Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 35, No. 3, Autumn 2025 **CASE REPORT**

A rare case of corneal ulcer caused by *pythium insidiosum* diagnosed with PCR screening and DNA sequencing: a case report

***Mehran Zarei-Ghanavati*[1], *Mehrnaz Atighehchian*[1], *Zakieh Vahedian*[1], *Fatemeh Bazvand*[1], *Seyed Mehdi Tabatabaei*[1], *Esmaeil Asadi Khameneh*[1]**

[1] *Farabi Eye Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Abstract

This report discusses a case involving infectious corneal ulcers in a 32-year-old pregnant woman. The clinical presentation of keratitis did not align with the typical signs of fungal keratitis. Initial investigations, including corneal scraping for smear and culture samples, showed no evidence of fungal infection, leading to the start of topical antibacterial treatment. Despite this, there was still a concern about a fungal infection, which led to repeat sampling. Unfortunately, the patient's condition progressed, even after the application of topical antifungal medications. This progression resulted in an intraocular infection known as endophthalmitis. Due to the inability to manage the infection effectively, the affected eye was ultimately eviscerated. Further evaluation, including advanced diagnostic techniques like polymerase chain reaction, showed that the cause of the infection was a rare quasi-fungal organism called *Pythium insidiosum*.

Keywords: *Keratitis, Corneal ulcer, Polymerase chain reaction, Pythium insidiosum.*

Cited as: Zarei-Ghanavati M, Atighehchian M, Vahedian Z, Bazvand F, Tabatabaei SM, Asadi Khameneh E. A rare case of corneal ulcer caused by pythium insidiosum diagnosed with pcr screening and dna sequencing: a case report. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2025; 35(3): **377-381.**

Correspondence to: Mehran Zarei-Ghanavati
Tel: *+98 9123760429*
E-mail: mehran_zarei@yahoo.com
ORCID ID: 0000-0002-0679-8055
Received: 30 Dec 2024; **Accepted:** 12 Mar 2025

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-29]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.13.3]
[DOI: 10.61882/iau.35.3.377]

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۵، شماره ۳، پاییز۱۴۰۴، صفحات ۳۷۷ تا ۳۸۱

Case Report

گزارش یک مورد زخم قرنیه با عفونت نادر Pythium insidiosum با استفاده از روش تشخیصی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز وتوالی یابی ژنتیکی

مهران زارعی قنواتی، مهرناز عتیقه چیان، زکیه واحدیان، فاطمه بازوند، سید مهدی طباطبایی، اسماعیل اسعدی خامنه

[۱] بیمارستان چشم پزشکی فارابی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

در این گزارش، یک مورد زخم قرنیه (کراتیت) عفونی در خانم ۳۲ ساله باردار ارائه می‌شود. نمای بالینی کراتیت در این بیمار کاملاً منطبق با عفونت قارچی قرنیه نبود و نمونه‌های اولیه اسمیر و کشت از قرنیه بیمار از نظر قارچ منفی بود. به همین دلیل درمان ضد باکتریال موضعی چشمی برای بیمارآغاز شد. در بررسی و نمونه گیری مجدد از قرنیه، قارچ گزارش شد. متأسفانه، علیرغم استفاده از داروهای موضعی ضد قارچ و انجام پیوند تمام ضخامت قرنیه، عفونت در این بیمار پیشرفت کرد و منجر به عفونت داخل کره چشم (اندوفتالمیت) شد. در نهایت به دلیل عدم کنترل عفونت، مجبور به تخلیه چشم شدیم. در بررسی های تکمیلی و در روش تشخیصی ومولکولی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، عامل عفونت شبه قارچ نادری به نام Pythium insidiosum گزارش شد.

واژگان کلیدی: *کراتیت، زخم قرنیه، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، Pythium insidiosum.*

مقدمه

عفونت قرنیه (کراتیت) یکی از شایع‌ترین علل نابینایی به علت ایجاد کدورت قرنیه است (۱). عفونت‌های قارچی قرنیه، به ویژه در مناطق با آب وهوای مرطوب، شیوع بالاتری دارند و تشخیص و درمان آن‌ها معمولاً چالش‌برانگیز است (۲). برای تشخیص این نوع بیماری چشمی از نمونه گیری از بافت قرنیه برای رنگ آمیزی اسمیر و محیط کشت استفاده می‌شود، اما این روش‌ها در حدود نیمی از موارد در عفونت‌های قارچی، نتایج منفی به همراه دارند. عدم تشخیص قطعی و به موقع عفونت‌های قارچی باعث آغازکردن درمان بر علیه عوامل دیگر مانند باکتری‌ها یا ویروس‌ها می‌شود و تأخیر در شروع درمان مناسب ممکن است منجر به شکست درمان، نیاز به پیوند قرنیه و حتی تخلیه چشم شود (۲). استفاده از روش‌های جدید تشخیصی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) می‌تواند به تشخیص به موقع و نجات دادن چشم بیماران کمک کند. در اینجا، موردی از کراتیت شبه قارچی ناشی از نوع نادر *Pythium insidiosum* معرفی می‌شود که با روش‌های معمول میکروبیولوژی قابل تشخیص نبود و در پایان با روش مولکولی PCR شناسایی شد.

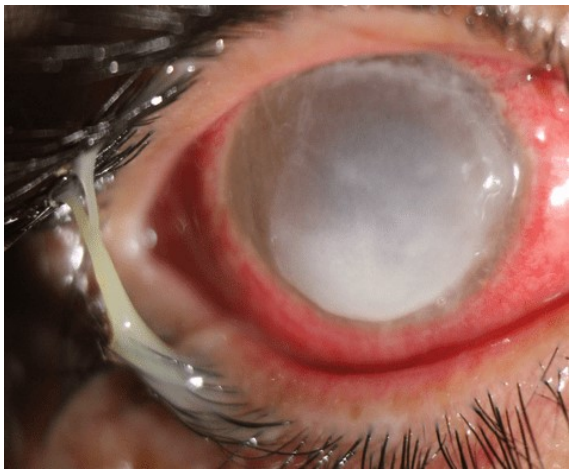
معرفی مورد

بیمار، زن ۳۲ ساله باردار به علت درد، قرمزی چشم، کاهش بینایی و با انفیلتراسیون حلقه‌ای شکل درقرنیه چشم راست، ترشحات مخاطی-چرکی و نازک شدن خفیف در محیط قرنیه به بیمارستان چشم پزشکی فارابی ارجاع شد (شکل ۱). بیمار تحت معاینات کامل چشمی قرار گرفت. رضایت آگاهانه برای انجام معاینات ضروری ، اقدامات تشخیصی و درمانی از بیمار گرفته شد. کد اخلاق در کمیته اخلاق بیمارستان فارابی و

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان چشم پزشکی فارابی، مهران زارعی قنواتی (**email**: mehran_zarei@yahoo.com)
ORCID ID: 0000-0002-0679-8055
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱۰/۱۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۱۲/۲۲

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-29]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.13.3]
[DOI: 10.61882/iau.35.3.377]

دانشگاه علوم پزشکی تهران با شماره IR.TUMS.FARABIH.REC.1403.053 ثبت شد.



شکل ۱. انفیلتراسیون حلقه‌ای شکل درقرنیه چشم رأست بیمار۳۲ساله همراه با ترشحات مخاطی-چرکی و نازک شدن خفیف درمحیط قرنیه

رنگ آمیزی اسمیر از نمونه قرنیه بیمار و همچنین ارزیابی محیط کشت از نظر قارچ منفی بود؛ بنابراین درمان ضدباکتری با قطرهای چشمی تهیه شده از سفازولین (۵۰ میلی گرم/میلی لیتر) وآمیکاسین (۲۰ میلی گرم/ میلی لیتر) آغاز شد. با توجه به عدم بهبود بالینی و همچنین پیشرفت بیماری طی ۷ روز، نمونه‌برداری مجدد از قرنیه انجام و به آزمایشگاه ارسال شد. در ارزیابی‌های دوباره در رنگ آمیزی اسمیر، میسلیوم و قارچ رویت و گزارش شد. در نتیجه درمان با وریکونازول ۱ ٪ موضعی آغاز شد، اما پس از پنج روز، نازک شدگی در محیط قرنیه پیشرفت کرد. در نتیجه برای پوشاندن محل نازکی در لایه ی استرومای قرنیه از چسب سیانوآکریلات استفاده شد و همچنین قطره چشمی کلرهگزیدین ۰/۲ ٪ به درمان‌های قبلی اضافه شد (شکل ۲). لازم به ذکر است قطره چشمی ناتامایسین ۵٪ در دسترس نبود.

با این حال، عفونت قرنیه همچنان طی ۵ روز پیشرفت کرد. در نتیجه برای کنترل کردن و جلوگیری از پیشرفت بیشتر عفونت، بیمار تحت پیوند قرنیه نفوذی (کراتوپلاستی) قرار گرفت و درمان‌های موضعی با وریکونازول ۱ ٪ و کلرهگزیدین ۰/۲ ٪ ادامه یافت.

بعد از گذشت دو هفته از پیوند تمام ضخامت، بیمار با افزایش درد چشم و ترشحات چشمی مواجه شد و دچار تهاجم مجدد عفونت قارچی در بافت قرنیه پیوند شده گردید. اولتراسونوگرافی B-scan عفونت داخل کره چشم (اندوفتالمیت) را تأیید کرد. پس بیمار تحت کراتوپروستز موقت چشم راست (Kpro)، پیوند بزرگ تمام ضخامت قرنیه-صلبیه‌ای، ویترکتومی عمیق، تزریق داخل مایع زجاجیه و شستشوی اتاق قدامی با وریکونازول (۱۰۰ میکروگرم/ ۰,۱میلی لیتر) قرار گرفت. حین جراحی نمونه گیری از بافت قرنیه و زجاجیه برای بررسی تشخیصی- مولکولی PCR جهت ارزیابی بیشتر و تعیین نوع قارچ گرفته و به آزمایشگاه ارسال شد.

شکل ۲. پوشاندن نازکی محیط قرنیه با استفاده از چسب سیانوآکریلات

به دلیل بارداری بیمار، درمان ضد قارچ خوراکی آغاز نشد و درمان موضعی با وریکونازول ۱ ٪ ، آمفوتریسین B ۰/۱۵ ٪ و کلرهگزیدین ۰/۲ ٪ همچنان ادامه یافت و بیمار با توصیه به نیاز داشتن به پیگیری دقیق از بیمارستان مرخص شد. بعد از گذشت یک ماه ازپیوند مجدد قرنیه، بیمار با عفونت شدید در بافت پیوندی، صلبیه و نابینایی کامل (عدم درک نور) ارجاع شد (شکل ۳).

شکل ۳. عود مجدد عفونت شدید در بافت قرنیه پیوند شده و صلبیه یک ماه بعد ازکراتوپلاستی درمانی بزرگ قرنیه-صلبیه‌ای.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-29]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.13.3]
[DOI: 10.61882/iau.35.3.377]

نتـایج PCR وتوالی‌یـابی DNA رشـد شـبه قـارچ *Pythium insidiosum* را نشـان داد. تـوالی DNA ژن internal transcribed spacer region (ITS) بـا ۸۵ ٪ تطـابق بـه *Pythium insidiosum* (GenBank FJ917392) ثبت شد وایـن یافتـه‌ها در GenBank بـا شماره دسترسـی PQ231180 ثبـت گردیـد. علیـرغم درمـان‌هـای دارویی ضد میکروبی و قـارچی و همچنـین جراحـی‌هـای متعـدد چشمی، در نهایت تخلیه چشم ضروری شد.

بحث

عفونت و زخم قرنیه ناشی ازشبه قارچ *Pythium insidiosum* نادر است و از نظر تشخیصی و درمانی چالش بزرگی می باشد(۳). این عفونت بسیار تهاجمی و پیشرونده است و در نمای بالینی می‌تواند کراتیت قارچی و حتی عفونت باکتریال را تقلید کند. در معاینه با اسلیت لمپ، انفیلتراسیون‌های شبکیه‌ای ریز در اپی‌تلیوم یا استرومای قرنیه دیده می‌شود. به علاوه، انفیلتراسیون‌های متعدد و چند کانونی و یا نمایی شبیه پنبه گزارش شده است. افتراق این شبه قارچ از کراتیت قارچی نیاز به تایید با روش‌های دقیق آزمایشگاهی و مولکولی دارد (۳،۴). دررنگ آمیزی با اسمیر، هایفاهای *Pythium insidious* معمولاً به صورت هایفاهای کوتاه، طولی و به‌ندرت سپتادارهستند که قطری مشابه قارچ های سپتادار دارند. بنابراین روش‌های رنگ آمیزی، روش‌های حساسی برای افتراق دادن این شبه قارچ از سایر قارچها نیستند (۳). در تصویربرداری میکروسکوپ کانفوکال، ساختارهای فوق به صورت بازتابنده و شاخه شاخه در استرومای قرنیه دیده می‌شوند که مشابه کراتیت قارچی است، در نتیجه این روش تصویربرداری نیز نمی‌تواند افتراق دهنده باشد (۴). یکی از بهترین روش‌های تشخیصی برای جداسازی عفونت‌های قارچی از سایر عفونت‌ها، استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) است (۵). در مورد این شبه قارچ هم از این روش استفاده شده است و توالی internal transcribed spacer region (ITS) در چندین مطالعه برای شناسایی *Pythium insidiosum* استفاده گردیده است (۸-۶). در مطالعه ما هم همین توالی برای شناسایی این عامل عفونی استفاده شد.

درمان کراتیت ناشی از *Pythium insidiosum* این شبه قارچ تهاجمی، شامل درمان‌های دارویی و جراحی است. درمان دارویی معمولاً با ضد قارچهایی مانند ناتامایسین ۵ ٪، وریکونازول ۱ ٪ یا ایتراکونازول ۱ ٪ آغاز می‌شود، اگرچه این داروها موفقیت محدودی در کنترل عفونت داشته‌اند (۹). استفاده از درمان ترکیبی و ضد باکتری (لینزولید ۰/۲ ٪ و آزیترومایسین ۱ ٪) نیز توصیه شده است و گزارش‌هایی از موثرتر بودن این داروها نسبت به داروهی ضد قارچ استاندارد وجود دارد (۱۰)، هرچند با این درمان‌ها نیز حدود نیمی از بیماران پاسخ مناسبی نداده اند و نیاز به پیوند قرنیه داشته‌اند (۱۱،۱۲). در مواردی که درمان دارویی موضعی و سیستمیک در انواع عفونت‌های قارچی کافی نباشد یا علائمی مانند نازکی شدید قرنیه یا سوراخ شدن قرنیه مشاهده شود، پیوند تمام ضخامت قرنیه (کراتوپلاستی) به صورت درمانی باید انجام شود (۱۳). در مورد شبه قارچ ذکر شده نیز کراتوپلاستی انجام می‌شود و در صورت بهبودی کامل عفونت و عدم بازگشت آن طی ۶ تا ۸ ماه، کراتوپلاستی نفوذی اپتیکال برای بازتوانی بینایی انجام می‌شود. در موارد وسیع عفونت چشم و درگیری کره چشم، تخلیه چشم به صورت انوکلیاسیون یا اویسراسیون به‌عنوان آخرین گزینه توصیه می‌شود (۱۲).

ما اولین گزارش از زخم قرنیه ناشی از *Pythium insidiosum* را در ایران ارائه کردیم. این کراتیت قارچی معمولاً با پیش‌آگهی ضعیفی همراه است و در بسیاری از موارد منجر به پیوند قرنیه مجدد، عود عفونت در بافت قرنیه پیوندی، انوکلیاسیون یا آتروفی چشم می‌شود. معمولا این عامل شبه قارچی به داروهای ضد قارچ پاسخ نمی دهد، ولی گزارش‌هایی از موفقیت با درمان ترکیبی ضد باکتریال گزارش شده است. پیش آگهی بستگی به عواملی مانند کمبود ابزارها و روش‌های تشخیصی مولکولی و تأخیر در شروع درمان مناسب دارد. عفونت های سطحی و کوچک قرنیه که محور بینایی را درگیر نمی‌کنند، در صورت شروع درمان های موضعی سریع معمولاً نتایج خوبی به همراه دارند. انفیلتراسیون عمقی قرنیه و یاگسترش عفونت به صلبیه، معمولا نیاز به کراتوپلاستی درمانی دارد و پیش‌آگهی این موارد معمولاً ضعیف است.

REFERENCES

1. Soltani Shahgoli S, Cheraqpour K, Soleimani M, Atighehchian M, Tabatabaei SA, Sargolzaeimoghaddam M, ET AL. Post-laser refractive surgery keratitis: A concise narrative review. J Int Med Res 2023;51:3000605231206054.
2. Awad R, Ghaith AA, Awad K, Mamdouh Saad M, Elmassry AA. Fungal Keratitis: Diagnosis, Management, and Recent Advances. Clin Ophthalmol 2024;18:85-106.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-29]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.13.3]
[DOI: 10.61882/iau.35.3.377]

3. Gurnani B, Kaur K, Venugopal A, Srinivasan B, Bagga B, Iyer G, et al. Pythium insidiosum keratitis - A review. Indian J Ophthalmol 2022;70:1107-20.

4. Gurnani B, Kaur K, Agarwal S, Lalgudi VG, Shekhawat NS, Venugopal A, et al. Pythium insidiosum Keratitis: Past, Present, and Future. Ophthalmol Ther 2022;11:1629-53.

5. Atighehchian M, Latifi A, Nozarian Z, Amoli FA, Zarei-Ghanavati M. Fungal keratitis complicating the diagnosis of Acanthamoeba keratitis. Med Mycol Case Rep 2024;47:100687.

6. Kammarnjesadakul P, Palaga T, Sritunyalucksana K, Mendoza L, Krajaejun T, Vanittanakom N, et al. Phylogenetic analysis of Pythium insidiosum Thai strains using cytochrome oxidase II (COX II) DNA coding sequences and internal transcribed spacer regions (ITS). Med Mycol 2011;49:289-95.

7. Sridapan T, Krajaejun T. Nucleic Acid-Based Detection of Pythium insidiosum: A Systematic Review. J Fungi (Basel) 2022;9:27.

8. Schurko AM, Mendoza L, Lévesque CA, Désaulniers NL, de Cock AW, Klassen GR. A molecular phylogeny of Pythium insidiosum. Mycol Res 2003;107:537-44.

9. Vishwakarma P, Bagga B. Pythium insidiosum keratitis: Review of literature of 5 years' clinical experience at a tertiary eye care center. Semin Ophthalmol 2023;38:190-200.

10. Bagga B, Sharma S, Madhuri Guda SJ, Nagpal R, Joseph J, Manjulatha K, et al. Leap forward in the treatment of Pythium insidiosum keratitis. Br J Ophthalmol 2018;102:1629-33.

11. Bagga B, Kate A, Mohamed A, Sharma S, Das S, Mitra S. Successful Strategic Management of Pythium insidiosum Keratitis with Antibiotics. Ophthalmology 2021;128:169-72.

12. Gurnani B, Kaur K. Anti-infective therapies for Pythium insidiosum keratitis. Expert Rev Anti Infect Ther 2024;22:805-17.

13. Atighehchian M, Ghassemi H, Latifi G, Ouano D, Abedinifar Z, Zarei-Ghanavati M. Topical Caspofungin 0.5% Monotherapy for Filamentous Fungal Keratitis. Cornea 2025.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-01-29]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1404.35.3.13.3]

[DOI: 10.61882/iau.35.3.377]