مجله دانشگاه علوم پزشکی جیرفت

سال ۳(۴)، اسفند ۱۳۹۶، صفحه ۲۷۳-۲۶۷

مقاله پژوهشی

ارزیابی و مقایسه کارایی دو روش جداسازی گونه‌های نوکاردیا از نمونه‌های خاک

مسعود کیخا[۱]، سمانه بوربور[۲]، جمشید فقری[۳*]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

[۲] دانشجوی دکتری تخصصی باکتری‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

[۳] دانشیار، گروه میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

مقدمه: نوکاردیا باکتری‌های گرم مثبت، هوازی و اسید فاست نسبی هستند که طیف وسیعی از عفونت‌های حاد و مزمن را در حیوانات و انسان‌ها را ایجاد می‌کنند. خاک و سایر منابع محیطی خواستگاه طبیعی این گروه از باکتری‌ها می‌باشد. گونه‌های نوکاردیا قادرند در منابع محیطی بیمارستان‌ها باقی‌مانده و در میزبانان نقص سیستم ایمنی عفونت‌های کشنده‌ای را سبب شوند. هدف از این مطالعه، مقایسه و ارزیابی دو روش جداسازی نوکاردیا از خاک بود.

روش‌کار: تعداد ۳۰ نمونه خاک از مناطق کشاورزی، پارک، باغچه و بیمارستان‌های اصفهان جمع‌آوری شد. سپس به‌منظور جداسازی گونه‌های نوکاردیا نمونه‌های خاک توسط دو روش Serial dilution و Slip-buried مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌ها در هر دو روش تحت ۳۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲-۳ هفته انکوبه شدند. سپس، از تست مقاومت به لیزوزیم نیز برای تأیید جنس نوکاردیا استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۳۰ نمونه، ۷ (۲۳/۳ درصد) سویه توسط روش Serial dilution و ۳ (۱۰ درصد) سویه نیز با روش Slip-buried جداسازی شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که روش Serial dilution روش مناسبی بود. در روش Slip-buried از آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین و کلرامنفنیکل استفاده می‌شود و با توجه به حساسیت برخی گونه‌های نوکاردیا نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها، این روش مناسب نیست؛ علاوه بر این، روش Serial dilution نسبت به روش Slip-buried روش سریع‌تر و ارزان‌تری می‌باشد.

کلید واژه‌ها : نوکاردیا، خاک، روش Slip-buried، Serial dilution، روش‌های جداسازی

اطلاعات مقاله

دریافت : ۱۳۹۶/۰۹/۰۵

پذیرش : ۱۳۹۶/۱۲/۲۳

***مولف مسئول**

جمشید فقری

ایران، اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی پزشکی.

تلفن: ۰۹۱۳۱۱۴۸۶۱۸

پست الکترونیک:

faghri@med.mui.ac.ir

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2022-08-13]

Journal of Jiroft University of Medical Sciences

Vol. 3, No. 4, Mar 2018, P.267-273

Original Article

Evaluating and comparing the efficacy of two methods in isolation of *Nocardia* species from soil samples

Masoud Keikha[1], Samaneh Bourbour[2], Jamshid Faghri[3*]

[1] MS.c. Student in Medical Microbiology, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

[2] Ph.D. Student in Medical Bacteriology, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[3] Associate Professor, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Abstract

Introduction: *Nocardia* spp. are gram-positive, aerobic and weakly acid-fast bacteria, which can cause a wide range of acute and chronic infections in animals and humans. Soil and other environmental resources are natural habitat of this group of bacteria. *Nocardia* species can survive in the hospital's environmental resources and cause fatal infections in host immune-compromised patients. The purpose of this study was to evaluate and compare two methods of isolation of *Nocardia* species from the soil.

Methods: 30 soil samples were collected from agricultural areas, parks, gardens and hospitals in Isfahan. Then, for isolation of *Nocardia* species, soil samples were studied using Serial dilution and Slip-buried methods. In both methods, samples were incubated at 30 ° C for 2-3 weeks. Then, resistance to lysozyme test was also used to confirm the genus *Nocardia*.

Results: Of 30 samples, 7 (23.3%) strains were isolated using serial dilution method and 3 (10%) strains were isolated by the Slip-buried method.

Conclusion: The results of this study showed that serial dilution method was a suitable method. In the Slip-buried method, streptomycin and chloramphenicol antibiotics are used and due to the susceptibility of some *Nocardia* species to these antibiotics, this method is not appropriate; In addition, the Serial dilution method is more rapid and cheaper than the Slip-buried method.

Keywords: *Nocardia*, Soil, Slip-buried method, Serial dilution, Isolation methods

Article Info
Received: Dec. 26, 2017
Accepted: Mar. 14, 2018

***Corresponding Author:**
Jamshid Faghri
Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Tel: +989131148618

Email:
Faghri@med.mui.ac.ir

Vancouver referencing:
Keikha M, Bourbour S, Faghri J. Evaluating and comparing the efficacy of two methods in isolation of *Nocardia* species from soil samples. *Journal of Jiroft University of Medical Sciences* 2018; 3(4): 267-273.

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2022-08-13]

مقدمه

نوکاردیا باکتری هوازی، گرم مثبت و اسید فاست نسبی می‌باشد که اولین بار توسط دامپزشک و میکروبیولوژیست فرانسوی به نام ادموند نوکارد از عفونت یک اسب معرفی شد؛ این باکتری عامل نوکاردیوزیس بوده و اغلب موارد از بیماران نقص سیستم ایمنی گزارش می‌شود (۱). این دسته از باکتری‌ها به‌طور گسترده در محیط وجود داشته و می‌توان آن‌ها را از منابع مختلفی چون: آب، خاک، گردوغبار، گیاهان در حال فساد و فضولات حیوانی جداسازی کرد (۲). شایع‌ترین اشکال بالینی عفونت‌های نوکاردیا شامل: عفونت‌های تنفسی، عصبی، جلدی، زیر جلدی، جلدی- لنفاوی و مایستومایی بوده (۳)؛ گونه‌های نوکاردیا آستروئیدس و نوکاردیا فارسنیکا از شایع‌ترین گونه‌های نوکاردیایی جدا شده از عفونت‌های بالینی بیماران می‌باشد (۴). علاوه بر اهمیت‌های بالینی ذکر شده، این دسته از باکتری‌ها قابلیت تجزیه‌کنندگی برخی آلاینده‌های طبیعت را دارا بوده که این خصوصیت بیانگر اهمیت این باکتری‌ها در صنعت می‌باشد (۵)، طبق اطلاعات موجود امروزه گونه های متعددی از جنس نوکاردیا شناسایی شده است که از این تعداد؛ تنها ۳۰ گونه از نمونه های بالینی جداسازی شده است (۶).

اصلی‌ترین خواستگاه این دسته از باکتری‌ها می‌باشد، گونه‌های نوکاردیای موجود در خاک می‌توانند توسط ذرات گردوغبار انتشار یافته و در بیماران نقص سیستم ایمنی از قبیل مصرف‌کنندگان داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی، سرطانی‌ها، دریافت کنندگان پیوند و بیماران مبتلا به ویروس نقص سیستم ایمنی (HIV) عفونت‌های نوکاردیایی را پدید آورند (۷)، در همین راستا گزارش‌های متعددی از جداسازی گونه‌های نوکاردیا از خاک بیمارستان‌ها وجود دارد؛ همچنین گزارشی مبنی بر عفونت نوکاردیایی با منشأ ذرات گردوغبار در یک بخش پیوند کلیه که روزانه توسط گلوتارآلدهید ضدعفونی می‌شده به چشم می‌خورد (۸).

جداسازی و شناسایی گونه‌های نوکاردیای موجود در خاک امری پیچیده و دشوار است، گونه‌های نوکاردیا دیر رشد هستند و معمولاً باکتری‌های دیگر سریع‌تر رشد کرده و گونه‌های نوکاردیا تشخیص داده نمی‌شوند؛ علاوه بر این اینگونه مطالعات دید ما را نسبت به چگونگی انتشار و نحوهٔ کنترل عفونت‌های نوکاردیایی وسیع‌تر می‌کند (۷). از جمله مهم‌ترین روش‌های جداسازی نوکاردیا از خاک می‌توان به روش‌هایی از قبیل: ۱- Paraffin baiting technique، ۲- Serial dilution، ۳- Slip-buried method، ۴- Paraffin Agar method، ۵- Humic acid vitamin B agar اشاره کرد (۲،۷)؛ هر کدام از این روش‌ها محدودیت‌ها و مزایای خود را دارد، به‌عنوان مثال: در روش Slip-buried کلرامفنیکل و استرپتومایسین به کار رفته که موجب مرگ برخی گونه‌های نوکاردیا ی موجود در خاک شده، همچنین در روش Paraffin baiting Agar برخی گونه‌های سودوموناس نیز توانایی استفاده از پارافین را دارند (۷). هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه کارایی دو روش سریال رقتی (Serial dilution) و Slip-buried method در جداسازی باکتری نوکاردیا موجود در خاک بوده است.

روش کار

به‌منظور انجام این پژوهش تعداد ۳۰ نمونه خاک به روش تصادفی ساده انتخاب شدند، نمونه‌ها از عمق ۳-۵ سانتی‌متری خاک مناطق کشاورزی، پارک، باغچه‌ها و محیط‌های بیمارستانی و گردوغبار موجود در بخش‌ها جمع‌آوری شدند؛ نمونه‌های خاک توسط قاشقک استریل یکبار مصرف در پلیت‌های استریل جمع‌آوری شدند و در سریع‌ترین زمان برای آزمایشگاه ارسال شدند، سپس دما و pH نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و نمونه‌هایی که بلافاصله بررسی نمی‌شدند در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند، نمونه‌های جمع‌آوری شده بر اساس روش‌های Serial

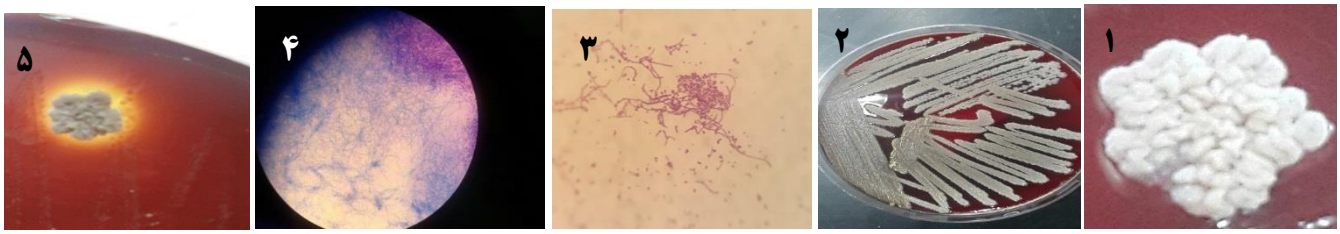
[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2022-08-13]

dilution و Slip-buried مورد بررسی قرار گرفتند؛ در نهایت کلنی‌های با ظاهری شبیه به کلنی‌های نوکاردیا توسط رنگ‌آمیزی گرم و اسید فاست نسبی مورد تأیید قرار گرفتند.

روش سریال رقتی (Serial dilution): در لوله استریل ریخته شد، سپس ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به آن اضافه گردید و سوسپانسیون حاصل به مدت ۳۰ دقیقه توسط همزن الکتریکی مخلوط، سپس ۱ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به دست آمده به درون لوله استریل دیگری منتقل و ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به آن اضافه گردید؛ به این ترتیب دو رقت ۰/۱ و ۰/۰۱ حاصل شد که از هر دو رقت حاصل شده، یک قطره (۵۰ میکرو لیتر) روی محیط بلاد آگار حاوی سیکلوهگزامید (۰/۵ گرم در لیتر) و به روش خطی کشت داده شد؛ نمونه‌ها به مدت ۲ تا ۳ هفته تحت دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و کنترل شدند (۷).

Slip-buried: ۳ گرم از هر نمونه خاک به همراه ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (نرمال سالین) مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد؛ سوسپانسیون تشکیل شده توسط پیپت استریل به لوله استریل دیگری انتقال داده شد، سپس محلول حاوی آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (حلال آب مقطر) و کلرامفنیکل (حلال اتانول) را به حجم نصف سوسپانسیون موجود در لوله استریل افزوده و سوسپانسیون حاصل به مدت ۲ تا ۳ دقیقه مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد؛ در نهایت از هر نمونه یک قطره در محیط بلاد آگار کشت داده شد (برای چک کردن خاصیت بتا همولیز (شکل ۵)) و یک قطره نیز به محیط بلاد آگار انتخابی حاوی سیکلوهگزامید (۰/۵ گرم بر لیتر) و کانامایسین (۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) منتقل شد. پلیت‌ها به مدت ۲ تا ۳ هفته در شرایط دمایی ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۸).

سپس کلنی‌های مشکوک به نوکاردیا (شکل ۱) در محیط‌های بلاد آگار خالص‌سازی (شکل ۲) شدند و توسط رنگ‌آمیزی گرم (شکل ۳)، اسید فاست نسبی (شکل ۴) و تست‌های بیوشیمیایی از قبیل رشد در محیط لیزوزیم براث، احیای نیترات و هیدرولیز اوره تا سطح جنس مورد تأیید قرار گرفتند (۹).



اشکال ۵-۱: به ترتیب: ۱- کلنی نوکاردیا، ۲- کلنی خالص نوکاردیا، ۳- رنگ‌آمیزی گرم، ۴- رنگ‌آمیزی اسید فاست نسبی ۵- بررسی همولیز گونه‌های نوکاردیا

یافته‌ها

محدوده دمایی نمونه‌های خاک مورد مطالعه به ترتیب ۱۳-۲۸ درجه سانتی‌گراد و محدودی pH نمونه‌ها ۶/۲-۷/۸ بود؛ با استفاده از روش سریال رقتی ۷ (۲۳/۳ درصد) ایزوله و بر اساس روش Slip-buried تعداد ۳ (۱۰ درصد) ایزوله کلنی‌هایی با مورفولوژی شبیه به نوکاردیا داشتند که با توجه به شکل کلنی و رنگ‌دانه‌های گچی، نارنجی و گل بهی، مشخصات میکروسکوپیک (شاخه‌ای شکل بودن)، نتایج رنگ‌آمیزی گرم و اسید فاست نسبی و مثبت شدن نتایج تست‌های مقاومت به لیزوزیم، احیای نیترات و توانایی تجزیه اوره به‌عنوان جنس نوکاردیا تأیید شدند.

بحث

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2022-08-13]

خاک به‌عنوان مهم‌ترین مخزن برای نوکاردیا و سایر اکتینومایست‌ها می‌باشد، این عوامل به همراه ذرات گردوغبار به ریه یا پوست افراد منتقل شده و بیماری‌هایی از قبیل نوکاردیوزیس و مایستوما را به وجود می‌آورند (۱۱-۱۲). در مطالعه‌ای که در زمینه جداسازی نوکاردیا از گردوغبار اتاق‌ها صورت گرفت، تعداد ۸۰ گونهٔ نوکاردیا گزارش شد (۱۳) که بیانگر ارتباط بین حضور نوکاردیا در خاک و ایجاد عفونت‌های نوکاردیایی در بیماران است؛ هدف از مطالعه حاضر، مقایسه دو روش سریال رقتی و Slip-buried method در جداسازی نوکاردیا موجود در خاک بود، ما توانستیم با هر دو روش ذکر شده نوکاردیای موجود در خاک را جداسازی کنیم هر چند در روش سریال رقتی نتایج بهتری حاصل شد؛ میزان جداسازی نوکاردیای موجود در خاک با روش سریال رقتی به میزان ۱۳/۳ درصد بیشتر از روش Slip-buried بود. جستجو در پایگاه‌های معتبر اطلاعاتی خارج و داخل کشور نشان داد که اطلاعات در زمینه به‌کارگیری روش سریال رقتی محدود است و توسط محققین کمتر بکار گرفته شده با اینکه روشی ساده و به نظر مطلوب می‌باشد. فقری و همکارانش در مطالعه‌ای که در رابطه با جداسازی گونه‌های نوکاردیای موجود در خاک‌های بیمارستانی و اطراف بیمارستان‌های اصفهان و با استفاده از روش Slip-buried، Paraffin baiting و Paraffin coated slide انجام دادند، دریافتند که روش Slip-buried با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های سیکلوهگزامید و کانامیسین در مقایسه با دو روش دیگر بهتر عمل می‌کند و البته طی بررسی‌های مولکولی درصد جداسازی شده با روش Slip-buried کاهش یافت (۱۰،۸). کجویی و همکارانش طی مطالعه‌ای بر روی نمونه‌های خاک استان اصفهان با استفاده از محیط BHI آگار انتخابی شده با آنتی‌بیوتیک و به‌کارگیری روش Slip-buried موفق به جداسازی ۱۹/۱ درصد نوکاردیا شدند، به‌طوری که ۴۵/۵ درصد ایزوله‌ها، نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس، ۲۴/۷ درصد نوکاردیا برازیلینسیس،۲/۲ درصد نوکاردیا اووتیدیس کاویاروم بود و نوکاردیوپسیس داسنویله‌ای و اکتینومادورا اکتینومادوره نیز به میزان ۱/۷ درصد جداسازی شد (۱۴). شجاعی و همکارانش طی مطالعه‌ای که به‌منظور جداسازی نوکاردیای موجود در خاک بیمارستان‌های استان اصفهان انجام دادند، با استفاده از سه روش سریال رقتی، روش Slip-buried و روش Paraffin bait و استفاده محیط کشت ساتن آگار انتخابی شده توسط آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین و نیستاتین و تحت دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، توانستند ۱۱ ایزوله به روش سریال رقتی، ۷ ایزوله با روش Paraffin bait و ۶ ایزوله با روش Slip-buried را جداسازی و گزارش کنند؛ لازم به ذکر است که مشابه این نتیجه را ما نیز گرفتیم و روش سریال رقتی در مقایسه با Slip-buried method بهتر بود (۷). خانم عندلیبی و همکارانش طی تحقیقات خود روی خاک‌های شمال استان خراسان با روش Paraffin baiting توانستند موفق به جداسازی ۱۱ گونه نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس شوند (۱۵). آقامیریان نیز طی مطالعات خود بر روی ۳۰۰ نمونه از خاک مناطق مختلف قزوین و با استفاده از روش Slip-buried و کشت روی محیط سابرو دکستروز آگار حاوی سیکلوهگزامید و براین هارت اینفیوژن آگار حاوی سیکلوهگزامید در ۳۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳-۲ هفته توانستند تعداد ۹۶ گونه از اکتینومایست های هوازی را جداسازی کنند؛ بیشترین ایزوله‌های جداسازی شده آن‌ها، اکتینومادورا مادوره و استرپتومایسیس سومالنسیس بوده، در حالی که ۱۹/۸ درصد آن‌ها شامل نوکاردیا آستروئیدس، ۱۵/۶ درصد آن‌ها مربوط به نوکاردیا اووتیدی کاویاروم،۹/۴ درصد مربوط به نوکاردیا برازیلنسیس و ۷/۳ درصد مربوط به اکتینومایست پلی‌تری، استرپتومایسیس جیروسی و گونه‌های نوکاردیا و ۵/۲ درصد آن‌ها نیز شامل نوکاردیا ترانس والنسیس، نوکاردیا داسونویلی و گونه‌های اکتینومادوره بودند (۱۲). رسولی نسب و همکارانش نیز در مطالعه‌ای که روی

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2022-08-13]

خاک مناطق مختلف تهران انجام دادند، نمونه‌ها را در سه محیط کشت مایع بدون کربن حاوی میله پارافینی، هیومیک اسید، ویتامین ب و همچنین محیط پارافین آگار و تحت درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳ تا ۴ هفته نگهداری کردند، از جمله نتایجی که به دست آوردند، میزان ۳۱ ایزوله نوکاردیا جداسازی گردید که ۱۹ ایزوله مربوط به میله پارافینی، ۴ ایزوله توسط کشت در محیط هیومیک اسید ویتامین ب و در نهایت ۸ ایزوله نیز توسط کشت در محیط پارافین آگار جداسازی شد (۹).

گونه‌های نوکاردیا نسبت به سایر باکتری‌ها و قارچ‌های موجود در خاک کند رشدتر بوده و نیاز به انکوباسیون طولانی‌مدت دارند، به‌عنوان مثال: نوکاردیا آلبا که به ۴ هفته انکوباسیون نیاز دارد این موضوع موجب گشته تا جداسازی این باکتری‌ها از خاک دشوارتر شود (۱۶). برخی گونه‌های نوکاردیا نیز فاقد فعالیت‌های بیوشیمیایی بوده، لذا به نظر می‌رسد روش‌های مولکولی در جداسازی جنس نوکاردیا بهتر عمل می‌کند (۷). یکی از جنبه‌های مثبت روش Serial dilution نسبت به روش Slip-buried را می‌توان استفاده نکردن از آنتی‌بیوتیک دانست، زیرا برخی گونه‌های نوکاردیا به آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین و کلرامفنیکل حساس هستند (۷)؛ کانامایسین به کار گرفته شده در روش Slip-buried موجب تحریک رشد نوکاردیا شده، زیرا با وجود استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و استرپتومایسین، توانستیم باکتری مورد نظر خود را از نمونه‌های خاک جداسازی کنیم (۷،۱۰). همچنین یکی دیگر از مزایای روش Serial dilution نسبت به روش Slip-buried، این می‌باشد که روش Serial dilution روش ارزان‌تری برای جداسازی نوکاردیا محسوب می‌شود. هر چند در روش سریال رقتی (Serial dilution) در برخی موارد آلودگی با سایر میکروارگانیسم‌ها از رشد گونه‌های نوکاردیا جلوگیری می‌شد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه با توجه به اینکه تظاهرات بالینی بیماران مبتلا به عفونت‌های ریوی نوکاردیایی مشابه بیماری سل بوده و اغلب اشتباه تشخیص داده می‌شود و همچنین کند رشد بودن این گروه از باکتری‌ها؛ جداسازی نوکاردیا از نمونه‌های بالینی و محیطی نیازمند به‌کارگیری تکنیک‌های خاص می‌باشد، همان‌طور که گفته شده این باکتری‌ها از منابع محیطی از قبیل خاک، آب و گردوغبار در محیط بیمارستان‌ها پخش شده و تهدیدی جدی برای بیماران، خصوصاً بیماران با اختلال در سیستم ایمنی، نوزادان و افراد مسن می‌باشد؛ لذا شناسایی مؤثرترین روش‌های جداسازی این باکتری‌ها از نمونه‌های بالینی و محیطی حائز اهمیت می‌باشد؛ این مطالعه جهت مقایسه و ارزیابی دو روش جداسازی نوکاردیا از منابع طبیعی بود، در طی این مطالعه مشخص شد روش Serial dilution از نظر سادگی و هزینه در مقایسه با روش slip-buried نتایج بهتری را در برداشت و تعداد بیشتری نوکاردیا در این روش جداسازی و شناسایی شدند.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از زحمات همکاران دانشگاه علوم پزشکی اصفهان قدردانی می‌شود. این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد به شماره ۳۹۰۵۱۰ دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

تعارض منافع

هیچ تعارض منافعی توسط نویسندگان بیان نشده است.

References

1. Fatahi-Bafghi M, Habibnia S, Heidarieh P, Fateh A, Rasouli-Nasab M, Eshraghi SS, et al. Molecular Techniques in *Nocardia* Identification. Journal of Isfahan Medical School.2014; 32(281):503-6.
2. Habibnia SH, Heidarieh P, Pourmand MR, Fatahi M, Eshraghi SS. Comparison of paraffin bait, humic acid vitamin B agar and paraffin agar methods to isolate Nocardia from soil. Medical Laboratory Journal. 2014;7(5):29-36.

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2022-08-13]

3. Seyyed-Yousefi SZ, Fatahi-Bafghi M, Eshraghi SS, Hoseini B, Habibnia S, Rasouli-Nasab M, et al. Observation of nocardia asteroides complex in a patient with corneal ulceration: The first case report from Iran. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2016;23(2):228-33.
4. Abad SF. Charactrization and isolation of Nocardia from clinical sample Patient suspected to active tuberculosis. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2014;4(13):19-23.
5. Zeinali M, Vossoughi M, Ardestani SK. Characterization of a moderate thermophilic Nocardia species able to grow on polycyclic aromatic hydrocarbons. Letters in Applied Microbiology. 2007;45(6):622-8.
6. Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, Wallace RJ. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. Clinical Microbiology Reviews. 2006;19(2):259-82.
7. Rahdar HA, Azadi D, Daeinaser A, Shojaei H. Comparison of Three Methods of Isolation of the Genus Nocardia from the Soil of Hospitals in Isfahan Province, Iran, and its Identification Based on Phenotypic and Molecular Methods. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2016;23(1):44-54.
8. Bourbour S, Faghri J, Moghim S. Report of *Nocardia* species isolated from soil by 16s rRNA gene sequencing method in Isfahan,Iran. Biological Journal of Microorganism. 2015;4(16):33-42.
9. 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. Journal of Isfahan Medical School. 2014; 31(265): 2081-8.
10. Faghri J, Bourbour S, Moghim S, Safaei HG, Esfahani BN, Meidani M, et al. Isolation and Identification of *Nocardia* Species from Soil Samples according to Comparison of Three Methods. Journal of Isfahan Medical School. 2013;31(230):372-9.
11. Malek E, Moosazadeh M, Hanafi P, Nejat ZA, Amini A, Mohammadi R, et al. Isolation of keratinophilic fungi and aerobic actinomycetes from park soils in Gorgan, North of Iran. Jundishapur Journal of Microbiology. 2013;6(10): e11250.
12. Aghamirian MR, Ghiasian SA. Isolation and characterization of medically important aerobic actinomycetes in soil of iran (2006-2007). The Open Microbiology Journal. 2009;3:53–57.
13. Tsukamura M. *Nocardiae* from room dust. Japanese Journal of Microbiology. 1975;19(4):331-2.
14. Kachuei R, Emami M, Mirnejad R, Khoobdel M. Diversity and frequency of *Nocardia* spp. in the soil of Isfahan province, Iran. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2012;2(6):474-8.
15. Andalibi F, Fatahi-Bafghi M, Heidarieh P, Rasouli-Nasab M, Habibnia S, Pourmand M, et al. Isolation and Identification of *Nocardia* spp. Using Phenotypic Methods from Soil Samples of North Khorasan Province. Journal of Medical Bacteriology. 2015;4(1-2):8-14.
16. Li W-J, Jiang Y, Kroppenstedt RM, Xu L-H, Jiang C-L. Nocardia alba sp. nov., a novel actinomycete strain isolated from soil in China. Systematic and Applied Microbiology. 2004;27(3):308-12.

[Downloaded from journal.jmu.ac.ir on 2022-08-13]