مقاله پژوهشی

مجله انفورماتیک سلامت و زیست پزشکی
مرکز تحقیقات انفورماتیک پزشکی
دوره چهارم شماره چهارم، ص ۳۱۲-۳۰۵، ۱۳۹۶

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی گونه‌های نوکاردیا با استفاده از ژن‌های 16S rRNA، hsp65 و gyrB

مسعود کیخا[1*]

• دریافت مقاله: ۹۶/۳/۶ • پذیرش مقاله: ۹۶/۱۲/۲۵

مقدمه: نوکاردیا یکی از مهم‌ترین گروه از اکتینومایست‌های هوازی است که در خاک زندگی می‌کند و قادر است به وسیله تنفس و تلقیح تروماتیک به بدن انسان وارد شود و عفونت نوکاردیوزیس را به وجود آورد. روش‌های مولکولی یکی از بهترین روش‌های سریع و دقیق برای شناسایی و افتراق این گروه از باکتری‌ها می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی سه ژن خانه‌دار در تشخیص و تفریق مهم‌ترین گونه های نوکاردیا بود.

روش: در این مطالعه مقطعی، ابتدا توالی ژن‌های 16S rRNA، gyrB و hsp65 برای ده گونه نوکاریا از بانک ژنی دریافت شد. سپس توالی ها به کمک نرم‌افزارهای AL16S و jPhydit هم ردیف شدند، سپس اطلاعات به برنامه MEGA منتقل شد و در نهایت درخت فیلوژنتیک براساس هر یک از ژن‌های 16S rRNA، gyrB و hsp65 به طور جداگانه رسم شد.

نتایج: تجزیه‌وتحلیل درخت فیلوژنتیک حاصل از ژن‌های 16S rRNA، gyrB و hsp65 نشان داد که همه این ژن‌ها گونه‌های نوکاردیا را تشخیص دادند. همچنین ژن gyrB بهترین گزینه برای ترسیم روابط فیلوژنتیک گونه نوکاردیا می‌باشد.

نتیجه‌گیری: براساس پژوهش حاضر، برای شناسایی و افتراق صحیح گونه‌های نوکاردیا می‌بایست چند ژن خانه‌دار به طور همزمان مطالعه شود.

کلید واژه‌ها: نوکاردیا، تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک،16S rRNA

•ارجاع: کیخا مسعود. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی گونه‌های نوکاردیا با استفاده از ژن‌های 16S rRNA، hsp65 و gyrB. مجله انفورماتیک سلامت و زیست پزشکی ۱۳۹۶؛ ۴(۴): ۳۱۲-۳۰۵.

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

*** نویسنده مسئول:** اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده پزشکی اصفهان

• شماره تماس: ۰۹۳۸۶۸۳۶۴۲۵

• Email: masoudkeikha@outlook.com

[Downloaded from jhbmi.ir on 2024-03-29]

مقدمه

نوکاردیا (*Nocardia*)، باکتری‌های کند رشد، شاخه‌ای شکل گرم مثبت، هوازی اجباری و اسید فاست نسبی هستند که همانند سایر اکتینومایست‌های هوازی ساکن منابع محیطی از قبیل آب، خاک، ذرات گرد و غبار، سبزیجات و مدفوع در حال فساد و هوا می‌باشند [۳-۱]. این دسته از باکتری‌ها در خانواده نوکاردیاسه (Nocardiaceae) قرار دارند و از شاخه کورینه باکتریاسه مشتق شده‌اند و در راسته اکتینومایستالس (Actinomycetales) قرار می‌گیرند [۳]. گونه‌های نوکاردیا قادرند تا عفونت‌های تنفسی، آبسه‌های مغزی، جلدی، جلدی-لنفاوی، عفونت‌های کاتاتر و تجهیزات پزشکی و منتشره را در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی و حتی افراد سالم نیز به وجود آورند [۲،۳]. تاکنون شواهدی از انتقال انسان به انسان عفونت‌های نوکاردیایی مشاهده نشده است [۴]؛ ولی با توجه به وجود گزارش‌های متعدد در زمینه جداسازی گونه های نوکاردیا از منابع محیطی بیمارستان‌ها امروزه اعتقاد بر این است که گونه‌های نوکاردیا موجود در منابع آبی و خاک بیمارستان‌ها منشأ اصلی عفونت‌های نوکاردیایی به حساب می آیند [۴-۱]. در این رابطه بیماران دارای شرایط خاص همچون بیماران نقص سیستم ایمنی، سرطانی‌ها، دریافت‌کنندگان پیوند، مصرف‌کنندگان داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی، افراد آلوده به ویروس نقص سیستم اکتسابی (Human Immunodeficiency Virus)، دیابتی‌ها، بیماران مبتلا به عفونت‌های روماتیسمی می‌بایست بیشتر مراقب عفونت‌های نوکاردوزیس باشند هر چند افراد دارای سیستم ایمنی کارآمد نیز از گزند این عفونت‌ها مصون نمی‌باشند [۲،۳].

نوکاردیا برای اولین بار در سال ۱۸۸۸ توسط دامپزشک فرانسوی به نام ادموند نوکارد (Edmond Nocard) از گاو مبتلا به مشمشه (لنفادنیت) جداسازی شد؛ یک سال بعد ترویزان این میکروارگانیسم را جداسازی و به عنوان نوکاردیا فارسینیکا نام‌گذاری کرد. دو سال بعد، اولین گزارش از جداسازی نوکاردیا از نمونه بالینی انسانی توسط اپینگر منتشر شد [۳،۴]. در ابتدا نوکاردیا آستروئیدس را به تنهایی یک گونه فرض می کردند؛ اما طی مطالعات Wallaceو همکاران بر روی هفتاد و هشت ایزوله نوکاردیای جدا شده از نمونه‌های بالینی مشاهده شد که این باکتری ۶ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی متفاوت دارد؛ در سال‌های بعد با توجه به پیشرفت علوم مولکولی و مشخص شدن جایگاه این علم در طبقه‌بندی میکروارگانیسم‌ها هر یک از این شش گروه به طور دقیق مورد بررسی قرار گرفتند؛ امروزه طبق مطالعات تاکسونومی مولکولی مشخص شده است که نوکاردیا آستروئیدس به صورت یک گروه می‌باشد و اعضای این گروه به ترتیب الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ارائه شده توسط والاس به ترتیب: ۱-نوکاردیا آبسسوس (*Nocardia abscessus*)، ۲-کمپلکس نوکاردیا برویکاتنا-پائوکیورانس (*Nocardia brevicatena-paucivorans* complex)، ۳- کمپلکس نوکاردیا نوآ (*Nocardia nova* complex) که شامل: *Nocardia nova*، *Nocardia veterana*، *Nocardia africana* و *Nocardia kruczakiae*، ۴- کمپلکس نوکاردیا ترانسوالنسیس (*Nocardia transvalensis* complex) که شامل: *Nocardia transvalensis sensu stricto*، *Nocardia wallacei* و *Nocardia blacklockiae* ۵-کمپلکس نوکاردیا فارسینیکا (*Nocardia farcinica*) و نوکاردیا آستروئیدس (*Nocardia asteroides*) و ۶- نوکاردیا سیریاسیجئورجیکا (*Nocardia cyriacigeorgica*) هستند [۵،۳]. شناسایی گونه‌های نوکاردیا بر پایه تست‌های مرسوم مورفولوژی کلنی، رنگ‌آمیزی گرم و کانیون، مقاومت به لیزوزیم، رشد در دماهای مختلف، تجزیه کربوهیدرات‌ها (Carbohydrates)، کازئین (Casein)، گزانتین (Xanthine)، هیپوگزانتین (Hypoxhanthine)، اسکولین (Escoline)، آدنین (Adenine) و ژلاتین (Gelatine) و استفاده از استامید (Acetamide) و سیترات (Citrate) اغلب زمان‌بر، پر هزینه و در برخی موارد گیج کننده است؛ روش‌های مولکولی در مقایسه با روش های فنوتیپیک (مرسوم) کم هزینه و سریع‌ترند و قادرند با صحت و دقت قابل قبولی گونه‌های نوکاردیا را تشخیص و افتراق دهند؛ از جمله روش‌های مولکولی رایج در شناسایی نوکاردیا می‌توان به روش‌های: 16S rRNA-restriction fragment length polymorphism (RFLP)، *hsp65*-RFLP و توالی یابی با استفاده از ژن‌های 16S rRNA، *hsp65*، *gyrB* و *sodA* اشاره کرد [۲،۳]. هر چند ژن 16S rRNA به عنوان اولین ژن کاندید برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها شناخته می‌شود؛ اما عواملی چون تنوع تصادفی، انتقال افقی و نوترکیبی ژن‌ها شناسایی بر پایه یک ژن را با چالش رو به رو کرده است. دانشمندان برای حل این مشکل تکنیک (Multi-Locus Sequence Analysis) MLSA را پیشنهاد

[Downloaded from jhbmi.ir on 2024-03-29]

کرده‌اند؛ طی این تکنیک چند ژن به طور همزمان مورد مطالعه قرار می‌گیرند [۶].

از آنجایی که شناسایی و افتراق دقیق گونه‌های نوکاردیا به درک بیشتر و ارتقای دانش در خصوص شناسایی و طبقه‌بندی گونه‌های پاتوژن نوکاردیایی کمک می‌کند؛ لذا این مطالعه با هدف مقایسه عملکرد ژن‌های 16S rRNA، hsp65 و gyrB در شناسایی و افتراق گونه‌های نوکاردیا به عمل آمد.

روش

دریافت توالی ژن‌های 16S rRNA، hsp65 و gyrB گونه های نوکاردیا موردنظر از بانک اطلاعاتی NCBI

در این مطالعه مقطعی، ابتدا توالی ژن‌های موردنظر برای ده گونه پاتوژن نوکاردیا را از بانک ژنی موجود در بانک اطلاعاتی NCBI (به آدرس: https://www.ncbi.nlm.nih.gov) به شکل FASTA دریافت شد. لازم به ذکر است گونه‌های انتخاب شده برای این مطالعه شامل: نوکادیا آبسوس (*Nocardia abscessus*)، نوکاردیا برویکاتنا (*Nocardia brevicatena*)، نوکاردیا نوآ (*Nocardia nova*)، نوکاردیا وترانا (*Nocardia veterana*)، نوکاردیا ترانسوالنسیس (*Nocardia transvalensis sensu stricto*)، نوکاردیا والاسه ای (*Nocardia wallacei*)، نوکاردیا فارسینیکا (*Nocardia farcinica*)، نوکاردیا آستروئیدس (*Nocardia asteroides*)، نوکاردیا سیریاسیجئورجیکا (*Nocardia cyriacigeorgica*) و نوکاردیا برزیلینسیس (*Nocardia brasiliensis*) بودند (جدول ۱).

جدول ۱: فهرست کامل گونه‌های نوکاردیا مورد مطالعه قرار گرفته به همراه شماره دسترسی آن‌ها

گونه	16S rRNA	*hsp65*	*gyrB*
Nocardia abscessus	JN041494.1	JN041731.1	JN041257.1
Nocardia brevicatena	NR_115829.1	JN041825.1	JN041351.1
Nocardia nova	JN041648.1	JN041885.1	JN041411.1
Nocardia veterana	KT933508.1	KT933622.1	KM194604.1
Nocardia transvalensis sensu stricto	JN041524.1	JN041761.1	JN041287.1
Nocardia wallacei	JN041527.1	JN041764.1	JN041290.1
Nocardia farcinica	KR265259.1	KR068705.1	KR068685.1
Nocardia asteroides	NR_115826.1	DQ223863.1	JN041222.1
Nocardia cyriacigeorgica	NR_041857.1	AY756522.1	JN041323.1
Nocardia brasiliensis	NR_119106.1	JN041772.1	JN041298.1

تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم درخت فیلوژنتیک

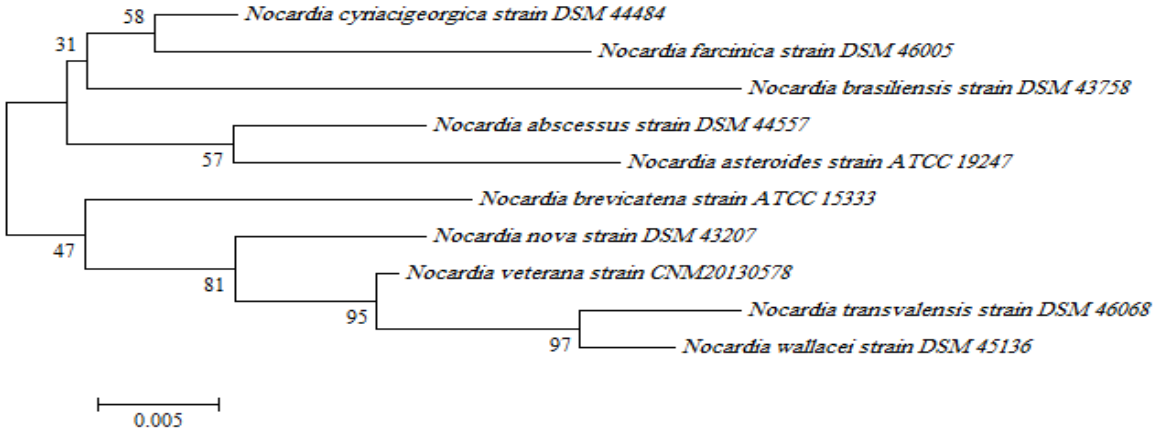
توالی‌های دریافت شده به طور جداگانه برای هر ژن توسط نرم افزار jPhydit (نرم افزاری بیوانفورماتیکی با رابط کاربری جاوا می‌باشد که در این نرم‌افزار امکان پردازش بیشتر و حدس در مورد ساختار دوم ژن rRNA امکان‌پذیر است) هم ردیف (Alignment) شدند. سپس به منظور بررسی کارایی هر ژن در شناسایی و افتراق گونه‌های نوکاردیا بر اساس هر ژن به طور جداگانه درخت فیلوژنتیکی با استفاده از آزمون Neighbor-joining و با روش K2P (Kimura 2-Parameter model) و همچنین عدد bootstrap محاسبه شده با 1000 Replication توسط نرم‌افزار MEGA5 رسم شد؛ لازم به ذکر است که آزمون‌ها و روش های ترسیم درختچه‌های فیلوژنتیکی این مطالعه براساس مطالعه و بررسی جامع مقالات تاکسونومی گونه‌های مرجع نوکاردیای موجود در پایگاه‌ها و مجلات معتبر میکروب‌شناسی انتخاب شد [۶،۷].

نتایج

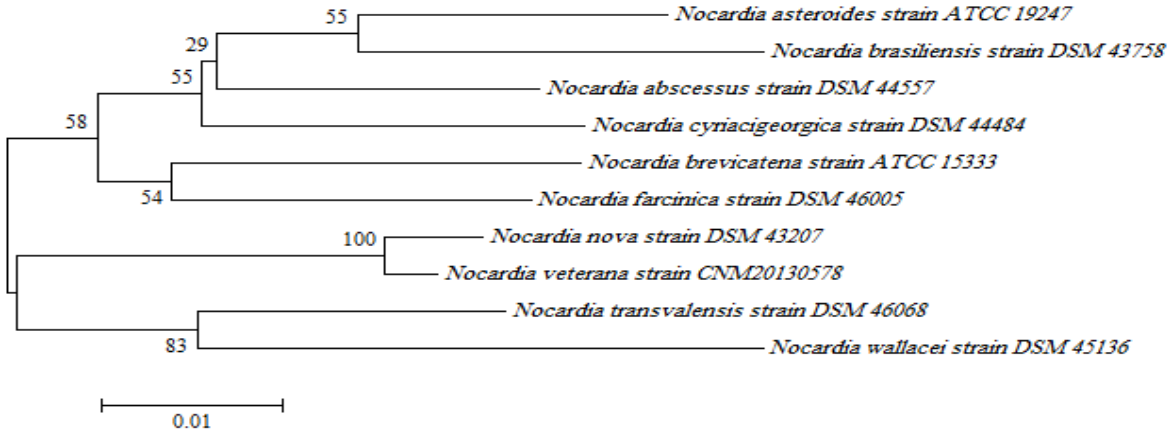
توالی ژن 16S rRNA دریافت شده برای هر یک از گونه های نوکاردیا از نظر وجود signature مایکوباکتریوم‌ها در موقعیت‌های ۹۸-۷۰ (U-A)، ۲۲۴-۱۳۹ (G-C)، ۸۴۳ (C)، ۱۰۲۱-۱۰۰۸ (C-G)، ۱۱۸۹ (C)، ۱۲۴۴-۱۲۹ (C-G) و ۱۳۲۹-۱۳۰۸ (C-G) بررسی و تأیید شدند [۴]؛ سپس برای هریک از این ژن‌ها به طور جداگانه درخت فیلوژنتیک (شکل های ۳-۱) رسم شد. با توجه به نتایج درخت‌های فیلوژنتیک گونه‌های نوکاردیایی می‌توان نتیجه گرفت که هر سه ژن

[Downloaded from jhbmi.ir on 2024-03-29]

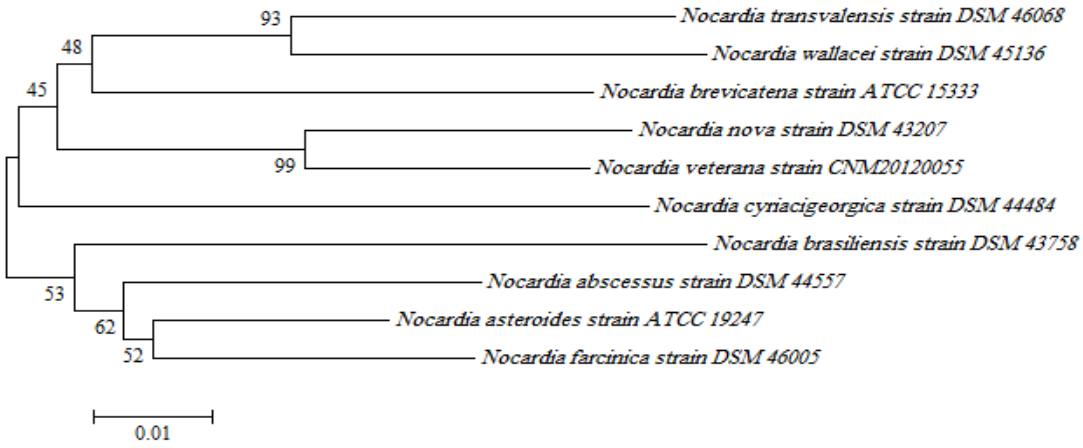
16S rRNA، *hsp65* و *gyrB* قادرند گونه‌های نوکاردیا را تشخیص و افتراق دهند؛ اما در صورتی که تکامل و بررسی روابط خویشاوندی مدنظر باشد واضح است که ژن *gyrB* نسبت به سایر ژن‌های 16S rRNA و *hsp65* بهتر عمل کرده است.



شکل ۱: درخت فیلوژنتیک گونه‌های نوکاردیا براساس ژن 16S rRNA



شکل ۲: درخت فیلوژنتیک گونه‌های نوکاردیا براساس ژن *hsp65*



شکل ۳: درخت فیلوژنتیک گونه‌های نوکاردیا براساس ژن *gyrB*

[Downloaded from jhbmi.ir on 2024-03-29]

طبق درخت فیلوژنتیک بر پایه ژن 16S rRNA گونه‌های نوکاردیا فارسینیکا و سیریاسیجئورجیکا با هم در یک شاخه قرار گرفته‌اند و گونه‌های نوکاردیا آبسسوس و آستروئیدس نیز در یک شاخه مجزای دیگر هستند حال آن که گونه‌های نوکاردیا آستروئیدس و فارسینیکا به لحاظ ژنتیکی بیشترین شباهت را دارند؛ ژن *hsp65* نیز به اشتباه نوکاردیا آستروئیدس را در کنار نوکاردیا برویکاتنا قرار داده است در حالی که ژن *gyrB* این دو گونه را به درستی در یک شاخه دسته‌بندی کرده است. همچنین ژن 16S rRNA دو عضو مهم بیماری‌زای کمپلکس نوکاردیا نوآ (نوکاردیا نوآ و نوکاردیا وترانا) را به اشتباه در کنار سایر گونه‌ها قرار داده است این در حالی است که ژن های *hsp65* و *gyrB* اعضای کپلکس نوآ را به درستی و با عدد bootstrap value بالایی تشخیص داده‌اند. مورد بعد اینکه نوکاردیا آبسسوس بر اساس ژن‌های 16S rRNA و *hsp65* به ترتیب با گونه‌های نوکاردیا آستروئیدس، نوکاردیا برازیلینسیس و فارسینیکا در ارتباط است؛ اما در بررسی درخت روابط فیلوژنتیک حاصل از ژن *gyrB* نوکاردیا آبسسوس با گونه‌های آستروئیدس و فارسینیکا به طور مشترک یک نیای واحد داشته‌اند؛ با توجه به نزدیکی روابط بین گونه‌های نوکاردیا آستروئیدس و فارسینیکا به نظر می‌آید تحلیل ژن *gyrB* نسبت به خویشاوندی نوکاردیا آبسسوس و گونه‌های نوکاردیا آستروئیدس و فارسینیکا محتمل‌تر و صحیح‌تر می‌باشد. همچنین در نگاه کلی به تصاویر می‌توان دریافت ژن *gyrB* نسبت به سایر ژن‌های 16S rRNA و *hsp65* گونه‌های نوکاردیا را با اعداد bootstrap value های مطمئن‌تری افتراق داده است.

بحث و نتیجه‌گیری

تاکنون بیش از ۳۰ گونه مختلف نوکاردیا از نمونه‌های بالینی جداسازی شده است [۷]. در این میان اعضای کمپلکس نوکاردیا آستروئیدس شایع‌ترین پاتوژن‌های انسان هستند که به طور شایع از نمونه‌های بالینی جداسازی و گزارش می‌شوند [۸]. شیوع عفونت‌های نوکاردیوزیس در کشور ایران به میزان ۱/۸۸ درصد گزارش شده است [۴]. طبق گزارش‌های منتشره شده از آمریکا شصت درصد از عفونت‌های نوکاردیوزیس انسانی در بیماران نقص سیستم ایمنی اتفاق می‌افتد؛ در این میان نسبت عفونت‌های نوکاردیا در مردان سه برابر زنان است. عفونت‌های نوکاردیا در انسان می‌تواند با اشکال مختلفی از قبیل عفونت های ریوی، آبسه‌های ریوی، لزیون‌های ریوی، عفونت جلدی، سلولیت، اولسرهای پوستی، عفونت‌های منتشره مغزی، کلیوی، مفاصل و استخوان‌ها، قلب و چشم بروز می‌نماید. بررسی مطالعات نشان می‌دهد که نورکاردیوزیس ریوی با میزان شیوع ۶۴٪ از شایع‌ترین اشکال عفونت‌های نوکاردیوزیس می‌باشد؛ پس از عفونت‌های ریوی، عفونت‌های جلدی (۲۸٪)، سیستم اعصاب مرکزی (۱۹٪)، عفونت‌های تجهیزات پزشکی مانند کاتاتر، چشم، دریچه‌های مصنوعی قلب، کبد، طحال و غده های فوق کلیوی و تیروئید در رتبه‌های بعدی شیوع قرار دارند [۱۰]. نوکاردیا آستروئیدس با اختصاص دادن بیش از ۵۰٪ گزارش‌های عفونت‌های انسانی شناخته شده‌ترین گونه نوکاردیایی پاتوژن انسانی به حساب می‌آید، پس نوکاردیا آستروئیدس گونه‌های نوکاردیا برازیلینسیس، نوکاردیا آبسسوس، نوکاردیا سیریاسیجئورجیکا، نوکاردیا فارسینیکا، نوکاردیا نوآ، کمپلکس نوکاردیا ترانسوالنسیس، کمپلکس نوکاردیا نوآ، نوکاردیا سودوبرازیلینسیس و نوکاردیا وترانا نیز از مهم‌ترین گونه‌های پاتوژن انسانی هستند [۱۱]. در ایالات متحده آمریکا مطالعه‌ای که بین سال‌های ۱۹۹۵-۲۰۰۴ بر روی ۷۶۵ بیمار مبتلا به عفونت نوکاریوزیس صورت گرفت نشان داد که شایع‌ترین گونه‌های نوکاردیایی جدا شده از بیماران به ترتیب گونه‌های نوکاردیا نوآ (۲۸٪)، نوکاردیا برازیلینسیس (۱۴٪)، نوکاریا فارسینیکا (۱۴٪) و نوکاردیا سیریاسیجئورجیکا (۱۳٪) بودند [۱۲].

عفونت‌های نوکاردیایی اغلب با عفونت‌های ویروسی، مایکوپلاسما، قارچ، سل و تومورهای بدخیم اشتباه گرفته می شوند [۱۳،۴]؛ عدم اختصاصیت تصاویر رادیولوژیک، تظاهرات بالینی و خصوصیات میکروب‌شناسی (رنگ‌آمیزی اسید فاست و کند رشد بودن) گونه‌های نوکاردیا و مایکوباکتریوم‌های سریع الرشد از مهم‌ترین دلایل اشتباه در تشخیص می‌باشد جدای از این که شناسایی گونه‌های نوکاردیا با استفاده از روش بیوشیمیایی مرسوم خود در بیش از ۳۷٪ موارد منجر به اشتباه در تشخیص می‌گردد [۱۴،۸]. با این وجود با توجه به متفاوت بودن الگوی مقاومت‌های آنتی بیوتیکی گونه های نوکاردیا، مطالعات اپیدمیولوژیکی و شناسایی صحیح عامل عفونت و در نتیجه آن تجویز رژیم درمانی مؤثر، یکی از مهم ترین رسالت های آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شناسایی عفونت‌های نوکاردیایی تا سطح گونه است [۱۵،۲]. روش‌های مولکولی یکی از مهم‌ترین ابزارها در تشخیص چنین عفونت هایی به حساب می‌آیند؛ در این میان تعیین توالی قسمت‌های محافظت شده ژن‌های خانه‌دار (مانند ژن‌های 16S rRNA و

[Downloaded from jhbmi.ir on 2024-03-29]

hsp65) یکی از پرکاربردترین روش‌های تشخیص مولکولی میکروارگانیسم‌ها است که مطالعات مولکولی صورت گرفته در زمینه شناسایی و افتراق گونه‌های نوکاردیا ثابت کرده است که ژن *hsp65* در مقایسه با ژن 16S rRNA کمی متغییر تر بوده؛ لذا علی رغم کاربرد وسیع ژن 16S rRNA در شناسایی مولکولی میکروارگانیسم‌ها، این ژن توانایی شناسایی و افتراق کامل گونه‌های نوکاردیا را ندارد. Rudramurthy و همکاران در مطالعه‌ای به منظور مقایسه قدرت تشخیص و افتراق ژن های 16S rRNA و *hsp65* در خصوص گونه‌های نوکاردیا دریافتند که عملکرد ژن *hsp65* در مقایسه با ژن 16S rRNA بهتر است [۸]. طی مطالعه صالحی‌پور و همکاران برروی ۴۶ ایزوله نوکاردیا جداشده از نمونه‌های بالینی کشورمان مشخص شد که تجزیه و تحلیل روابط فیلوژنتیک بر پایه ژن های *gyrB* و *secA1* نسبت به ژن 16S rRNA مطلوب‌تر است. همچنین مطالعه همزمان ژن‌های 16S rRNA، *gyrB* و *secA1* بهترین نتیجه ممکن را به همراه داشت [۶]. McTaggart و همکاران در مطالعه‌ای دیگر در زمینه شناسایی و افتراق ۱۹۰ ایزوله بالینی نوکاردیا دریافتند که به کارگیری تکنیک MLSA با استفاده از ترکیب ژن‌های *gyrB*-16S rRNA-*secA1* بهترین نتیجه ممکن را می دهد [۱۶]. طبق مطالعه‌ای که توسط Takeda منتشر شد، مشخص شد که ژن *gyrB* در مقایسه با 16S rRNA گونه های نوکاردیا را بادقت بالاتری تفکیک و تشخیص می‌دهد [۱۷]. در یک مطالعه قدرت تشخیص و تفریق ژن‌های *gyrB* و *rpoB* در افتراق گونه‌های نوکاردیا مورد سنجش قرار گرفت؛ طی این مطالعه ۱۱۹ ایزوله بالینی نوکاردیا از نظر تشخیص و افتراق توسط ژن های *rpoB* و *gyrB* مورد بررسی قرار گرفتند که با توجه به نتایج این مطالعه مشخص شد که ژن *gyrB* به تنهایی یک ژن قدرتمند در شناسایی و افتراق گونه‌های نوکاردیا می‌باشد [۱۸].

پایین بودن اعداد Bootstrap value چند clade، حجم کم تعداد توالی‌های مورد مطالعه از مهم‌ترین ابهامات و نواقص مطالعه حاضر بود؛ هر چند سعی شد شایع‌ترین گونه‌های نوکاردیا جدا شده از نمونه‌های بالینی و گونه‌هایی که بیشترین شباهت ژنومی را داشتند انتخاب شوند، با این حال با توجه به این که جداسازی و تشخیص عفونت‌های نوکاردیوزیس نیازمند به کارگیری روش‌ها و شرایطی خاص می‌باشد و این استاندارد ها در کمتر آزمایشگاه‌های بالینی میکروب‌شناسی رعایت می شود این گونه عفونت‌های شناسایی نشده و به طور کلی اطلاعات در خصوص این خانواده از باکتری‌ها محدود می‌باشد.

به طور کلی به منظور شناسایی مولکولی گونه‌های نوکاردیا بهترین گزینه‌های موجود، ژن‌های خانه‌داری همچون: 16S rRNA، *rpoB*، *hsp65*، *gyrB* و *secA1* می‌باشند؛ با توجه به اینکه نتایج حاصل از بررسی هر یک از این ژن‌ها به طور مستقل با نواقصی همراه است؛ لذا مطالعه همزمان بیش از یک ژن خانه‌دار نتیجه کامل‌تری را ارائه می‌دهد.

References

1. Aghamirian MR, Ghiasian SA. Isolation and characterization of medically important aerobic actinomycetes in soil of Iran (2006 - 2007). Open Microbiol J. 2009;3:53-7.

2. Bafghi MF, Heidarieh P, Habibnia S, Rasouli-Nasab M, Kalantar Neyestanaki D, Afshar D, et al. Phenotypic and molecular properties of the Nocardia species. Avecinna J Clin Microb Infect 2014;1(1):e19215.

3. 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):259-82.

4. Rahdar HA, Azadi D, Shojaei H, Daei-Naser A. Molecular analysis and species diversity of Nocardia in the hospital environment in a developing country, a potential health hazard. J Med Microbiol 2017;66(3):334-341.

5. Wallace RJ, Steele LC, Sumter GW, Smith JM. Antimicrobial susceptibility patterns of Nocardia asteroides. Antimicrob agents chemother. 1988;32(12):1776-9.

6. Salehipour M, Zaker Bostanabad S, Rezaee S, Hashemi-Shahraki A. Species spectrum of pathogenic Nocardia isolated from patients. New Cellular & Molecular Biotechnology Journal 2016; 6(21):75-84.

7. Kageyama A, Poonwan N, Yazawa K, Mikami Y, Nishimura K. Nocardia asiatica sp. nov., isolated from patients with nocardiosis in Japan and clinical specimens from Thailand. Int J Syst Evol Microbiol 2004;54(Pt 1):125-30.

8. Rudramurthy SM, Honnavar P, Kaur H, Samanta P, Ray P, Ghosh A, et al. Molecular identification of clinical Nocardia isolates from India. J Med Microbiol 2015;64(10):1216-25.

9. Shariff M, Gunasekaran J. Pulmonary nocardiosis: review of cases and an update. Can Respir J 2016;2016:7494202.

10. Cui Y, Yang Y, Peng WH, Liang Q, Li H, Li XY, et al. Nocardia infection of muscular and pulmonary in a membranous glomerulonephritis patient treated only

[Downloaded from jhbmi.ir on 2024-03-29]

by steroids: a case report and article review. Int J Clin Exp Med 2016;9(11):22687-90.
11. Kandi V. Human nocardia infections: a review of pulmonary nocardiosis. Cureus 2015;7(8):e304.
12. Igbinosa O, Igbinosa O, Dass K, Wortmann G. Nocardia arthritidis infection in an immunocompetent human in the United States. American Journal of Medical Case Reports 2016;4(7):251-4.
13. Menku A, Kurtsoy A, Tucer B, Yildiz O, Akdemir H. Nocardia brain abscess mimicking brain tumour in immunocompetent patients: report of two cases and review of the literature. Acta Neurochir (Wien) 2004;146(4):411-4;
14. Muricy EC, Lemes RA, Bombarda S, Ferrazoli L, Chimara E. Differentiation between nocardia spp. and mycobacterium spp.: critical aspects for bacteriological diagnosis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2014; 56(5): 397–401.
15. Wallace RJ, Tsukamura M, Brown BA, Brown J, Steingrube VA, Zhang YS, et al. Cefotaxime-resistant Nocardia asteroides strains are isolates of the controversial species Nocardia farcinica. J Clin Microbiol 1990;28(12):2726-32.
16. 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.
17. Takeda K, Kang Y, Yazawa K, Gonoi T, Mikami Y. Phylogenetic studies of Nocardia species based on gyrB gene analyses. J Med Microbiol 2010;59(Pt 2):165-71.
18. Carrasco G, Valdezate S, Garrido N, Villalon P, Medina-Pascual MJ, Saez-Nieto JA. Identification, typing, and phylogenetic relationships of the main clinical Nocardia species in spain according to their gyrB and rpoB genes. J Clin Microbiol 2013;51(11):3602-8.

[Downloaded from jhbmi.ir on 2024-03-29]

Original Article

Journal of Health and Biomedical Informatics
Medical Informatics Research Center
2018; 4(4): 305-312

Phylogenetic Analysis of Nocardia spp. using 16S rRNA, hsp65 and gyrB Genes

Masoud Keikha *

• **Received:** 27 May, 2017 • **Accepted:** 16 Mar, 2018

Introduction: Nocardia is one of the most important aerobic actinomycetes that lives in soil and can enter the human body by inhalation and traumatic inoculation and causes Nocardiosis. Molecular methods are one of the best methods for rapid and accurate identification and differentiation of species of this group of bacteria. The purpose of this study was evaluation of three housekeeping genes in identification and differentiation of most important species of Nocardia.
Methods: In this study cross-sectional, first, gene sequences of 16S rRNA, gyrB and hsp65 for ten species of Nocardia were obtained from Genebank (NCBI). Then, those sequences were transferred to MEGA 5.0. Finally, phylogenetic trees based on each of 16S rRNA, gyrB and hsp65 genes were drawn.
Results: Phylogenetic trees analysis based on 16S rRNA, gyrB and hsp65 gene sequences indicated that all of these genes could identify and differentiate Nocardia species. Also, it was found that gyrB gene is the best option for drawing the phylogenetic relationships of Nocardia species.
Conclusion: According to this research, for accurate identification of Nocardia species, several housekeeping genes should be investigated simultaneously.

Keywords: Nocardia, Phylogenetic analysis, 16S rRNA

• **Citation:** Keikha M. Phylogenetic Analysis of Nocardia spp. using 16S rRNA, hsp65 and gyrB Genes. Journal of Health and Biomedical Informatics 2018; 4(4): 308-312.

1. M.Sc. student in Microbiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

***Correspondence**: School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
• **Tel:** 09386836425 • **Email:** masoudkeikha@outlook.com

[Downloaded from jhbmi.ir on 2024-03-29]