجیکا، آبسه مغزی، عفونت، 16SrRNA

نحوه استناد به این مقاله: نوید س، خورشیدی م، سی سخت پور ب، کیخا م. جداسازی نوکاردیا سیریاسیجورجیکا از آبسه مغزی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۱۰۶-۱۱۱

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

نوکاردیا، باکتری رشته‌ای گرم مثبت، فاقد اسپور، هوازی و کند رشد می‌باشد (۱). گونه‌های نوکاردیا به صورت آزاد در منابع محیطی سراسر جهان زندگی می‌کنند و از طریق ذرات گرد و غبار و تلقیح تروماتیک وارد بدن انسان‌ها شده و عفونت‌های تنفسی، عصبی، جلدی، زیرجلدی، جلدی-لنفوی و مایستومایی را در بیماران نقص سیستم ایمنی و حتی افراد دارای سیستم ایمنی کارآمد به وجود می‌آورند (۲-۳). اعضای نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس براساس الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در ۶ گروه طبقه‌بندی می‌شوند. براساس مطالعات مولکولی گونه‌های نوکاردیایی که الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیک گروه ششم را نشان می‌دهند (مقاومت به پنی‌سیلین‌ها و حساسیت در برابر سفالسپورین‌های وسیع الطیف) به عنوان نوکاردیا سیریاسیجورجیکا (*Nocardia cyriacigeorgica*) شناخته می‌شوند (۱). نوکاردیا سیریاسیجورجیکا برای اولین بار در جهان در سال ۲۰۰۱ از بیمار مبتلا به برونشیت مزمن جداسازی و گزارش شد. این باکتری یکی از مهم‌ترین گونه‌های پاتوژن نوکاردیایی در سراسر جهان به شمار می‌آید بطوریکه امروزه گزارشات متعددی از عفونت‌های سستی - سمی، آبسه مغزی، کراتیت، آمپیم پلور و عفونت‌های تنفسی این گونه وجود دارد (۴).

مطالعه حاضر گزارش موردی در خصوص جداسازی نوکاردیا سیریاسیجورجیکا از آبسه مغزی بیمار سالم از نظر سیستم ایمنی است.

گزارش مورد

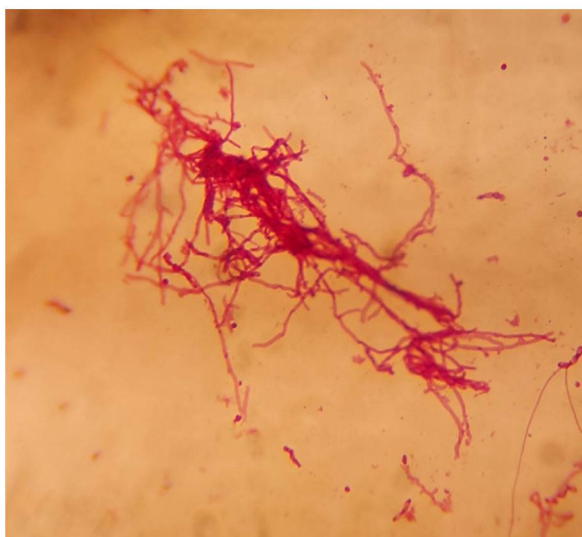
مرد بیست ساله ای بدون سابقه بیماری خاص به علت سردرد، ضعف، خواب آلودگی و بی‌اختیاری ادرار به بیمارستان الزهرا (س) مراجعه نمود. بیمار تب، لرز و حالت تهوع نداشت و در معاینات دقیق تر $GCS=532$ و مردمکهای مید سایز و ری‌اکتیو داشت. در معاینات رادیولوژیک ضایعه هیپودنس سمت چپ با شیفت میدلاین بدون هیدروسفالی و هماتوم حاد مشاهده شد (شکل ۱) و در نتایج آزمایشات برای این بیمار قند تصادفی ۷۲ mg/dL، نیتروژن اوره خون (BUN) 8 mg/dL ، کراتینین 1.0 mg/dL ، سدیم 141 mEq/l ، پتاسیم 4.8 mEq/l ، WBC 5200 ، Hb 11.4 g/dL ، Hematocrit 34.7% ، MCV 91.8 fL ، Neutrophils 58.8% ، Platelets 242000 بود. بیمار با تشخیص اولیه سابدورال آمپیم تحت عمل جراحی قرار گرفت و آبسه مغزی مشاهده شد و ترشحات آن تخلیه و به آزمایشگاه ارسال شد.

در آزمایشگاه میکروب شناسی ترشحات بیمار بر روی محیط - های بلاد آگار و شکلات آگار و در دمای 37°C انکوبه گردید. بعد از ۴ روز کلنی‌های سفید گچی کوچک مشاهده گردید. کلنی‌های

موجود توسط رنگ‌آمیزی گرم، ذیل نلسون و کانیون بررسی شد که طی بررسی میکروسکوپی باکتری‌های رشته‌ای و کوکوباسیل‌های گرم مثبت و اسیدفاست نسبی مشاهده شد (شکل ۲). کلنی‌های حاصل بر روی محیط ژلوز گلوکوز عصاره مخمر (GYEA) که یک لیتر آن حاوی ۱۰۰ گرم گلوکز، ۱۵ گرم آگار و ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۵۰ درصد عصاره قارچ می‌باشد، ساب کالچر داده شدند. با توجه به نتایج بررسی‌های میکروسکوپی و مورفولوژی کلنی، باکتری مورد نظر مشکوک به نوکاردیا گزارش گردید. باکتری مشکوک توسط تست‌های بیوشیمیایی از قبیل: مقاومت به لیزوزیم، تجزیه گزانتین، هیپوگزانتین، تیروزین و کازئین، احیای نیترات، تجزیه اوره و سیترات و رشد در دمای 45°C و تجزیه و تحلیل توالی ژن 16S rRNA مورد شناسایی قرار گرفت (۵،۱). برای شناسایی مولکولی باکتری مورد نظر ابتدا ژنوم باکتری (با توجه به نوکاردیا بودن) با روش Pitcher استخراج شد (۶). سپس شناسایی گونه با استفاده از یک منطقه 596 bp از ژن 16S rRNA به کمک پرایمرهای $5'-\text{ACCGACCACAAGGGG}-3'$ (Forward) NG1 و $5'-\text{GGTTGTAACCTCTCGA}-3'$ (Reverse) NG2 در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) تکثیر شد؛ فرآیند تکثیر DNA با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر بافر $X10$ ، 0.8 MgCl_2 ، 0.4 dNTP ، 0.5 میکرولیتر از هر پرایمر، 0.25 میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase، $2/5$ میکرولیتر DNA و آب مقطر بود. برنامه دمایی PCR شامل: واسرشت اولیه (Initial denaturation) در 94°C به مدت ۱۱ دقیقه، و سی دوره شامل: یک دقیقه واسرشت (Denaturation) در 94°C ؛ اتصال (Annealing) در دمای 55°C به مدت ۲۰ ثانیه و یک دقیقه گسترش (Extension) در 72°C همچنین در پایان گسترش نهایی (Final extension) به مدت ده دقیقه در دمای 72°C انجام شد (۷). در نهایت محصول PCR بر روی ژل آگارز $1/5$ درصد در ولتاژ ۹۵ میلی‌ولت الکتروفورز (شکل ۳) و جهت تعیین توالی برای شرکت مربوطه ارسال شد. توالی نوکلئوتیدی این ایزوله به کمک نرم افزار Blast (موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI) بررسی شد و شباهت توالی باکتری مورد نظر با اطلاعات موجود در GenBank مقایسه گردید. با توجه به نتایج تست‌های بیوشیمیایی و مولکولی باکتری مورد نظر به عنوان نوکاردیا سیریاسیجورجیکا شناسایی شد. با توجه به شرایط بیمار و نتایج آنتی‌بیوگرام باکتری مورد نظر برای بیمار داروهای کوتریموکسازول، لینزولاید، آمیکاسین، فنی‌توئین، رانیتیدین، سرتالین و آمپول امنی‌اسکن تجویز شد.



شکل ۱: CT اسکن مغز بیمار



شکل ۲: رنگ آمیزی کانیون (اسید فاست نسبی)



شکل ۳: الکتروفورز قسمتی از ژن ۱۶ rRNA (قطعه ۵۹۶ جفت باز) ستون سمت چپ نشانگر DNA ستون وسط کنترل مثبت نوکاردیا آستروئیدس ATCC 14759 و ستون سمت راست نوکاردیا جدا شده از بیمار

بحث

خود راه یافته و عفونت‌های ریوی، عصبی و جلدی را به وجود می‌آورد. با توجه به مشکلاتی که در رابطه با تشخیص عفونت‌های نوکاریایی وجود دارد، تشخیص صحیح عفونت‌های نوکاریایی بیماران به ویژه بیماران نقص سیستم ایمنی، از اقدامات مهم و اساسی در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی به حساب می‌آید.

قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد آقای سپهر نوید به شماره ۳۹۵۰۸۰ می‌باشد. پژوهش حاضر در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گرفت. از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به خاطر حمایت و ایجاد زمینه اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مالی

حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی تحت شماره گزنت ۳۹۵۰۸۰ از طرف دانشگاه علوم پزشکی اصفهان صورت پذیرفته است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارد.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأیید اخلاقی شده و با کد IR.MUI.REC.1395.3.080 در سامانه ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران به ثبت رسیده است.

مشارکت مولفان

نوید س و کیخا م، بیماری‌یابی و انجام آزمایشات، خورشیدی م و سی سخت پور ب، نگارش اولیه مقاله، کیخا م، ویرایش و اصلاحات مقاله، تمام همکاران نسخه نهایی را مطالعه و برای ارسال به مجله دانشگاه علوم پزشکی تبریز تأیید کرده اند.

آبسه‌های نوکاریایی ۲٪ از آبسه‌های مغزی را به خود اختصاص می‌دهند و بیشتر بیماران نقص سیستم ایمنی را درگیر می‌کنند. در جریان آبسه‌های مغزی نوکاریایی در بیشتر موارد، کانون عفونت در سایر نقاط بدن از جمله ریه قرار دارد و توسط جریان خون به سیستم عصبی انتشار می‌یابد. هر چند آمار و ارقام آبسه‌های مغزی حاصل از گونه‌های نوکاریا در مقایسه با سایر آبسه‌های مغزی ناچیز است اما به دلیل ماهیت کند رشد باکتری و عدم تشخیص، در مقایسه با سایر آبسه‌های مغزی آمار مرگ و میر بالایی دارند؛ به طوری که در بیماران نقص سیستم ایمنی میزان مرگ و میر بالاتر از ۵۵٪ و در بیماران با سیستم ایمنی کارآمد بیش از ۲۰٪ گزارش شده است (۸-۱۰). با توجه به اینکه تظاهرات بالینی و عکس‌های رادیولوژی در بیماران مبتلا به تومورهای مغزی و آبسه‌های نوکاریایی مشابه هستند لذا امکان بروز اشتباه در تشخیص وجود دارد و به منظور درمان صحیح و مؤثر بیماران می‌باید تشخیص به درستی صورت گیرد (۱۱-۱۲). امروزه شیوع عفونت‌های نوکاریایی با توجه به افزایش شمار بیماران نقص سیستم ایمنی و بهبود روش‌های تشخیصی در حال افزایش است (۱۲). در مطالعه Fleetwood و همکاران در سال ۲۰۰۰ سه بیمار مبتلا به آبسه مغزی نوکاریایی گزارش شد که هر سه بیمار مرد و دوتای آن مسن بودند و هر دوی این بیماران به مشکلات تنفسی دچار بودند (۱۳). Christopher و همکاران در مطالعه‌ای دیگر گزارش موردی از آبسه مغزی حاصل از نوکاریا فارسینیکا را منتشر کردند که تظاهرات آن مشابه تومور مغزی بود. بیمار این گزارش مردی ۶۸ ساله بود که سیستم ایمنی سالم داشت و مانند بیمار این مطالعه دچار آبسه مغزی در ناحیه چپ تمپورال خود بود (۱۴). Barnaud و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش موردی از آبسه مغزی حاصل از نوکاریا سیریاسیجورجیکا منتشر کردند. بیمار این مطالعه مرد ۳۳ ساله آلوده به ویروس HIV بود (۱۵). در مطالعه حاضر گونه جداسازی شده با استفاده از تست‌های مرسوم و مولکولی به عنوان نوکاریا سیریاسیجورجیکا تشخیص داده شد و با توجه به الگوی آنتی‌بیوگرام برای بیمار کوتریموکسازول، آمیکاسین و لینزولاید تجویز شد.

نتیجه‌گیری

نوکاریا، باکتری گرم مثبت هوازی و غیر متحرکی است که در محیط پراکنده است و از طریق پوست یا استنشاق به بدن میزبان

References

1. Brown-Elliott B A, Brown J M, Conville P S, Wallace R J. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. *Clin Microbiol Rev* 2006; **19**(2): 259-282. doi: 10.1128/CMR.19.2.259-282.2006
2. Boiron P, Provost F, Chevrier G, Dupont B. Review of nocardial infections in France 1987 to 1990. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; **11**(8): 709-714. doi: 10.1007/BF01989975.

3. Malincarne L, Marroni M, Farina C, Camanni G, Valente M, Belfiori B, et al. Primary brain abscess with *Nocardia farcinica* in an immunocompetent patient. *Clin Neurol Neurosurg* 2002; **104**(2): 132-135. doi: 10.1016/S0303-8467(01)00201-3
4. Cargill J S, Boyd G J, Weightman N C. *Nocardia cyriacigeorgica*: a case of endocarditis with disseminated soft-tissue infection. *J Med Microbiol* 2010; **59**(2): 224-230. doi: 10.1099/jmm.0.011593-0
5. Ekrami A, Khosravi A D, Zadeh ARS, Hashemzadeh M. *Nocardia* co-infection in patients with pulmonary tuberculosis. *Jundishapur J Microbiol* 2014; **7**(12). doi: 10.5812/jjm.12495
6. Goh KS, Legrand E, Sola C, Rastogi N. Rapid differentiation of “*Mycobacterium canettii*” from other *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms by PCR-restriction analysis of the *hsp65* gene. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; **39**(10): 3705-3708. doi: 10.1128/JCM.39.10.3705-3708.2001
7. Eshraghi S S, Heidarzadeh S, Soodbakhsh A, Pourmand M, Ghasemi A, GramiShoar M, et al. Pulmonary nocardiosis associated with cerebral abscess successfully treated by co-trimoxazole: a case report. *Folia microbiologica* 2014; **59**(4): 277-281. doi: 10.1007/s12223-013-0298-7
8. Menkü A, Kurtsoy A, Tucer B, Yıldız O, Akdemir H. *Nocardia* brain abscess mimicking brain tumour in immunocompetent patients: report of two cases and review of the literature. *Acta Neurochir* 2004; **146**(4): 411-414. doi: 10.1007/s00701-004-0215-6
9. Xu Q, Zhan R, Feng Y, Chen J. Successful Treatment of Multifoci Nocardial Brain Abscesses: A Case Report and Literature Review. *Medicine* 2015; **94**(19). doi: 10.1097/MD.0000000000000848
10. Alijani N, Mahmoudzadeh S, Yaghoobi M H, Jafari S. Multiple brain abscesses due to *Nocardia* in an immunocompetent patient. *Arch Iran Med* 2013; **16**(3): 192. doi: 013163/AIM.0015.
11. Pascual-Gallego M, Alonso-Lera P, Arribi A, Barcia JA, Marco J. *Nocardia farcinica* abscess of the cerebellum in an immunocompetent patient: A case report and review of the literature. *Asian J Neurosurg* 2016; **11**(4): 454. doi: 10.4103/1793-5482.145179
12. Schlaberg R, Huard RC, Della-Latta P. *Nocardia cyriacigeorgica*, an emerging pathogen in the United States. *J Clin Microbiol* 2008; **46**(1): 265-273. doi: 10.1128/JCM.00937-07
13. Fleetwood IG, Embil JM, Ross IB. *Nocardia asteroides* cerebral abscess in immunocompetent hosts: report of three cases and review of surgical recommendations. *Surg Neurol* 2000; **53**(6): 605-610. doi:10.1016/S0090-3019(00)00242-1
14. Iannotti C A, Hall G S, Procop G W, Tuohy M J, Staugaitis S M, Weil R J, et al. Solitary *Nocardia farcinica* brain abscess in an immunocompetent adult mimicking metastatic brain tumor: rapid diagnosis by pyrosequencing and successful treatment. *Surg Neurol* 2009; **72**(1): 74-79. doi: 10.1016/j.surneu.2008.02.025
15. Barnaud G, Deschamps C, Manceron V, Mortier E, Laurent F, Bert F, et al. Brain abscess caused by *Nocardia cyriacigeorgica* in a patient with human immunodeficiency virus infection. *J Clin Microbiol* 2005; **43**(9): 4895-4897. doi: 10.1128/JCM.43.9.4895-4897.2005