مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۱/هفته دوم خرداد ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۱۵

روش‌های مولکولی در شناسایی نوکاردیا

مهدی فتاحی بافقی[۱]، شادی حبیب‌نیا[۲]، دکتر پروین حیدریه[۳]، ابوالفضل فاتح[۴]،
معصومه رسولی نسب[۲]، دکتر سید سعید اشراقی[۵]

نامه به سردبیر

سردبیر محترم مجله دانشکده پزشکی اصفهان

با سلام و احترام

امروزه عفونت‌های نوکاردیایی در ایران رو به افزایش است و اطلاعات کمی درباره‌ی تشخیص این باکتری در آزمایشگاه‌های بالینی و تحقیقاتی وجود دارد. این امر اینجانبان را بر آن داشت که توضیحاتی درباره‌ی روش‌های مولکولی در شناسایی این باکتری ارائه نماییم.

توضیح مسأله

نوکاردیا یک باکتری هوازی گرم مثبت، پارشیال اسید فاست می‌باشد که اولین بار توسط پزشک فرانسوی از عفونت یک اسب پرورشی ایزوله و معرفی گردید. این باکتری، عفونت کشنده و خطرناکی به نام نوکاردیوزیس را ایجاد می‌نمایدکه این عفونت در افراد دارای نقص سیستم ایمنی به طور مکرر گزارش می‌گردد (۴-۱). نوکاردیا دارای گونه‌های متعددی است (تعدادی از گونه‌های این باکتری به صورت کمپلکس است و شناسایی آن‌ها با روش‌های مرسوم فنوتیپی قابل انجام نمی‌باشد) و شناسایی دقیق این گونه‌ها در تجویز پروفایل آنتی بیوتیکی مناسب و درمان به موقع بیماران دارای اهمیت فراوانی می‌باشد. در ضمن، باید به این مطلب اشاره نمود که بعضی از گونه‌های این باکتری به آنتی بیوتیک‌های معمول، پاسخ درمانی مناسبی نمی‌دهند (۶-۵).

یکی از روش‌هایی که امروزه برای شناسایی گونه‌های نوکاردیا به کار می‌رود، استفاده از روش‌های مولکولی می‌باشد. از سال ۱۹۹۰ تا امروز، روش‌های متنوع مولکولی برای شناسایی جنس و گونه‌های نوکاردیا معرفی گردیده است. تکنیک‌های مورد استفاده شامل ۱) DNA probes، ۲) 16 SrRNA-restriction fragment length polymorphism (RFLP)، ۳) Pyrosequencing، ۴) HSP gene-RFLP و سکانس ژن‌های 65-kDa-heat shock protein (TB11 and TB12 primers)، 16S rRNA (1500regain)، gyrB gene (GYRBF1 and GYRBR1 primers) و sod gene (Z205 and Z212 primers) مورد استفاده

۱- دانشجوی دکتری، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- کارشناس ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- استادیار، گروه گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۴- گروه مایکوباکتریولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران
۵- استاد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سید سعید اشراقی
Email: eshraghs@tums.ac.ir

قرار گرفته است (۹-۷).تعیین توالی ژن یک انقلاب بزرگی را در تاکسونومی جنس نوکاردیا و ارگانیسم‌های نزدیک به آن و همچنین شناسایی گونه‌های جدید ایجاد نمودکه در آزمایشگاه‌هایی با قابلیت انجام روش‌های مولکولی، شناسایی سریع و قابل اعتماد را فراهم کرد.

یکی از ژن‌هایی که در شناسایی گونه‌های باکتریایی و به خصوص نوکاردیا در آن به طور مکرر استفاده می‌گردد، ژن ۱۶S rRNA می‌باشد (۱۱-۹). ژن‌ها به دو دسته‌ی Noncoding و Coding تقسیم‌بندی می‌شوند که ژن‌های Noncoding شامل ۱۶S rRNA و Internal transcribed spacer (ITS) ارزش شناسایی و طبقه‌بندی دارند و از آن جا که محصول تولید نمی‌کنند، کمتر دستخوش تغییر می‌شوند؛ اما ژن‌های Coding شامل hsp۶۵، rpoB و sodA محصول تولید می‌کنند و به مرور زمان تحت تأثیر تکامل قرار می‌گیرند (۱۱-۹). از آن جا که ۲۳S rRNA دارای توالی طولانی‌تری است و اطلاعات آن کمتر وجود دارد و باید با ۶ پرایمر خوانده شود، پرهزینه‌تر می‌باشد و کمتر ارزش تشخیصی دارد (۱۱-۹).

بخشی از DNA که برای اهداف تاکسونومیک به کار می‌رود، ژن۱۶S rRNA می‌باشد. از آن جایی که ژن ۱۶S rRNA در باکتری‌ها عمومیت دارد و از ژن‌های House keeping محسوب می‌شود، تعیین توالی ابزار مناسبی جهت مطالعه و بررسی طبقه‌بندی باکتریایی است. توالی این ژن، ۱۵۵۰ جفت باز می‌باشد که شامل نواحی حفاظت شده و متغیر است. پرایمرهای عمومی به کار رفته، به طور معمول مکمل نواحی حفاظت شده در ابتدای ژن می‌باشند که توالی نواحی متغیر در میان آن‌ها برای تاکسونومی مقایسه‌ای به کار می‌رود (۱۱-۹).

ارجاع: فتاحی بافقی مهدی، حبیب‌نیا شادی، حیدریه پروین، فاتح ابوالفضل، رسولی نسب معصومه، اشراقی سید سعید. **روش‌های مولکولی در شناسایی نوکاردیا.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۱): ۵۰۶-۵۰۳

References

1. Fatahi Bafghi M, Eshraghi SS, Rasouli-Nnasab M, Habibnia Sh, Heidarieh P. A comparative study on different *Nocardia* isolation techniques: letter to the editor. J Isfahan Med Sch 2013; 31(244): 1073-6. [In Persian].
2. Fatahi Bafghi M, Soori T, Heidarieh P, Rasouli-Nasab MR, Habibnia S, Eshraghi SS. Isolation and phenotypic identification of *Nocardia nova* complex of breast abscess in a patient with pemphigus vulgaris: the first report from Iran. Iran J Breast Dis 2012; 5(2-3): 44-9. [In Persian].
3. Eshraghi SS, Fatahi Bafghi M, Ghafouri A, Heidarieh P, Habibnia S, Rasouli Nasab M, et al. Isolation and identification of *Nocardia asteroides* complex isolated from thigh abscess ina patient with Behçet's syndrome: the first report from Iran. Tehran Univ Med J 2013; 71(7): 476-9. [In Persian].
4. Fatahi Bafghi M, Eshraghi SS, Heidarieh P, Habibnia S, Rasouli-Nasab M. Nocardiosis in immune disorder disease. Malays J Med Sci.2014; 21(1): 75-6.
5. Kiska DL, Hicks K, Pettit DJ. Identification of medically relevant *Nocardia* species with an abbreviated battery of tests. J Clin Microbiol 2002; 40(4): 1346-51.
6. Fatahi Bafghi M, Heidarieh P, Habibnia S, Rasouli-Nasab M, Kalantar Neyestanaki D, Eshraghi SS, et al. Phenotypic and molecular properties of the *Nocardia* species. Avecinna J Clin Microb Infec 2014; 1(1): e19215.
7. Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS,

Wallace RJ, Jr. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. Clin Microbiol Rev 2006; 19(2): 259-82.

8. Flateau C, Jurado V, Lemaitre N, Loiez C, Wallet F, Saiz-Jimenez C, et al. First case of cerebral abscess due to a novel *Nocardia* species in an immunocompromised patient. J Clin Microbiol 2013; 51(2): 696-700.
9. Conville PS, Witebsky FG. Current issues pertaining to the *Nocardia* species. Clin Microbiol Newsl 2004; 26(8): 57-62.
10. Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ, et al. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. Appl Environ Microbiol 1998; 64(2): 795-9.
11. Gurtler V, Stanisich VA. New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. Microbiology 1996; 142 (Pt 1): 3-16.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 01.03.2014
Vol. 32, No. 281, 2nd Week, June 2014
Accepted: 05.05.2014

Molecular Techniques in *Nocardia* Identification

Mehdi Fatahi-Bafghi[1], Shadi Habibnia MSc[2], Parvin Heidarieh PhD[3], Abolfazl Fateh[4], Masoumeh Rasouli-Nasab MSc[2], Seyyed Saeed Eshraghi PhD[5]

Letter to Editor

Abstract

The genus *Nocardia*, are partially acid-fast, Gram-positive and catalase-positive bacteria that are not normal flora in human and animals. Accurate identification of *Nocardia* species is important for treatment planning and epidemiology research. To date, the molecular methods such as polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and polymerase chain reaction sequencing are used for accurate and rapid identification of *Nocardia* species.

Citation: Fatahi-Bafghi M, Habibnia Sh, Heidarieh P, Fateh A, Rasouli-Nasab M, Eshraghi SS. **Molecular Techniques in *Nocardia* Identification.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(281): 503-6

1- PhD Candidate, Department of Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Department of Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
4- Department of Mycobacteriology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
5- Professor, Department of Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Seyyed Saeed Eshraghi PhD, Email: eshraghs@tums.ac.ir