مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۳۰/هفته چهارم اردیبهشت ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱/۱۵

جداسازی و تشخیص گونه‌های نوکاردیا از نمونه‌های خاک بر طبق مقایسه‌ی سه روش جداسازی

دکتر جمشید فقری[۱]، سمانه بوربور[۲]، دکتر شراره مقیم[۳]، دکتر حاجیه قاسمیان صفایی[۱]، دکتر بهرام نصر اصفهانی[۳]، دکتر محسن میدانی[۴]، مجتبی اکبری[۵]، نفیسه السادات حسینی[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اکتینومیست‌های هوازی، به خصوص نوکاردیا، یکی از عوامل شایع عفونت‌های سیستمیک در سراسر جهان به شمار می‌روند. تظاهرات بالینی بیماری، طیفی از عفونت‌های پوستی ایجاد شده در اثر تلقیح به بدن از طریق تروما در میزبان سالم از لحاظ سیستم ایمنی تا بیماری ریوی شدید و بیماری سیستم عصبی مرکزی در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی شدید را شامل می‌گردد و ممکن است کشنده باشد. جایگاه نوکاردیا در محیط، به خصوص خاک می‌باشد. هدف از این مطالعه، مقایسه‌ی سه روش فنوتیپی برای جداسازی گونه‌های نوکاردیا بود.

روش‌ها: در این بررسی، ۶۰ نمونه خاک از مناطق اطراف برخی بیمارستان‌ها، زمین‌های کشاورزی و باغچه‌ها با pH و دماهای متفاوت در اصفهان جمع‌آوری گردید. به منظور جداسازی نوکاردیا، سه روش جداسازی از خاک شامل Paraffin baiting (McClung's carbon free broth with paraffin bait)، Paraffin coated slides و Slip-burid مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: روش Paraffin baiting روی ۱۰ نمونه‌ی خاک مورد استفاده قرار گرفت که نتیجه‌ای در بر نداشت. روش Paraffin coated slides نیز روی ۴ نمونه‌ی خاک (از همان نمونه‌های خاک قبلی) انجام گرفت و از این روش هم نتیجه‌ای گرفته نشد. از تعداد ۶۰ نمونه خاک مورد مطالعه در روش سوم، در مجموع ۱۵ مورد (۲۵ درصد) دارای کلنی‌هایی شبیه به نوکاردیا بود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه برای جداسازی نوکاردیا، روش Slip-burid مطلوب تشخیص داده شد.

واژگان کلیدی: نوکاردیا، روش‌های جداسازی، خاک، ایران

ارجاع: فقری جمشید، بوربور سمانه، مقیم شراره، قاسمیان صفایی حاجیه، نصر اصفهانی بهرام، میدانی محسن، اکبری مجتبی، حسینی نفیسه السادات. **جداسازی و تشخیص گونه‌های نوکاردیا از نمونه‌های خاک بر طبق مقایسه‌ی سه روش جداسازی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۳۰): ۳۷۹-۳۷۲

Archive of SID

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۰۵۱۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشیار، گروه باکتری و ویروس شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی کارشناس ارشد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه باکتری و ویروس شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استادیار، گروه عفونی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- دانشجوی دکتری، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- دانشجوی دکتری، گروه باکتری و ویروس شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: سمانه بوربور
Email: s.burbur@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه

اکتینومیست‌های هوازی از جمله‌ی عوامل بیماری‌زایی هستند که به طور شایع در خاک یافت می‌شوند و عامل ایجاد عفونت‌های فرصت طلب در انسان و حیوانات می‌باشند. افزایش عفونت‌های ناشی از اکتینومیست‌های هوازی، به خصوص گونه‌های نوکاردیا، به اشکال بالینی مختلف، به ویژه فرم منتشره، در افراد با سیستم ایمنی سالم و یا در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی، سرطان، ایدز، دیابت، سل و نیز بیماران تحت درمان با داروهای سرکوب کننده‌ی سیستم ایمنی و آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف در جهان اهمیت شناسایی این باکتری‌ها را نشان می‌دهد؛ ضمن این که این باکتری در مناطق مختلف جهان به صورت پراکنده پخش شده است (۱۱-۱).

نوکاردیاها جزء خانواده‌ی نوکاردیاسه بوده، هوازی، Gram مثبت، اسید فاست نسبی، غیر متحرک و فاقد اسپور می‌باشند (۱۲، ۱). از لحاظ مورفولوژی، این باکتری در زیر میکروسکوپ با رنگ‌آمیزی کاینیون، رشته‌های شاخه‌ای شده و یا اشکال کوکوباسیلی قرمز و یا قرمز متمایل به بنفش مشاهده می‌شود (۱۴-۱۳).

روش‌ها

خاک مورد نظر برای گرفتن نمونه را از عمق ۳ تا ۵ سانتی‌متری جمع‌آوری کردیم. نمونه‌های مورد بررسی از خاک‌های خشک با دماها و pHهای مختلف از مکان‌های سایه‌دار در اصفهان و مناطق اطراف آن و بیشتر از اطراف مراکز درمانی جمع آوری شد. به منظور جداسازی نوکاردیا، سه روش جداسازی از خاک مورد استفاده قرار گرفت و نتایج با هم مقایسه شد.

روش اول: Paraffin baiting technique (McClung's carbon free broth with paraffin bait)

۱۰ گرم از نمونه‌ی خاک را به ۱۵ میلی‌لیتر محیط Carbon free broth شامل ۲ گرم $NaNO_3$، ۰/۸ گرم K_2HPO_4، ۰/۵ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۱۰ میلی‌گرم $FeCl_3$، ۸ میلی‌گرم $MnCl_{12}.4H_2O$ ۲ میلی‌گرم $ZnSO_4$ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه و کامل حل کردیم؛ pH محیط در حد ۷/۰ بود. برای از بین بردن برخی از باکتری‌های غیر اکتینومیست خاک، مخلوط حاصل را در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۶ دقیقه در بن ماری قرار دادیم. سوپرناتانت با حجم‌های برابر به ۲ لوله‌ی استریل منتقل شد. سپس، یک میله‌ی شیشه‌ای پوشیده با پارافین را در هر لوله قرار دادیم و حجمکل با اضافه کردن لوله به محیط Carbon free broth به ۱۰ میلی‌لیتر رسید. یکی از ۲ لوله را در دمای ۳۵ و دیگری را در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۳ هفته انکوبه کردیم. در این زمان، کلنی‌های نوکاردیا به رنگ سفید تا نارنجی متمایل به صورتی مشاهده می‌شود. آن گاه، کلنی‌ها روی محیط‌های Brain heart infusion agar (BHIA) خون‌دار و یا Sabouraud dextrose agar (SDA) دارای سیکلوهگزامید (۵۰ µg/ml) و با یا بدون کلرآمفنیکل (۵۰ µg/ml) کشت خطی دادیم که بایستی کلنی‌های نوکاردیا به صورت Gram مثبت و پارشیال اسید فست رنگ می‌گرفتند (۱۵، ۷-۶).

روش دوم: Paraffin coated slides

اسلایدها را با پارافین ذوب شده و یک مول NH_4Cl پوشاندیم و بلافاصله برای ۱ روز زیر خاک قرار داده

Archive of SID
www.SID.ir

دادیم. سپس، اسلایدها را برای ۳ تا ۷ روز در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه وبرای ۳ هفته نگهداری کردیم. در انتها، کلنی‌های مشکوک به نوکاردیا را روی محیط SDA سیکلوهگزامید دار (۵۰ µg/ml) کشت خطی دادیم (۱۶).

روش سوم: Slip-burid method

۳ تا ۵ گرم خاک مورد نظر را به ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (نرمال سالین) استریل اضافه کرده، ۳ دقیقه Shaker کردیم و برای ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمودیم. بسته به میزان سوپرناتانت (مایع رویی)، وزن ۲ آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و کلرامفنیکل را حساب و به سوپرناتانت اضافه کردیم (۱۴، ۴). به عنوان مثال، ۲ میلی‌لیتر سوپرناتانت را با ۱ میلی‌لیتر محلول دو آنتی‌بیوتیکی مخلوط و برای ۳ دقیقه Shaker می‌کردیم.

از دو آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و کلرامفنیکل برای تهیه‌ی محلول ۱/۵ میلی‌لیتر استفاده نمودیم؛ به این صورت که دو آنتی‌بیوتیک بر اساس تعداد نمونه‌ها وزن شدند. محلول ۱/۵ میلی‌لیتر هر دو آنتی‌بیوتیک را در تعداد نمونه‌های خاک ضرب کردیم که مقدار وزن آنتی‌بیوتیک‌ها به دست آمد. به این صورت که برای دو نمونه‌ی خاک، ۱/۵ میلی‌لیتر را در ۲ ضرب کرده، مقدار به دست آمده را به صورت هزارم گرم (در این مثال ۰/۰۰۳) در نظر گرفته، این مقدار را با ۳ میلی‌لیتر حلال مخصوص هر دو آنتی‌بیوتیک، به صورت جداگانه مخلوط و به مدت ۱ دقیقه Shaker نمودیم. آن گاه، به نصف حجم سوپرناتانت به دست آمده از خاک، محلول دو آنتی‌بیوتیک را اضافه و به مدت ۱ تا ۳ دقیقه Shaker کردیم. این محلول را به مدت نیم ساعت در دمای اتاق انکوبه کردیم و سپس با لوپ استریل، حدود یک قطره (۵۰ میکرولیتر) از محلول فوق را روی محیط کشت BHI یا SDA آگار خون‌دار آنتی‌بیوتیک دار (دارای سیکلوهگزامید و کانامایسین) کشت خطی دادیم و به مدت ۲ تا ۳ هفته در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه کردیم. کلنی‌های مشکوک به گونه‌های نوکاردیا به صورت گچی، چروکیده و به رنگ‌های قرمز، نارنجی، زرد و سفید متمایل به کرم به چشم می‌خورد (اشکال ۱ و ۲). ما کلنی‌های گچی غیرمنظم به رنگ سفید، نارنجی و گل‌بهی متمایل به صورتی مشکوک به نوکاردیا را ابتدا با رنگ آمیزی Gram و سپس با رنگ آمیزی کاینیون رنگ آمیزی نمودیم (۱۴، ۴). کلنی‌های مشکوک به گونه‌های نوکاردیا در رنگ آمیزی کاینیون، به صورت شاخه‌ای و کوکوباسیل در زیر میکروسکوپ مشاهده شد (شکل ۳).

شکل ۱. کلنی گچی مشکوک به نوکاردیا

شکل ۲. کلنی چروکیده مشکوک به نوکاردیا

Archive of SID
www.SID.ir

شکل ۳. نمای نوکاردیا با رنگ آمیزی کاینیون در میکروسکوپ الکترونی (اسیدفاست نسبی به شکل شاخه‌ای قرمز رنگ).

یافته‌ها

در این بررسی، تعداد ۶۰ نمونه‌ی خاک از مناطق مختلف اصفهان جمع‌آوری شد. روش Paraffin baiting روی ۱۰ نمونه‌ی خاک مورد استفاده قرار گرفت که نتیجه‌ای در بر نداشت. روش Paraffin coated slides نیز روی ۴ نمونه‌ی خاک انجام شد و از این روش هم نتیجه‌ای گرفته نشد. اما، از تعداد ۶۰ نمونه‌ی خاک مورد مطالعه در روش Slip-burid در مجموع ۱۵ مورد (۲۵ درصد) دارای کلنی‌هایی شبیه به نوکاردیا بودند. بنابراین، بر آن شدیم تا بیشتر روش Slip-burid را برای جداسازی نوکاردیا مورد بررسی قرار دهیم. دماها و pHهای خاک‌های مورد مطالعه به ترتیب بین ۱۲ تا ۱۶ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۶/۵ تا ۸ اندازه‌گیری شد. یافته‌های نهایی در جدول ۱ قابل مشاهده است.

جدول ۱. جداسازی گونه‌های نوکاردیا از خاک بر طبق مکان، زمان و pH نمونه‌های مثبت

مکان جداسازی نمونه‌های مثبت خاک	ماه‌های جداسازی نمونه‌های مثبت	pH خاک	دمای خاک (درجه‌ی سانتی‌گراد)
باغچه	خرداد	۶/۷	۱۴
بیمارستان	دی	۶/۷–۷	۱۴
بیمارستان	دی	۷/۵–۸	۱۲
بیمارستان	دی	۶/۵	۱۲
بیمارستان	دی	۶/۵	۱۲
بیمارستان	دی	۶/۵	۱۲
بیمارستان	دی	۶/۸	۱۶
بیمارستان	دی	۶/۸	۱۶
بیمارستان	دی	۶/۵	۱۴
باغچه	دی	۷/۵	۱۶
باغچه	دی	۷/۵	۱۶
بیمارستان	بهمن	۶/۷	۱۳
پارک	اردیبهشت	۶/۸	۱۴
بیمارستان	اردیبهشت	۶/۵	۱۲
بیمارستان	اردیبهشت	۶/۵	۱۳

www.SID.ir

بحث

نوکاردیاها از جمله‌ی عوامل بیماری‌زایی هستند که به طور شایع در محیط به ویژه در خاک، یافت می‌شوند. در مطالعه‌ی حاضر، بر آن شدیم تا تنوع این باکتری را با مقایسه‌ی سه روش جداسازی بررسی کنیم. از تعداد ۶۰ نمونه‌ی خاک مورد مطالعه، انجام روش Paraffin baiting روی ۱۰ نمونه‌ی خاک و روش Paraffin coated slides روی ۴ نمونه‌ی خاک نتیجه‌ای در بر نداشت؛ اما در روش Slip-burid در مجموع در ۱۵ نمونه (۲۵ درصد)، کلنی‌هایی شبیه به نوکاردیا مشاهده شد. در این تکنیک، محیط BHI آگار شامل دو آنتی‌بیوتیک (کانامایسین و سیکلوهگزامید) است و این مسأله نشان می‌دهد که کانامایسین باعث تحریک رشد نوکاردیا و اکتینومادورا می‌شود (۱۴).

در برخی مطالعه‌ها روش Paraffin baiting نتایج قابل قبول‌تری داشته است (۱۷، ۱۴)؛ Khan و همکاران با مطالعه بر روی ۱۰۲ نمونه‌ی خاک توانستند با روش Paraffin baiting، ۴۲ گونه‌ی نوکاردیای محیطی (۴۱ درصد) از ۲ منطقه در کویت را جداسازی کنند و اولین گزارش نوکاردیا آستروئیدس از کویت را ارائه دهند (۷). در مطالعه‌ی آنان، بعد از کشت روی محیط‌های آنتی‌بیوتیک‌دار BHI آگار با خون گوسفندی و SDA، محیط‌های مذکور در دو دمای ۳۵ و ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. در مطالعه‌ی ما، محیط‌های کشت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند.

فراوانی نوکاردیا در خاک مورد مطالعه‌ی ما با روش Slip-burid ۲۵ درصد بود. شیوع این باکتری در مناطق مختلف دنیا متفاوت است و بین ۵۰-۵ درصد گزارش شده است (۲۰-۱۸). همچنین، آقامیریان و غیاثیان در قزوین با روش Slip-burid این شیوع را ۴۰/۶ درصد (۴) و کچویی و همکاران در اصفهان ۱۹/۱ درصد گزارش کرده‌اند (۱۴). نتایجی شبیه به نتایج قزوین در آرژانتین (۲۱) و تانزانیا (۲۲) هم گزارش شده است. این نتایج، بیشتر از میزان به دست آمده در هند (۸ درصد) است (۱۹).

در آرژانتین، van Gelderen de و همکاران، با روش Paraffin baiting توانستند ۳۳ گونه نوکاردیای پاتوژن و از این ۳۳ گونه، ۲۸ ایزوله‌ی برازیلینسیس، ۳ ایزوله‌ی آستروئیدس و ۲ ایزوله کاویه جداسازی کنند؛ این اولین گزارشی بود که از آرژانتین ارایه شد (۲۰).

در بررسی‌هایی که توسط Ayyar و همکاران در کشور هند بر روی نمونه‌های بالینی با سه روش Paraffin baiting، Modified Thayer Martin medium (MTM) و Paraffin agar medium انجام گرفت، در روش Paraffin baiting، همانند مطالعه‌ی ما، دمای انکوباسیون ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد برای محیط SDA مورد استفاده قرار گرفت. در روش MTM، در محیط Thayer Martin اصلاح شده از خون گوسفندی همولیز شده همراه با افزودنی حاوی ونکومایسین، کلیسیتین و نیستاتین (VCN) با مقدار مشخص استفاده شد. در روش سوم Paraffin agar medium نیز ۲ درصد آگار به محیط مایع McClung's carbon free broth اضافه شد؛ در روش اول و سوم نیز همانند روش اول در مطالعه‌ی ما پارافین به عنوان منبع کربن باکتری مورد استفاده قرار گرفت. در بررسی آنان، رشد گونه‌های نوکاردیا در هر سه روش مشاهده شد (۱۵).

در مطالعات پیش‌گفته، به جز مطالعه‌ی کچویی و

Archive of SID
www.SID.ir
www.mui.ac.ir

همکاران (۱۴) و همچنین مطالعه‌ی ما، دما و pH خاک مورد بررسی قرار نگرفته است. در مطالعه‌ی ما جداسازی گونه‌های متفاوت نوکاردیا، از مناطق مختلف اصفهان، با بررسی عوامل محیطی مانند pH خاک و آب و هوای مختلف و تنوع این باکتری ارزیابی شده است. دما و pH خاک‌های مورد مطالعه، که نوکاردیا از آن‌ها جداسازی شد، به ترتیب بین ۱۲ تا ۱۶ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۶/۵ تا ۸ بود. کچویی و همکاران نیز گونه‌های نوکاردیا را در همین محدوده‌ی pH جداسازی کردند (۱۴). در مطالعه ما نوکاردیا به ترتیب بیشتر در ماه‌های اردیبهشت، خرداد، دی و بهمن و نیز از خاک‌های خشک و مناطق سایه‌دار اطراف بیمارستان‌های اصفهان جداسازی شد.

به نظر می‌رسد، نتیجه نگرفتن در روش Paraffin baiting و Slip-burid در مطالعه‌ی ما، به علت کم بودن مقدار باکتری باشد. برای بهتر نتیجه گرفتن باید از محیط‌های غنی کننده‌ی مایع برای افزایش مقدار باکتری استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

از آن جایی که گونه‌های نوکاردیا، باکتری‌هایی محیطی و ساپروفیت هستند و امکان انتقال آلودگی از محیط به افراد دارای نقص سیستم ایمنی بستری در بیمارستان افزایش می‌یابد، بهتر است که به بهداشت بیمارستان‌ها در این زمینه بیشتر اهمیت داده شود و بیمارستان‌ها از وجود خاک و گرد و غبار عاری نگه داشته شود تا این باکتری‌ها نتوانند در محیط بیمارستان، به خصوص اتاق‌های افراد دارای نقص سیستم ایمنی پخش شوند.

این باکتری در بحث درمان نیز اهمیت پیدا می‌کند؛ چرا که احتمال اشتباه شدن این باکتری با باکتری‌های دیگر، به خصوص مایکوباکتریوم، وجود دارد.

در این مطالعه، گونه‌های نوکاردیا بیشتر در ماه دی فصل زمستان جداسازی شد؛ پس پرسنل بیمارستان باید مراقبت‌های ویژه در این فصل را بیشتر در نظر بگیرند.

در این مطالعه، سه روش برای جداسازی نوکاردیا بررسی شد که به علت جداسازی بهتر در روش Slip-burid، این روش در ترجیح داده شد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله لازم می‌دانند که از گروه میکروب و ویروس شناسی و معاونت پژوهشی دانشکده‌ی علوم پزشکی این دانشگاه کمال تشکر خود را ابراز کنند.

References

1. Borm W, Gleixner M. Nocardia brain abscess misinterpreted as cerebral infarction. J Clin Neurosci 2003; 10(1): 130-2.
2. Saubolle MA, Sussland D. Nocardiosis: review of clinical and laboratory experience. J Clin Microbiol 2003; 41(10): 4497-501.
3. Rodriguez-Nava V, Couble A, Devulder G, Flandrois JP, Boiron P, Laurent F. Use of PCR-restriction enzyme pattern analysis and sequencing database for hsp65 gene-based identification of Nocardia species. J Clin Microbiol 2006; 44(2): 536-46.
4. Aghamirian MR, Ghiasian SA. Isolation and characterization of medically important aerobic actinomycetes in soil of Iran (2. Open Microbiol J 2009; 3: 53-7.
5. Baron E, Peterson LR, Finegold SM. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 7th ed. Philadelphia, PA: Mosby; 1994.
6. Singh M, Sandhu RS, Randhawa HS.

Archive of SID
www.SID.ir

Comparison of paraffin baiting and conventional culture techniques for isolation of Nocardia asteroides from sputum. J Clin Microbiol 1987; 25(1): 176-7.
7. 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.
8. Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Winn WC. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
9. McTaggart LR, Richardson SE, Witkowska M, Zhang SX. Phylogeny and identification of Nocardia species on the basis of multilocus sequence analysis. J Clin Microbiol 2010; 48(12): 4525-33.
10. 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.
11. Sahathevan M, Harvey FA, Forbes G, O'Grady J, Gimson A, Bragman S, et al. Epidemiology, bacteriology and control of an outbreak of Nocardia asteroides infection on a liver unit. J Hosp Infect 1991; 18(Suppl A): 473-80.
12. Sabuncuoglu H, Cibali Acikgo ZZ, Caydere M, Ustun H, Semih K, I. Nocardia farcinica brain abscess: a case report and review of the literature. Neurocirugia (Astur) 2004; 15(6): 600-3.
13. Xing K, Qin S, Fei SM, Lin Q, Bian GK, Miao Q, et al. Nocardia endophytica sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from the oil-seed plant Jatropha curcas L. Int J Syst Evol Microbiol 2011; 61(Pt 8): 1854-8.
14. 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.
15. Ayyar S, Tendolkar U, Deodhar L. A comparison of three media for isolation of Nocardia species from clinical specimens. J Postgrad Med 1992; 38(2): 70-2.
16. van Gelderen de KA, Duran EL. The efficiency of 1 M NH4Cl and 2 M NaCl for the isolation of pathogenic Nocardia from soil. Mycopathologia 1989; 108(2): 117-23.
17. Kampfer P, Huber B, Buczolits S, Thummes K, Grun-Wollny I, Busse HJ. Nocardia acidivorans sp. nov., isolated from soil of the island of Stromboli. Int J Syst Evol Microbiol 2007; 57(Pt 6): 1183-7.
18. Vetlugina LA, Adiiatova Z, Khozhamuratova SS, Rymzhanova ZA, Trenozhnikova LP, Kopytina MN. Isolation of Actinomycetales from the soil of Kazakhstan on selective media with antibiotics. Antibiot Khimioter 1990; 35(2): 3-5. [In Russian].
19. Goel S, Kanta S. Prevalence of Nocardia species in the soil of Patiala area. Indian J Pathol Microbiol 1993; 36(1): 53-60.
20. van Gelderen de KA, Runco de LR, Salim R. Natural occurrence of Nocardia in soil of Tucuman: physiological characteristics. Mycopathologia 1987; 99(1): 15-9.
21. Negroni R, Lopez DG, Arechavala A, Bianchi MH, Robles AM. Clinical and microbiological study of mycetomas at the Muniz hospital of Buenos Aires between 1989 and 2004. Rev Argent Microbiol 2006; 38(1): 13-8. [In Spanish].
22. Denguezli M, Kourda M, Ghariani N, Belajouza C, Mokni B, Chebil F, et al. Mycetomas in central Tunisia. Ann Dermatol Venereol 2003; 130(5): 515-8. [In French].

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School
Received: 19.01.2013
Vol. 31, No. 230, 4th Week, May 2013
Accepted: 04.04.2013

Isolation and Identification of *Nocardia* Species from Soil Samples according to Comparison of Three Methods

Jamshid Faghri PhD[1], Samaneh Bourbour[2], Sharareh Moghim PhD[3], Hajieh Ghasemian Safaei PhD[1], Bahram Nasr Esfahani PhD[3], Mohsen Meidani MD[4], Mojtaba Akbari[5], Nafiseh Sadat Hosseini[6]

Original Article

Abstract

Background: Aerobic Actinomycetes, especially Nocardia are of the most common pathogens of systemic infections in worldwide. It is seen from skin infections caused by trauma in normal-immune system host to severe lung diseases or diseases of the central nervous system in patients with immune deficiency. Nocardia species (spp.) are soil-indwelling bacteria. This study aimed to compare three phenotypic methods for isolation and identification of *Nocardia* spp.

Methods: In this study, 60 soil samples were collected from areas of agricultural lands, gardens and around some of the hospitals with different soil temperature and pH in Isfahan, Iran. In order to isolation of *Nocardia* spp. from soil, three different methods were studied: Paraffin baiting method (McClung's carbon free broth with paraffin bait), Paraffin coated slides, and Slip-burid method.

Findings: Paraffin baiting method was surveyed on 10 soil samples and no results were gained. Paraffin coated slides was surveyed on 4 soil samples (same soil samples) but no results were attained. So, slip-burid method of isolation was tested. In this method, 15 out of 60 soil samples (25%) were positive for *Nocardia* spp. and colonies were suspected to *Nocardia* spp.

Conclusion: In this study, slip-burid method found to be more effective for *Nocardia* spp. Isolation.

Keywords: *Nocardia*, Isolation methods, Soil, Iran

Citation: Faghri J, Bourbour S, Moghim Sh, Ghasemian Safaei H, Nasr Esfahani B, Meidani M, et al. **Isolation and Identification of *Nocardia* Species from Soil Samples according to Comparison of Three Methods.** J Isfahan Med Sch 2013; 31(230): 372-9

Archive

* This paper is derived from a MSc thesis No. 390510 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- Associate Professor, Department of Microbiology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- MSc Student, Department of Microbiology and Virology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Microbiology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Infectious and Tropical Diseases, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- PhD Student, Department of Epidemiology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6- PhD Student, Department of Microbiology and Virology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Samane Bourbour, Email: s.burbur@yahoo.com

www.SID.ir