شناسایی عوامل نوکاردیوزیس در نمونه های شستشوی برونش(BAL) بیماران مشکوک به سل مراجعه کننده به بیمارستان های تهران به روش PCR

عسل بانو فامیلی[1]، رضا کچوئی*[2]، رضا میرنژاد[3]، نورامیر مظفری[4]، حسن میرحاج محمد آبادی[5]

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج ، تهران، ایران.
۳- دانشیار، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج ، تهران، ایران.
۴- دانشیار، گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۵- دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی، گروه و مرکز تحقیقات زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه امام حسین(ع)، تهران، ایران.

یافته / دوره شانزدهم / شماره ۴ / زمستان ۹۳ / مسلسل ۶۲

چکیده

دریافت مقاله: ۹۳/۹/۲۲ پذیرش مقاله: ۹۳/۱۰/۳۰

مقدمه: تشخیص گونه‌های نوکاردیای عامل نوکاردیوزیس در آزمایشگاه های روتین پزشکی بر پایه روش های فنوتیپی است که بسیار مشکل و اغلب طولانی و زمان بر است. هدف از این مطالعه شناسایی عوامل نوکاردیوزیس در نمونه های BAL بیماران مشکوک به سل مراجعه کننده به بیمارستان های تهران به روش PCR است.

مواد و روش‌ها: در طی ۸ ماه تعداد ۱۱۶ نمونه شستشوی برونش (BAL) از بیماران بستری در بیمارستان های بقیه ا...(عج)، شریعتی و امام خمینی تهران جمع آوری گردید. استخراج DNA به روش فنل کلروفرم صورت گرفت. جهت انجام Duplex PCR از دو جفت پرایمر NG1 و NG2 اختصاصی جنس نوکاردیا و پرایمرهای BetF و BetR به عنوان ژن استفاده شد. به منظور شناسایی گونه عامل بیماری، محصولات PCR از روی ژل تخلیص و تعیین توالی گردید.

یافته‌ها: به روش مولکولی Duplex PCR ، نوکاردیوزیس در ۷ نمونه (۶/۰۳٪) تشخیص داده شد. پس از تعیین توالی محصولات PCR، مشخص شد که گونه‌های جداسازی شده متعلق به گونه‌های *N. cyriacigeorgica* (۶ مورد) و *N.otitidiscaviarum* (۱ مورد) می باشد.

بحث و نتیجه‌گیری: در مطالعه حاضر استخراج DNA گونه های نوکاردیا در نمونه شستشوی برونش به روش دستی و در حداقل زمان انجام گرفت که سابقه قبلی در ایران نداشت. همچنین بررسی در افراد مشکوک به سل صورت گرفت که به صورت محدود کار شده است، گونه *N. cyriacigeorgica* گونه غالب عامل نوکاردیوزیس بود که طی سال های اخیر معرفی شده است و باید در آزمایشگاه ها، مراکز درمانی و تحقیقاتی مد نظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: نوکاردیا، واکنش زنجیره پلی مراز، لاواژ برونکو آلوئولار.

*آدرس مکاتبه نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی.
پست الکترونیک:kachueiz@yahoo.com

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

مقدمه

نوکاردیوزیس عفونتی فرصت طلب است که در افراد دارای نقص سیستم ایمنی شایع بوده و در افراد با سیستم ایمنی سالم به صورت موردی گزارش می شود (۵-۱). طیف نوکاردیوزیس متشکل از بیماری‌های ریوی، جلدی، زیرجلدی، جلدی-لنفاوی، مغزی و یا سیستمیک است (۸-۶).

مهمترین و شایع‌ترین شکل عفونت نوکاردیوزیس در انسان فرم ریوی است که از طریق استنشاق گونه‌های نوکاردیا از محیط ایجاد می‌شود. تاکنون بیش از ۵۰ گونه نوکاردیا شناسایی شده است که گونه‌های مهم بیماریزا شامل *N. asteroids complex*، *N. brasiliensis*، *N. transvalensis* و *N. pseudobrasiliensis* و *N.otitidiscaviarum* می باشند (۹،۵).

گونه‌های نوکاردیا جنسی از باکتریهای گرم مثبت، هوازی اجباری، کاتالازمثبت، غیرمتحرک، نیمه اسیدفست و کند رشد بوده و در محیط های کشت و بافت ها اغلب تشکیل رشته هایی را می دهند که به آسانی به عناصرکوکسی و باسیلی شکل تبدیل می شوند (۱۰). جایگاه اصلی گونه های نوکاردیا خاک است ولی در آب، فاضلاب و بقایای آلی گیاهان نیز یافت می شوند (۱۴-۱۱).

این باکتریهای فرصت طلب، درون سلولی اختیاری هستند که قادرند در صورت سرکوب سیستم ایمنی بدن، در قسمتهای مختلف بدن از جمله ریه ها مستقر شوند. همچنین تمایل به گسترش به جریان خون داشته و ایجاد آبسه‌های مغزی یا عفونت های پوستی می نمایند که اگر به موقع تشخیص داده و درمان نشود، کشنده خواهد بود (۱۷-۱۵).

از آنجایی که بیماران دچار نقص سیستم ایمنی، بدخیمی های هماتولوژیک، گیرندگان پیوند اعضاء، ایدز، مصرف طولانی مدت کورتیکواستروئیدها، الکلیسم مزمن و دیابتی ها، دچار کمبود سلول T می باشند این بیماران مستعد ابتلا به نوکاردیوزیس ریوی هستند (۱۸،۱۹).

برخی بیماران مبتلا به نوکاردیوزیس ریوی معمولاً دارای یک بیماری زمینه ای ریوی مزمن نیز هستند و اغلب تحت درمان با دوزهای بالای کورتیکواستروئیدی به مدت طولانی می‌باشند (۶). علائم بالینی و ویژگی های رادیولوژیک نوکاردیوزیس ریوی شبیه بیماری سل ریوی است، اما پیشرفت آن نسبت به بیماری سل سریع تر بوده و دوره بیماری چند ماه است. ضایعه ریوی ناشی از نوکاردیوزیس ریوی موضعی و بدون علائم بالینی همراه با آبسه و گاهی به صورت پنومونی دیده می‌شود (۱۹،۲۰).

میزان شیوع بیماری در ایران مشخص نبوده و اغلب به صورت موردی گزارش شده است. در ایالات متحده امریکا میزان بروز بیماری سالانه ۱۰۰۰-۵۰۰ مورد گزارش شده است (۲۰).

دراغلب موارد، عفونتهای نوکاردیوزیس به علت فقدان علائم کلینیکی ویژه به صورت صحیح و سریع تشخیص داده نمی شود (۲۱).

از آنجایی که این ارگانیسم ها کند رشد هستند و تشخیص سریع و دقیق آن از ارگانیسم‌های دیگر برای درمان عفونتهای شدید و نیز پیشگیری از ایجاد آبسه مغزی، ضروری است، از روش های مولکولی که در مقایسه با کشت از سرعت، دقت، حساسیت و اختصاصیت بالاتری در شناسایی گونه‌های نوکاردیا برخوردار هستند استفاده می شود (۲۲).

در سال های گذشته مطالعاتی در ایران با هدف جداسازی عوامل نوکاردیوزیس از نمونه های ریوی اعم از خلط و یا شستشوی برونش به روش کشت صورت گرفته است (۲۳،۲۴) ولی کمتر مطالعه ای به روش مولکولی در این خصوص انجام گرفته است (۲۴).

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

در خارج مطالعات متعددی در این خصوص صورت گرفته است (۳۲-۲۵)، اما در اغلب این مطالعات، ژنوم نوکاردیا به روش استفاده از کیت استخراج شده است و کمتر مطالعه ای به روش دستی اقدام به جداسازی ژنوم نموده است. هدف از این مطالعه شناسایی عوامل نوکاردیوزیس در نمونه های شستشوی برونش(BAL) بیماران مشکوک به سل مراجعه کننده به بیمارستان های تهران به روش PCR است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از سویه استاندارد *N. brasiliensis* (NCIMB ۱۲۰۸۳ PTCC۱۴۲۲) تهیه شده از سازمان پژوهشهای علمی صنعتی ایران و سویه *N. asteroids complex* جدا شده از نمونه های بالینی ارجاع داده شده به آزمایشگاه قارچ شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. در این بررسی تعداد ۱۱۶ BAL در طی مدت ۸ ماه طی سال های ۹۰ تا ۹۱ از بیماران بستری و مراجعه کننده در بیمارستان‌های بقیه ا... (عج)، شریعتی و امام خمینی در تهران جمع آوری گردید.

روش استخراجDNA: در این بررسی از روش فنل کلروفرم بهینه شده استفاده گردید. ابتدا از این روش جهت استخراج DNA سویه های استاندارد و بالینی و سپس برای نمونه های BAL استفاده شد. قبل از استخراج DNA، به منظور یکنواخت نمودن نمونه شستشوی برونش، هم حجم آن، سود ۱٪ افزوده و پس از ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و به رسوب حاصل، بافر استخراج شامل (EDTA یک میلی مولار (pH=۸)، Tris-Hcl ۱۰ میلی مولار (pH=۷/۵) و SDS ۱۰٪) اضافه شد تا رسوب در آن حل گردد. در ادامه پروتئیناز K افزوده، محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۶۵ درجه سانتیگراد قرار گرفته، با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ نموده تا رسوبات سلولی از آن جدا شود. محلول رویی به میکروتیوب استریل جدید منتقل و هم حجم آن از محلول PCI (فنل- کلروفرم- ایزوآمیل الکل) به نسبت (۲۵:۲۴:۱) و سپسCI (کلروفرم- ایزوآمیل الکل) به نسبت (۲۴:۱) استفاده گردید. پس از سانتریفوژ با دور rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه، محلول رویی به میکروتیوب استریل جدید منتقل و در ادامه استات سدیم ۳ مولار و اتانل ۱۰۰٪ سرد افزوده شد و در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری، پس از سانتریفوژ و خالی کردن محلول رویی، ۲۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰٪ اضافه شد. سپس سانتریفوژ با دور rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه انجام و دوباره محلول رویی خالی گردید و اجازه داده شد تا حلال در دمای محیط بخار شده و رسوب که در حقیقت DNA است، خشک گردد. نهایتاً DNA استخراج شده در۲۰ میکرولیتر بافر TE حل گردید.

روش PCR: این روش به منظور شناسایی گونه های نوکاردیا در نمونه برونش و وجود ژن خانه‌دار در نمونه های بالینی مورد بررسی به صورت جداگانه صورت گرفت. واکنش PCR درحجم نهایی µL ۲۵ در نظر گرفته شد. هر نمونه شامل µL ۱۲/۵ Master mix (محتوی بافر، dNTP، Taq DNA polymerase و کلرید منیزیم) (ساخت کمپانی Ampliqon III کشور دانمارک)، یک میکروگرم DNA الگو، ۷/. میکرو لیتر از هر پرایمر F وR با غلظتpmol ۲۰ و آب مقطر دو بار تقطیر استریل تا حجم نهایی واکنش به µL ۲۵ برسد. فرایند PCR شامل واسرشت ابتدایی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ دور واسرشت (۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه)، اتصال (۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه) و گسترش (۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه) و در ادامه، گسترش نهایی (۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه) انجام شد.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

برای بررسی محصولات PCR از الکتروفورز در ژل آگاروز ۱٪ و رنگ آمیزی DNA با رنگ اتیدیوم بروماید استفاده شد. ژل‌ها با استفاده ازدستگاه Gel Documentation مورد بررسی قرارگرفت. محصولات PCR درصورت نیاز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

روش Duplex PCR: به منظور شناسایی عوامل نوکاردیوزیس همراه با هاوسکیپینگ ژن خانه دار در نمونه‌های BAL از Duplex PCR با پرایمرهای شناخته شده و اختصاصی جنس نوکاردیا شامل پرایمرهای NG1 وNG2 برای تکثیر قطعه ۵۹۸ جفت باز از ژن 16S rRNA و پرایمرهای BetF و BetR برای تکثیر قطعه ۲۰۴ جفت بازی ژن بتا اکتین موجود در نمونه های بالینی استفاده شد. این روش همانند PCR انجام گرفت با این تفاوت که همزمان از دو جفت پرایمر در واکنش ۲۵ µL استفاده گردید (۳۳) (جدول ۱).

تعیین توالی: به منظور شناسایی گونه های نوکاردیا، محصولات PCR حاوی قطعه ژن به طول ۵۹۸ جفت بازی را پس از تخلیص از روی ژل، جهت تعیین توالی به شرکت زیست فناوری پیشگام ارسال نموده و نتایج تعیین توالی بوسیله نرم افزار Mega5 آنالیز گردید.

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در PCR

نام پرایمر	ترتیب توالی نوکلئوتیدی	اندازه محصول
NG1	5'-ACCGACCACAAGGGGG-3'	۵۹۸ bp
NG2	5'-GGTTGTAAACCTCTTTCGA-3'	
BetF	5'-CTCAGGAGGAGCAATGATCTTG-3'	۲۰۴ bp
BetR	5'-CTGGGCATGGAGTCCTGTGG-3'	

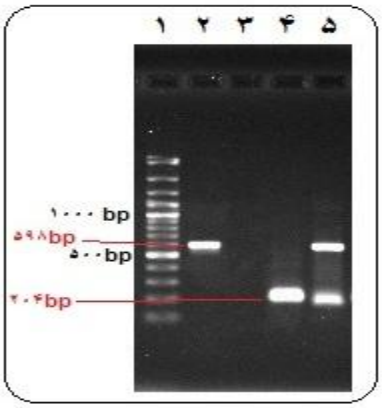
یافته‌ها

نتایج استخراج DNA: بررسی و ارزیابی کمی وکیفی DNA با استفاده از نانودراپ و ژل الکتروفورز نشان می دهد که میزان خلوص DNA در حد استاندارد و استخراج با موفقیت صورت گرفته است.

نتایج PCR و Duplex PCR: شکل۱ نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات PCR نمونه های شستشوی برونش را با پرایمر اختصاصی گونه های نوکاردیا و پرایمر بتا اکتین نشان می دهد. نتایج بررسی بر روی ۱۱۶ نمونه BAL معرف این است که ۷ مورد از نمونه ها از نظر گونه های نوکاردیا مثبت بود. در حقیقت ۱۰۹ نمونه (۹۳/۹۶٪) از نظر گونه های نوکاردیا منفی شد.

نتایج تعیین توالی محصولات PCR: نتایج حاصل از تعیین توالی محصولات PCR نمونه های مثبت نشان داد که از ۷ نمونه BAL، ۶ مورد متعلق به گونه *N. cyriacigeorgica* و ۱ مورد متعلق به گونه *N.otitidiscaviarum* است. جدول ۲ و ۳ توالی مربوط به این دو گونه را نشان می دهد که پس از بلاست توالی های مربوطه مشخص گردید که داده های بدست آمده با توالی های ثبت شده در بانک اطلاعات ژنی(NCBI) از جمله شماره رکورد های KC262108-110 و KF205244-245 به ترتیب مربوط به *N.otitidiscaviarum* و *N. cyriacigeorgica* ۹۹٪ هم‌خوانی دارد.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]



شکل۱. نتایج ژل الکتروفورز محصولات Duplex PCR نمونه های BAL: چاهک۱: مارکر(۱۰۰bp DNA Ladder , SM#333)، چاهک۲: کنترل مثبت با جفت پرایمر NG، چاهک۳: کنترل منفی، چاهک۴: محصولPCR نمونه BAL سالم با پرایمرBet و چاهک۵: محصول PCR Duplex نمونهBAL آلوده به گونه های نوکاردیا با پرایمر NG و Bet .

جدول ۲. توالی قطعه ژنS rRNA ۱۶ مربوط به نوکاردیا سایریاسی جورجیکا جدا شده در بررسی حاضر با پرایمرهای اختصاصی جنس نوکاردیا (NG1 وNG2)

CCTAGGCTTCGGGTGTTGTCAACCCAGGTAAGGTTCTTCGCGT
TGCATCGAATTAATCCACATGCTCCGCCGCTTGTGCGGGCCC
CCGTCAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCA
GGCGGGGTACTTAATGCGTTAGCTACGGCACGGATCCCGTGG
AAGGAAACCCACACCTAGTACCCACCGTTTACGGCGTGGACT
ACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTACCCACGCTTTCGCTTCT
CAGCGTCAGTTACTTCCCAGAGACCCGCCTTCGCCACCGGTG
TTCCTCCTGATATCTGCGCATTTCACCGCTACACCAGGAATTC
CAGTCTCCCCTGAAGTACTCAAGCCTGCCCGTATCGACCGCA
AGCTTGGGGTTGAGCCCCAAGTTTTCACGATCGACGCGACAA
GCCGCCTACAAGCTCTTTACGCCCAGTAATTCCGGACAACGCT
CGCACCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTGGCC
GGTGCTTCTTCTACAGGTACCGTCACTTGCGCTTCGTCCCTGT
CGAAAAGTTTTTTTAAA

جدول ۳. توالی قطعه ژنS rRNA ۱۶ مربوط به نوکاردیا اوتیتیدیس کاویاروم جدا شده در بررسی حاضر با پرایمرهای اختصاصی جنس نوکاردیا (NG1 وNG2)

CCGGCTTTCCGGATGTTGTCAACCCAGGTAAGGGTTTTCGCGT
TGCATCGAATTAATCCACATGCTCCGCCGCTTGTGCGGGCCCC
CGTCAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAG
GCGGGGTACTTAATGCGTTAGCTACGGCACGGATCCCGTGGA
AGGAAACCCACACCTAGTACCCACCGTTTACGGCGTGGACTAC
CAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTACCCACGCTTTCGCTTCTCAG
CGTCAGTTACTTCCCAGAGACCCGCCTTCGCCACCGGTGTTCC
TCCTGATATCTGCGCATTTCACCGCTACACCAGGAATTCCAGTC
TCCCCTGAAGTACTCTAGTCTGCCCGTATCGACCGCAGGCGC
GCAGTTGAGCTGCACGTTTTCACGATCGACGCGACAGACCGC
CTACAAGCTCTTTACGCCCAGTAATTCCGGACAACGCTCGCAC
CCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTGGCCCGGTG
CTTCTTCTACAGGTACCGTCACTTGCGCTTCGTCCTTGTCAAGG

بحث و نتیجه گیری

متأسفانه بدلیل رشد کند و جداسازی سخت گونه‌های نوکاردیای عامل نوکاردیوزیس بر روی محیط های روتین آزمایشگاهی، خیلی از موارد مثبت به عنوان منفی کاذب گزارش می شود. در مواردی تظاهرات بالینی نوکاردیوزیس مشابه سل و عفونت های قارچی است اما درمان با این عفونت ها کاملاً متفاوت است، از این رو تشخیص سریع و به موقع بیماری جهت درمان ضروری است(۳۵-۳۴).

تکنیکهای مولکولی روش‌های سریعتر، آسانتر، دقیقتر، با حساسیت و اختصاصیت بالاتری هستند که قادرند جنس نوکاردیا را از جنس‌های مایکوباکتریوم، کورینه باکتریوم و رودوکوکوس افتراق دهند و باعث تشخیص سریع نوکاردیوزیس قبل از پیشرفت بیماری شوند و جلوی عوارض غیرقابل برگشت و در نهایت مرگ و میر را بگیرند. تکنیک PCR یکی از روشهای بیولوژی مولکولی است که برای تشخیص گونه‌های نوکاردیا بسیار مفید می باشد (۳۷-۳۶).

مطالعه حاضر همانند مطالعات دیگر نشان داد که PCR روشی مناسب جهت جداسازی گونه های نوکاردیا از نمونه های شستشوی برونش است (۲۸،۳۰).

این مطالعه همانند برخی مطالعات دیگر نشان داد که روش مولکولی PCR جهت شناسایی گونه‌های نوکاردیا دارای مزیت‌هایی است. مهمترین مزیت آن شناسایی گونه‌های نوکاردیا در مدت زمان کوتاه می باشد که این می تواند در درمان سریع افراد بسیار مهم باشد زیرا تشخیص با روشهای روتین چندین روز طول می کشد. از فواید دیگر این روش نیاز کم به نمونه می باشد و در نهایت از مزیتهای این روش این است که با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس نوکاردیا و برخلاف سایر روشهای معمول، تحت تأثیرآلودگی نمونه ها به میکروب های دیگر قرار نمی گیرد (۲۷،۳۷، ۱۲).

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

از آنجایی که کیت‌های تجاری استخراج DNA گران قیمت می باشد، از اهداف فرعی مطالعه حاضر این بود که با روش دستی بتوان DNA گونه‌های نوکاردیا را از نمونه بیمار استخراج نمود. یکی از روش های دستی که معمولاً به صورت روتین جهت استخراج DNA از میکروارگانیسم‌هایی مانند قارچ‌ها و باکتری‌ها استفاده می شود روش فنل کلروفرم می‌باشد. طی بررسی‌های انجام شده، تورس و همکاران اولین بار از روش فنل کلروفرم به منظور استخراج DNA از گونه های نوکاردیای جدا شده از کشت استفاده نمودند (۲۵). تحقیق حاضر برای اولین بار در ایران صورت گرفته است و نسبت به مطالعات قبلی این برتری را دارد که در حداقل زمان ممکن و از نمونه بالینی می‌توان DNA گونه‌های نوکاردیا را استخراج نمود. لازم به ذکر است طی بررسی بر روی تعداد محدودی از نمونه خلط نشان داد که می توان با کمک این روش از نمونه خلط آلوده نیز DNA نوکاردیا را استخراج کرد.

این بررسی با مطالعه کردبچه و همکاران که نسبت جمعیت مردان به زنان مبتلا به نوکاردیوزیس را سه به یک گزارش نمود، مطابقت دارد چرا که از ۷ نمونه مثبت نوکاردیا، ۵ مورد مذکر و ۲ مورد مونث بود(۳).

برخلاف مطالعه اشراقی و همکاران (۱۲) و مطالعه فقری و قربانی (۲۳) که به ترتیب از ۳۰۰ نمونه BAL مورد بررسی ۳۳ نمونه (۱۱٪) و از ۲۰۰ نمونه مورد مطالعه ۸ مورد (۴٪) از نظر گونه‌های نوکاردیا مثبت گزارش کردند، در این مطالعه از ۱۱۶ نمونه BAL مورد بررسی تنها ۷ مورد (۶٪) از نظر گونه‌های نوکاردیا مثبت بود، این موضوع به دلایل مختلفی می‌تواند باشد که مهمترین دلیل می تواند زمینه بیماری باشد، چرا که در مطالعه حاضر نمونه های BAL بیماران مشکوک به سل بررسی گردید که کمتر مطالعه شده است.

در این بررسی گونه *N. cyriacigeorgica* جدا گردید که به ندرت (۳۸) در ایران گزارش شده است، *N. cyriacigeorgica* همانند گونه های *N. nova*، *N. farcinica* و *N. abscessus* از اعضاء *N. asteroids complex* می باشد (۹)، که در مطالعه حاضر به روش تعیین توالی شناسایی گردید.

مطالعه حاضر نشان داد که با استفاده از روش استخراج معرفی شده، می توان طی مدت زمان کوتاه گونه های نوکاردیا را در نمونه BAL تشخیص داد، بر این اساس پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی از این تکنیک در تشخیص نوکاردیوزیس در آزمایشگاه‌های بالینی و تحقیقاتی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) به خاطر ایجاد زمینه اجرای این تحقیق در آزمایشگاه آن مرکز و از آقای مهندس محسن گرامی شعار از واحد قارچ شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران به دلیل در اختیار گذاشتن سویه بالینی *N. asteroids complex* تشکر و قدردانی می گردد.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

References

1. Bafghi MF, Eshraghi SS, Heidarieh P, Habibnia S, Nasab MR. Nocardiosis in immune disorder disease. Malays J Med Sci. 2014; 21(1): 75-76.
2. Makwana GE, Sinha M, Jain V, Jaiswal A. Pulmonary nocardiosis--a rare case of pulmonary nocardiosis in an immunocompetent patient. J Indian Med Assoc. 2013; 111(3): 194-195.
3. Kordbacheh P, Saber S, Tavakol P. Isolation of Nocardia from pulmonary disease by paraffin agar medium. Iranian Health J. 1994; 22(1): 53-62. (In Persian)
4. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Nocardia, Streptomyces, Rhodococcus, Oerskovia, and Similar Organisms. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology: Elsevier. 2007:311-322.
5. Beaman BL, Beaman L. Nocardia species: host-parasite relationships. Clin Microbiol Rev. 1994; 7(2):213-264.
6. Iketani Y, Hata Y, Yamamoto N, Oguri T. A case of the abscess type cutaneous nocardiosis. Med Mycol J. 2014; 55(1) : 19-23.
7. Shahapur PR, Peerapur BV, Shahapur RP, Honnutagi RM, Biradar MS. Lymphocutaneous nocardiosis caused by Nocardia otitidiscaviarum: A case report and review of literature. J Nat Sci Biol Med. 2014;5(1):197-201.
8. Burgert SJ. Nocardiosis: a clinical review. Infectious Diseases in Clinical practice. 1999; 8(1):27-32.
9. Borriello SP, Murray PR, Funke G. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Vol 2. 10th ed. London: Hodder Arnold. 2005: 1137-1180.
10. Goodfellow M, Mordarski M, Williams ST. The Biology of the Actinomycetes. Academic press Inc. (London) LTD. 1983: 1156-1178.
11. Eshraghi S, Zomorodian K, Kord Bacheh P, Gerami Shoar M, Saber S. Nocardiosis in pulmonary patients. J Medical Faculty Guilan University of Medical Sciences. 2003; 11(44):28-33. (In Persian)
12. Eshraghi S, Amin M. Pulmonary Nocardiosis associated with Cushing's syndrome. Pak J Med Sci. 2004; 20(1):18-23.
13. Kachuei R, Emami M, Mirnejad R, Khoobdel M. Diversity and frequency of Nocardia spp. in the soil of Isfahan province, Iran. Asian Pacific J Tropical Biomed. 2012: 2(6): 474-478.
14. Eshraghi S, Talebi M, Namaki S, Mirshafiey A. Nocardia. Journal of Chinese Clinical Medicine. 2009; 4: 48-66.
15. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Med Microbiol; Third edition chapter 39. 1998; Mosby Inc.
16. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Edited by Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 10th ed. 1998; Mosby Inc.
17. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. In: Murray Medical Microbiology; A Text book of Microbiology. 10th ed. 2009; 269-276.
18. Eshraghi S, Sarrafnejad AF, Roudsari HT. A diagnostic study of Nocardiosis patients being confined in Shareati Training Hospital in Tehran, using cultural &

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

serological methods. Pakistan Journal of Medical Sciences. 2005; 21(3): 345-351.
19. Gaude GS HB, Bagga AS, Chatterji R. Clinical profile of pulmonary Nocardiosis. Indian Chest Dis Allied Sci. 1999; 41(3): 153-157.
20. Darazam IA, Shamaei M, Mobarhan M, Ghasemi S, Tabarsi P, Motavasseli M, Mansouri D. Nocardiosis: Risk Factors, Clinical Characteristics and Outcome. Iranian Red Crescent Med J. 2013; 15(5): 436.
21. Couble A, Rodriguez-Nava V, de Montclos MP, Boiron P, Laurent F. Direct detection of Nocardia spp. In clinical samples by a rapid molecular method. J Clin Microbiol. 2005; 43(4): 1921-1924.
22. Wilson RW, Steingrube VA, Brown BA, Wallace RJ Jr. Clinical application of PCR-restriction enzyme pattern analysis for rapid identification of aerobic actinomycete isolates. 1998; J Clin Microbiol; 36(1): 148-152.
23. Faghri J, Ghorbani AS. Isolation of Nocardia from bronchoalveolar lavage and sputum specimens of patients referring to Isfahan TB center, 2005. KAUMS Journal (FEYZ). 2007; 11(2): 34-38. (In Persian)
24. Heydarzade S, Pourmand MR, Ghasemi A, Zarrin F, Saber S, Souri T, et al. Isolation and identification of Nocardia species from BAL sample by conventional and molecular methods. TUMS J. 2011; 69(9): 581-587. (In Persian)
25. Carmen Torres RD, Oletta CA, Zlotnik H. A Rapid and Gentle method for Isolation of Genomic DNA from Pathogenic Nocardia spp. Clin Diagn Lab Immunol. 1996;3(5): 601-604.
26. Laurent FJ, Provost F, Boiron P. Rapid Identification of Clinically Relevant Nocardia Species to Genus Level by 16S rRNA Gene PCR. J Clin Microbiol. 1999; 37(1): 99-102.
27. Brown JM, Pham KN, McNeil MM, Lasker BA. Rapid identification of Nocardia farcinica clinical isolates by a PCR assay targeting a 314-base-pair species-specific DNA fragment. J Clin Microbiol. 2004; 42(8): 3655-3660.
28. 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): 536-546.
29. Valenzuela-Tovar JF, Contreras-Perez C, Shibayama-Hernandez H, Chavez-Gonzalez L, Vazquez-Chacon CA, Olivera-Diaz H. Biochemical identification and molecular characterization (PCR-RFLP) of Nocardia isolates from sputum. Arch Med Res. 2005; 36(4): 356-361.
30. Tatti KM, Shieh WJ, Phillips S, Augenbraun M, Rao C, Zaki SR. Molecular diagnosis of Nocardia farcinica from a cerebral abscess. Hum Pathol. 2006; 37(8): 1117-1121.
31. Pelaez A, del Mar Garcia-Suarez M. A fatal case of Nocardia otitidiscaviarum pulmonary infection and brain abscess: taxonomic characterization by molecular techniques. Ann Clin Microbiol Antimicrobials. 2009; 8: 11.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]

32. Namnyak S, Uddin M. Nocardia cyriacigeorgica bacteraemia presenting with cytomegalovirus disease and rapidlyfatal pneumonia in a renal transplant patient: a case report. J Med Case Reports. 2011; 5: 228.
33. Helal ZH, Khan MI, Ashour MS, Elissa SA. Detection and Characterization of Nocardia from Patients Diagnosed as Tuberculosis in Egypt. Int J Biomed Sci. 2008; 4(3): 179-184
34. Rodriguez JL, Barrio JL, Pitchenik AE. Pulmonary Nocardiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. diagnosis with bronchoalveolar lavage and treatment with non-sulfur containing drugs. Chest. 2002; 90(6): 912-914.
35. McNeil MM, Brown JM. The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology. Clin Microbiol Rev. 1994; 7(3): 357-417.
36. Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, Wallace RJ. Clinical and laboratory features of the Nocardia spp. based on current molecular taxonomy. Clin Microbiol Rev. 2006; 19(2): 259-282.
37. Jinno S, Jirakulaporn T, Bankowski MJ, Kim W, Wong R. Rare case of Nocardia asteroides pericarditis in a human immunodeficiency virus-infected patient. J Clin Microbiol. 2007; 45(7): 2330-2333.
38. Shojaei H, Hashemi A, Heidarieh P, Eshraghi S, Khosravi AR, Daei Naser A. Clinical isolation of Nocardia cyriacigeorgica from patients with various clinical manifestations, the first report from Iran. Med Mycol J. 2011; 52: 39-43.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-08]