مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۶۵/هفته سوم بهمن ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱۵

شناسایی گونه‌های نوکاردیا ایزوله شده از خاک تهران با استفاده از ویژگی‌های فنوتیپی

معصومه رسولی‌نسب[۱]، شادی حبیب‌نیا[۱]، دکتر پروین حیدریه[۲]، مهدی فتاحی بافقی[۳]، دکتر محمدرضا پورمند[۴]، دکتر سید سعید اشراقی[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: نوکاردیا باکتری رشته‌ای گرم مثبت، هوازی، پارشیال اسید فاست و فرصت طلب می‌باشد که با ورود به دستگاه تنفسی و یا پوست آسیب دیده، بیماری عفونی خطرناکی به نام نوکاردیوزیس را ایجاد می‌نماید. در این مطالعه، جهت شناسایی گونه‌های نوکاردیا از آزمون‌های میکروبیولوژیک که شامل طیف وسیعی از آزمایش‌های بیوشیمیایی است، استفاده گردید.

روش‌ها: بعد از جداسازی ایزوله‌های نوکاردیا توسط روش Paraffin baiting، با طیف وسیعی از آزمایش‌های بیوشیمیایی شامل رشد در محیط لیزوزیم براث، هیدرولیز اسید آمینه‌های زانتین، تیروزین، هیپوزانتین و کازئین، ژلاتین و اوره، احیای نیترات، رشد در دمای ۴۵ و ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، تولید اسید از کربوهیدرات‌ها تعیین هویت گردیدند.

یافته‌ها: در این مطالعه با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش‌های فنوتیپی، ۱۲ ایزوله به عنوان نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس (۶۳/۱۵ درصد)، ۵ ایزوله نوکاردیا سایروسرژیکا، (۲۶/۳۱ درصد) و ۱ ایزوله نوکاردیا اوتایدیس کاویاروم (۵/۲۶ درصد) تشخیص داده شد. همچنین گونه‌ی ۱ ایزوله (۵/۲۶ درصد) بر اساس آزمایش‌های فنوتیپی، تعیین هویت نگردید.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه با استفاده از آزمون‌های فنوتیپی چند گونه نوکاردیا از نمونه‌های خاک تهران جدا سازی و خالص گردید. به هر حال، با توجه به افزایش گونه‌های نوکاردیا در خاک و شباهت‌های بسیار میان ویژگی‌های فنوتیپی و متغیر بودن بعضی صفات آن‌ها، برای کسب نتایج بهتر بایستی از آزمون‌های فنوتیپی و ژنوتیپی بیشتری بهره گیری کرد.

واژگان کلیدی: نوکاردیا، خاک، آزمایش‌های فنوتیپی

ارجاع: رسولی‌نسب معصومه، حبیب‌نیا شادی، حیدریه پروین، فتاحی بافقی مهدی، پورمند محمدرضا، اشراقی سید سعید. **شناسایی گونه‌های نوکاردیا ایزوله شده از خاک تهران با استفاده از ویژگی‌های فنوتیپی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۵): ۲۰۸۸-۲۰۸۱

مقدمه

نوکاردیا (Nocardia) باکتری رشته‌ای گرم مثبت، هوازی، پارشیال اسید فاست و فرصت طلب می‌باشد که با ورود به دستگاه تنفسی یا پوست آسیب دیده، بیماری عفونی خطرناکی به نام نوکاردیوزیس را ایجاد می‌نماید. شایع‌ترین عفونت ناشی از این میکروارگانیسم، نوکاردیوزیس ریوی است که اغلب در اثر استنشاق آئروسل‌های حاوی نوکاردیا در میزبان مستعد به وجود

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

می‌آید. افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی، ایدز، سرطان، دیابت و پیوند عضو بیشتر در معرض خطر هستند واز این جهت که امروزه جمعیت افراد مستعد رو به افزایش است، امکان بروز بیماری‌های ناشی از نوکاردیا افزایش یافته است (۲-۱).

جنس نوکاردیا به عنوان ارگانیسم ساپروفیت خاک، نقش مهمی در تغییر و تبدیل مواد آلی خاک از قبیل سلولز را دارا می‌باشد. این باکتری دارای اهمیت صنعتی است و نقش مهمی به عنوان تولید کننده‌ی متابولیت‌های ثانویه‌ی فعال از قبیل آنتی بیوتیک را دارا می‌باشد و در فعل و انفعالات موجود در خاک دارای اهمیت می‌باشد (۴-۳). از آن جایی که زیستگاه اصلی این ارگانیسم خاک می‌باشد، شناسایی این باکتری در خاک نواحی مختلف، علاوه بر این که به بررسی اپیدمیولوژی میکروارگانیسم در محیط می‌پردازد، یکی از راه‌های کمکی در تشخیص و درمان بیماران مبتلا به عفونت نوکاردیایی محسوب می‌شود (۶-۵).

بسیاری از گونه‌های نوکاردیا به وسیله‌ی آزمایش‌های بیوشیمیایی (شامل تجزیه آدنین، کازئین، تیروزین، زانتین، هیپوزانتین، اوره و ژلاتین) و استفاده از کربوهیدرات‌ها (مانند سیترات، L- رامنوز، D- سوربیتول) شناسایی می‌شوند (۸-۷). هدف از انجام این مطالعه، جداسازی ایزوله‌های نوکاردیا از نمونه‌های خاک و ثبت اطلاعات کامل و انجام فرایند شناسایی و تعیین هویت آن‌ها بود. در این بررسی از طیف وسیعی از آزمایش‌های فنوتیپی که مختص شناسایی جنس و گونه‌ی نوکاردیا می‌باشد، استفاده شد.

روش‌ها

در این بررسی تعداد ۱۱۰ نمونه از خاک‌های مختلف شامل لجن، جنگل، کنار جوی آب، پارک و میدان‌های شهر تهران در پلیت‌های استریل جمع‌آوری و در مدت ۴۸-۲۴ ساعت به آزمایشگاه اکتینومایست واقع در دانشکده‌ی بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران منتقل گردید. در این بررسی، جداسازی نوکاردیا به وسیله‌ی روش کشت میله‌ی پارافینی در محیط مایع (Paraffin baiting) انجام گرفت که بر پایه‌ی قابلیت استفاده‌ی نوکاردیا از پارافین به عنوان تنها منبع کربن و انرژی برای رشد خود استوار است (۱۰-۹). سپس ایزوله‌های نوکاردیا توسط طیف وسیعی از آزمایش‌های فنوتیپی مورد شناسایی قرار گرفتند.

روش جداسازی

ابتدا ۱ گرم از خاک را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون لوله‌ی استریل مخلوط نموده و پس از ۵ دقیقه به هم زدن، مقدار ۱ میلی‌لیتراز مایع رویی را به محیط کربن فری براث (Carbon free broth) حاوی میله‌ی پارافینی اضافه و به مدت ۳۰-۲۰ روز در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. هنگامی که کلنی‌های سفید مشکوک به نوکاردیا روی میله‌ی پارافینی مشاهده شد، کلنی‌های تک برای خالص سازی بر روی محیط‌های نوترینت آگار (Nutrient agar) و سابورو دکستروز آگار (Sabouraud's dextrose agar) کشت داده شد. از آن جایی که احتمال آلودگی با قارچ‌ها همیشه وجود دارد، جهت جلوگیری از رشد این میکروارگانیسم‌ها به محیط سابورو دکستروز آگار، سیکلو هگزامید اضافه شد (۱۱).

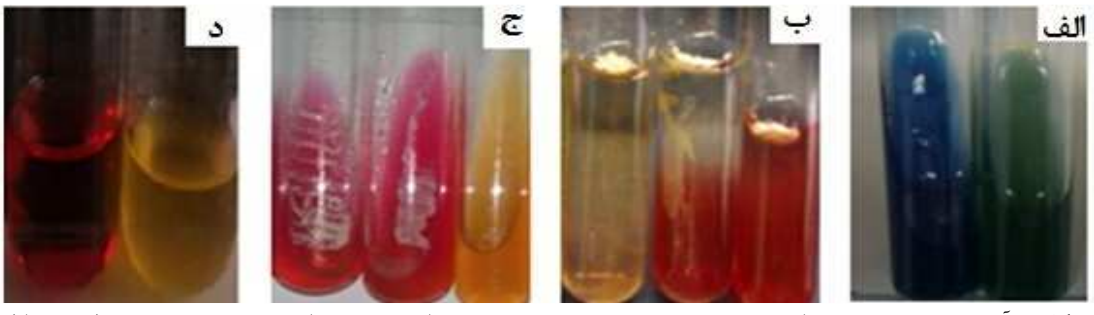
انجام آزمایش‌های فنوتیپی

پس از تهیه‌ی اسمیر از کلنی‌های خالص شده، رنگ‌آمیزی گرم، پارشیال اسید فاست و اسید فاست

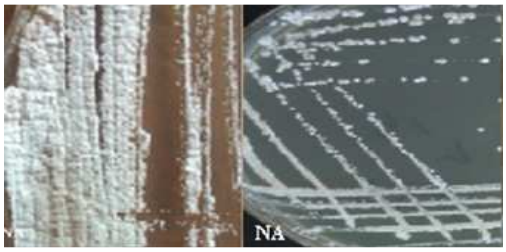
انجام شد. سپس برای تشخیص قطعی جنس نوکاردیا، محیط لیزوزیم براث به کار گرفته شد. در ادامه، ایزوله‌ها جهت تعیین گونه، با استفاده از آزمایش‌های متعدد فنوتیپی مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمایش‌ها شامل رشد در محیط لیزوزیم براث، هیدرولیز اسید آمینه‌های زانتین (Xanthine)، تیروزین (Tyrosine)، هیپوزانتین (Hypoxanthine) و کازئین (Casein)، ژلاتین و اوره، احیای نیترات، رشد در دمای ۴۵ و ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، تولید اسید از قندهایی از قبیل سوربیتول، رامنوز، مالتوز، گالاکتوز، لاکتوز، سوکروز، گلوکزو زیلوز بود (شکل‌های ۱ تا ۴). ابتدا باکتری مورد نظر روی محیط‌های بالا کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ هفته نگهداری شد (۱).

یافته‌ها

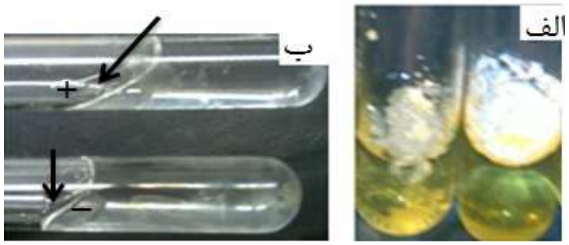
در مطالعه‌ی حاضر، جهت جداسازی نوکاردیا از روش Paraffin baiting استفاده شد و سپس بر روی کلنی‌های خالص تعیین هویت گونه‌های نوکاردیا با استفاده از طیف وسیعی از آزمون‌های فنوتیپی انجام پذیرفت (شکل‌های ۱ تا ۴). از ۱۱۰ نمونه‌ی خاک بعد از تلقیح در محیط کربن فری براث حاوی میله‌ی پارافینی، ۱۹ کلنی مشکوک که بر روی میله‌ی پارافینی رشد کرده بودند، از نظر ماکروسکوپی و میکروسکوپی (رشته‌ای منشعب و قطعات کوکوباسیلی و گرم مثبت) مشابه جنس نوکاردیا بودند. بعد از تهیه‌ی کلنی خالص بر روی محیط نوترینت آگار و سابورو دکستروز آگار، از نظر رنگ‌آمیزی گرم و پارشیال اسید فاست و اسید فاست مورد بررسی قرار گرفتند. کلنی‌هایی که از نظر رنگ‌آمیزی گرم، مثبت؛ رنگ‌آمیزی اسید فاست، منفی، رنگ‌آمیزی پارشیال اسید فاست، مثبت و نیز دارای رشد بر روی محیط لیزوزیم براث بودند، به عنوان جنس نوکاردیا تشخیص داده شدند.



شکل ۱. آزمون‌های بیوشیمیایی، الف: سیترات، ب: نیترات ردوکتاز، ج: هیدرولیز اوره، د: تولید اسید از کربوهیدرات (سوربیتول)



شکل ۲. کلنی نوکاردیا بر روی محیط نوترینت آگار



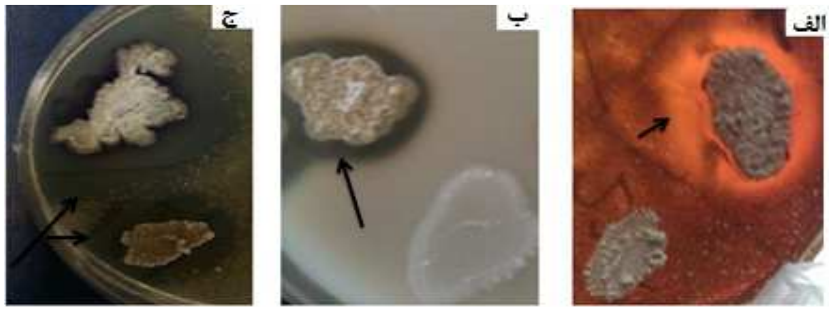
شکل ۳. الف: رشد در محیط لیزوزیم براث، ب: هیدرولیز ژلاتین

۱۹ ایزوله‌ی نوکاردیا بر اساس آزمون‌های فنوتیپی تعیین هویت گردیدند (۱۴-۱۲). ۱۲ ایزوله به عنوان نوکاردیا آستروئیدس (N. asteroides) کمپلکس (۶۳/۱۵ درصد)، ۵ ایزوله نوکاردیا سایروسرژیکا (N. cyriacigeorgica) (۲۶/۳۱ درصد) و ۱ ایزوله نوکاردیا اوتایدیس کاویاروم (N. otitidiscaviarum) (۵/۲۶ درصد) تشخیص داده شد. ضمن این که گونه‌ی ۱ ایزوله (۵/۲۶ درصد) با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی و فنوتیپی آن شناسایی نگردید (جدول ۱). بیشترین گونه‌ی جداسازی شده، به نوکاردیا آستروئیدس اختصاص داشت.

جدول ۱. نتایج حاصل از آزمایش‌های فنوتیپی ایزوله‌های نوکاردیا

شماره‌ی ایزوله‌های نوکاردیا	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹
آزمایش‌های فنوتیپی																			
رشد در لیزوزیم براث	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
احیای نیترات	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
هیدرولیز اوره	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
هیدرولیز ژلاتین	-	W	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	W	-	-
هیدرولیز کازئین	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
هیدرولیز تیروزین	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
هیدرولیز هیپوگزانتین	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
هیدرولیز زانتین	-	-	-	-	-	-	-	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
مصرف سیترات	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
تولید اسید از رامنوز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تولید اسید از سوربیتول	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تولید اسید از زایلوز	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تولید اسید از سوکروز	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تولید اسید از لاکتوز	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
تولید اسید از گلوکز	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تولید اسید از مالتوز	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
تولید اسید از گالاکتوز	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
رشد در دمای 45^c	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
رشد در دمای 35^c	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
*نتایج	N. asteroides complex	N. asteroides complex	N. asteroides complex	N. cyriacigeorgica	N. asteroides complex	N. asteroides complex	Unknown	N. otitidiscaviarum	N. asteroides complex	N. asteroides complex	N. asteroides complex	N. cyriacigeorgica	N. asteroides complex	N. cyriacigeorgica	N. asteroides complex	N. asteroides complex	N. asteroides complex	N. asteroides complex	N. asteroides complex

w: ضعیف (weak reaction)؛ +: مثبت (Positive)؛ -: منفی (Negative)



شکل ۴.آزمایش هیدرولیز در محیط‌های مختلف شامل الف: تیروزین، ب: کازئین و ج: هیپوزانتین

بحث

جایگاه اصلی نوکاردیا خاک است و به واسطه‌ی دارا بودن آنزیم‌های خاص، توانایی تجزیه‌ی مواد آلی خاک را دارد. این باکتری قادر است عفونت‌های خطرناک و کشنده‌ای را در افراد مستعد به خصوص مبتلایان به نقص سیستم ایمنی به وجود آورد. عفونت‌های ناشی از گونه‌های نوکاردیا باعث ایجاد طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها (شامل عفونت ریوی، منتشره و یا به ندرت، زیرجلدی با تلقیح مستقیم با پوست، آبسه) می‌شوند که ممکن است از خاک به هوا انتقال یابد. طبقه‌بندی گونه‌ی نوکاردیا به سرعت در حال تغییر است ودر سال‌های اخیر تغییرات زیادی یافته است (۱۶-۱۵، ۱).

طبق مطالعه‌ی صورت گرفته توسط Kageyama و همکاران، برخی از گونه‌ها اولین بار از نمونه‌های بالینی و برخی نیز از نمونه‌های محیطی جداسازی گردیده‌اند. همچنین تعدادی از گونه‌ها، از خاک و نیز نمونه‌های بالینی جداسازی شده‌اند که ارتباط انتقال از طریق خاک به هوا و به دنبال آن از طریق آئروسل به انسان را نشان می‌دهد (۱۷). به دلیل ماهیت کند رشد بودن جنس نوکاردیا و رشد سریع سایر گونه‌های میکروبی، اغلب ایزوله‌های نوکاردیا جداسازی و تشخیص داده نمی‌شوند (۱۸). برای تشخیص آزمایشگاهی و شناسایی هویت نوکاردیا، چندین روش میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل رنگ‌آمیزی پارشیال اسید فاست، رشد در محیط لیزوزیم براث، هیدرولیز ترکیباتی مانند آدنین، کازئین، تیروزین، زانتین و هیپوگزانتین وجود دارد (۱).

در مطالعه‌ی Kageyama و همکاران، از آزمایش‌هایی مانند هیدرولیز آدنین، کازئین، هیپوگزانتین، زانتین، تیروزین، اوره، تولید اسید از کربوهیدرات، استفاده از اسیدهای آلی، رشد در دمای خاص و آنالیز سلول از نظر الگوی DAP (Diaminopimelic acid) برای شناسایی گونه‌های نوکاردیا استفاده شد (۱۷).

جنس نوکاردیا با جنس‌های مشابه و نزدیک به خود مانند مایکو باکتریوم (Mycobacterium)، کورینه باکتریوم (Corynebacterium)، رودو کوکوس (Rhodococcus)، گوردونیا (Gordonia) و تسوکامورلا (Tsukamurella) شباهت زیادی دارد، بنابراین شناسایی آن‌ها نیاز به مهارت و دقت بسیار دارد (۱۹).

لازم به ذکر است که این دسته ازآزمایش‌ها اگر چه به عنوان آزمایش‌های مرسوم میکروبیولوژیک هستند؛ اما به دلیل وقت‌گیر بودن و نیاز به کارشناس مجرب، تنها در مراکز تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های

مرجع مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۸).برای شناسایی دقیق و صحیح گونه‌های نوکاردیا در این پروژه، طیف وسیعی از آزمایش‌های فنوتیپی مورد استفاده قرار گرفت. در بررسی کنونی با توجه به این تعداد آزمون، باز هم بعضی از ایزوله‌های نوکاردیا بر اساس آزمایش‌های فنوتیپی تشخیص داده نشدند؛ چرا که تعداد گونه‌های نوکاردیا رو به افزایش می‌باشد و بعضی از گونه‌ها، دارای ویژگی‌های بسیار مشابهی هستند.

در مطالعه‌ی انجام شده توسط آقامیریان و غیاثیان، با بررسی ۳۰۰ نمونه‌ی خاک از مناطق مختلف شهر قزوین، بروز و تنوع اکتینومایست‌های هوازی مهم توسط آزمایش‌های فنوتیپی مورد ارزیابی قرار گرفت. ۱۵/۷ درصد نوکاردیا آستروئیدس (N.asteroides)، ۹/۴ درصد نوکاردیا اوتایدیس کاویاروم (N.otitidiscaviarum) و ۷/۳ درصد نوکاردیا برازیلینسیس (N.brasiliensis) گزارش شد (۲۰).

در مطالعه‌ای دیگر توسط کچویی و همکاران، بروز و تنوع نوکاردیاهای خاک در مناطق مختلف استان اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌ی آزمایش‌های فنوتیپی، ۴۵/۵ درصد نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس، ۲۴/۷ درصد نوکاردیا برازیلینسیس، ۲/۲ درصد نوکاردیا اوتیتیدیس کاویاروم، ۱/۷ درصد نوکاردیوپسیس داسون ویلی (Nocardiopsisdassonvillei) و ۱/۱ درصد نوکاردیا ترانسوالنسیس (N.transvalensis) بود و ۲۳ درصد ایزوله‌ها بر اساس این آزمون‌ها شناسایی نشدند (۲۱).

در مطالعه‌ی حاضر یک ایزوله (۵/۲۶ درصد) بر اساس آزمون‌های فنوتیپی دارای نتایج متغیر بود و شناسایی نگردید. لازم به ذکر است که شیوع گونه‌های مختلف نوکاردیا در مناطق مختلف جغرافیایی، متفاوت است و بستگی به عواملی مانند میانگین حرارت روزانه، رطوبت، ترکیبات خاک، pH خاک و عوامل دیگر دارد.

بیشتر موارد نوکاردیوزیس توسط نوکاردیا آستروئیدس گزارش گردیده است (۲۰) که در مطالعه‌ی حاضر نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس (۶۳/۱۵ درصد) نیز به همین شکل بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به گوناگونی خاک به عنوان اکوسیستم طبیعی نوکاردیا و تنوع این باکتری به لحاظ گونه‌های بیماری‌زا در اقلیم‌های مختلف، گونه‌هایی از نوکاردیا از خاک تهران شناخته و معرفی شدند که به نظر می‌رسد برای شناسایی بهتر باکتری و شناخت دقیق‌تر بیماری نوکاردیوزیس آزمون‌های وسیع‌تر فنوتیپی و بررسی‌های سلولی مولکولی بیشتری لازم است. داده‌های به دست آمده می‌تواند در بررسی‌های اپیدمیولوژیک و پیشگیری و کنترل بیماری نقش پر رنگتری داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران در انجام این مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. 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.
2. Shawar RM, Moore DG, LaRocco MT. Cultivation of Nocardia spp. on chemically defined media for selective recovery of isolates from clinical specimens. J Clin Microbiol 1990; 28(3): 508-12.
3. Cercenado E, Marin M, Sanchez-Martinez M, Cuevas O, Martinez-Alarcon J, Bouza E. In vitro activities of tigecycline and eight other antimicrobials against different Nocardia species identified by molecular methods. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(3): 1102-4.
4. Kurup PV, Sandhu RS. Isolation of Nocardia caviae from Soil and Its Pathogenicity for Laboratory Animals. J Bacteriol 1965; 90(3): 822-3.
5. Dekeyser S, Corroyer-Simovic B, Cachia M, Gillot C, Senneville E, Descamps D. Nocardia otitidiscaviarum, cutaneous infection in a patient receiving long-term corticosteroid treatment. Ann Biol Clin (Paris) 2003; 61(2): 219-22.
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. J Clin Microbiol 2001; 39(10): 3705-8.
7. Lechevalier HA. Nocardio-form actinomycetes. In: Holt JG, Editor. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 1994.
8. Mishra SK, Gordon RE, Barnett DA. Identification of nocardiae and streptomycetes of medical importance. J Clin Microbiol 1980; 11(6): 728-36.
9. Mishra SK, Randhawa HS. Application of paraffin bait technique to the isolation of Nocardia asteroides from clinical specimens. Appl Microbiol 1969; 18(4): 686-7.
10. Singh M, Sandhu RS, Randhawa HS. Comparison of paraffin baiting and conventional culture techniques for isolation of Nocardia asteroides from sputum. J Clin Microbiol 1987; 25(1): 176-7.
11. Khan ZU, Neil L, Chandy R, Chugh TD, Al-Sayer H, Provost F, et al. Nocardia asteroides in the soil of Kuwait. Mycopathologia 1997; 137(3): 159-63.
12. Albuquerque de Barros EV, Manfio GP, Ribiero M, V, Mendes Bataus LA, Kim SB, Maldonado LA, et al. Nocardia cerradoensis sp. nov., a novel isolate from Cerrado soil in Brazil. Int J Syst Evol Microbiol 2003; 53(Pt 1): 29-33.
13. Schlaberg R, Huard RC, Della-Latta P. Nocardia cyriacigeorgica, an emerging pathogen in the United States. J Clin Microbiol 2008; 46(1): 265-73.
14. Wang L, Zhang Y, Lu Z, Shi Y, Liu Z, Maldonado L, et al. Nocardia beijingensis sp. nov., a novel isolate from soil. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51(Pt 5): 1783-8.
15. Eshraghi SS, Fatahi Bafghi M, Ghafouri A, Heidarieh P, Habibnia S, Rasouli Nasab M, et al. Isolation and identification of Nocardia asteroids complex isolated from thigh abscess in a patient with Behçet\'s syndrome: the first report from Iran. Tehran Univ Med J 2013; 71(7): 476-9. [In Persian].
16. 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].
17. Kageyama A, Yazawa K, Kudo T, Taniguchi H, Nishimura K, Mikami Y. First isolates of Nocardia abscessus from humans and soil in Japan. Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi 2004; 45(1): 17-21.
18. Pottumarthy S, Limaye AP, Prentice JL, Houze YB, Swanzy SR, Cookson BT. Nocardia veterana, a new emerging pathogen. J Clin Microbiol 2003; 41(4): 1705-9.
19. Wallace RJ, Jr., Brown-Elliott BA, Wilson RW, Mann L, Hall L, Zhang Y, et al. Clinical and laboratory features of Mycobacterium porcinum. J Clin Microbiol 2004; 42(12): 5689-97.
20. Aghamirian MR, Ghiasian SA. Isolation and characterization of medically important aerobic actinomycetes in soil of Iran. Open Microbiol J 2009; 3: 53-7.
21. Kachuei R, Emami M, Mirnejad R, Khoobdel M. Diversity and frequency of Nocardia spp. in the soil of Isfahan province, Iran. Asian Pac J Trop Biomed 2012; 2(6): 474-8.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 01.11.2013
Vol. 31, No. 265, 3rd Week, February 2014
Accepted: 05.01.2013

Identification of *Nocardia* Species Isolated from Soil Samples of the City of Tehran, Iran, Using Phenotypic Tests

Masoumeh Rasouli-nasab MSc[1], Shadi Habibnia MSc[1], Parvin Heidarieh PhD[2], Mehdi Fatahi-Bafghi[3], Mohammad Reza Pourmand PhD[4], Seyyed Saeed Eshraghi PhD[5]

Original Article

Abstract

Background: *Nocardia* are Gram-positive, aerobic and partially acid-fast and cause dangerous infectious disease, nocardiosis, by entering the respiratory tract or damaged skin. In this study, we used various biochemical tests for identificating *Nocardia* species in soil samples of the city of Tehran, Iran.

Methods: After isolation of *Nocardia* using paraffin baiting method, for detection and identification of various species, some phenotypic tests including growth in lysozyme broth, hydrolysis of amino acids such as hypoxanthine, xanthine, tyrosine, casein, gelatin and urea, production of nitrate reductase, growth at 35 °C and 45 °C, and utilization of some carbohydrates were used.

Findings: The analysis of phenotypic tests presented that 12 isolates of *Nocardia asteroides* (63.15%), 5 isolates of *Nocardia cyriacigeorgica* (26.31%), and 1 isolate of *Nocardia otitidiscaviarum* (5.26%) were identified. Only 1 isolate (5.26%) remained undetected after phenotypic tests.

Conclusion: In this study, several *Nocardia* species isolated from the soil samples of Tehran which were phenotypically similar to the well-known species. However, further identification tests are required to confirm the heterogeneity of the isolates and to identify the exact phenotype and genotype of the *Nocardia* species.

Keywords: *Nocardia*, Soil, Phenotypic test, Iran

Citation: Rasouli-nasab M, Habibnia Sh, Heidarieh P, Fatahi-Bafghi M, Pourmand MR, Eshraghi SS. **Identification of Nocardia Species Isolated from Soil Samples of the City of Tehran, Iran, Using Phenotypic Tests.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(265): 2081-8

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