بررسی و جداسازی اکتینومیست های هوازی از خاک ۱۶ شهر و روستای استان اصفهان

دکتر مسعود امامی[1] ph.D ، رضا کچوئی[2] .M.Sc ،دکتر غلامرضا بابائی[3] ph.D محسن گرامی شعار[4] .M.Sc

چکیده

سابقه و هدف: اکتینومیست های هوازی یکی از عوامل شایع عفونت های سیستمیک در سراسر جهان بشمار می روند و سالیانه تعداد فراوانی از این عفونتها در نزد بیماران با نقص سیستم ایمنی و یا دارای پیوند اعضاء و بیماریهای عفونی گزارش می شود. جایگاه اصلی این عوامل در خاک بخصوص خاک نواحی مرطوب می باشد . شناسائی این عوامل در خاک نواحی مختلف یکی از طرق کمک تشخیصی محسوب می شود لذا به منظور تعیین این عوامل در خاک ، مطالعه ای در طول سالهای ۷۶ و ۷۷ در ۱۶ شهر و ۱۶ روستای استان اصفهان به عمل آمد.

مواد و روشها: در این بررسی جمعا تعداد ۸۰۰ نمونه خاک از مناطق مورد مطالعه جمع آوری گردید. به منظور جداسازی ، روش استفاده از کانامایسین انتخاب گردید.

یافته‌ها: از تعداد ۸۰۰ نمونه خاک مورد مطالعه جمعا تعداد ۱۵۳ نمونه خاک (۱۹/۱٪) دارای کلنی های اکتینومیست هوازی بود که با آزمایشات تکمیلی انجام گرفته برروی کلنی های اولیه ۸۱ مورد نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس(۴۵/۵٪) ، ۴۴ مورد نوکاردیا برازیلینسیس (۲۴/۷٪) ، گونه نامشخص ۴۱ مورد (۲۳٪) ، ۴ مورد نوکاردیا اوتیتیدیس کاویاروم (۲/۲٪) ، نوکاردیوپسیس داسونویلی و اکتینومادورا مادوره هر کدام ۳ مورد (۱/۷٪) و نوکاردیا ترانس والنسیس ۲ مورد (۱/۱٪) جدا و شناسائی گردید. در بین ۱۶ شهرستان مورد مطالعه بیشترین گونه نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس و نوکاردیا برازیلینسیس از شهرستان فلاورجان جدا گردید.نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس به عنوان گونه غالب در شهرستان اردستان (۵۰٪) ، خمینی شهر (۶۶/۷٪) ، خوانسار (۵۴/۵٪) ، سمیرم (۵۰٪) ، شهرضا (۵۰٪) ، فریدن (۴۱/۲٪) ، فریدونشهر (۴۴/۴٪) ، فلاورجان (۴۱/۷٪) ، لنجان (۴۲/۱٪) ، مبارکه (۷۰٪) ، نجف آباد (۳۵/۷٪) و نطنز (۵۴/۵٪) جدا و شناسائی گردید. ضمنا در این بررسی از مناطق شهری (۶۲/۸٪) نسبت به مناطق روستائی (۳۷/۲٪) تعداد اکتینومیست هوازی بیشتری جدا گردید.

واژگان کلیدی: اکتینومیست، هوازی، اصفهان

مقدمه

اکتینومیست های هوازی از جمله پاتوژنهایی هستند که بطور شایع در خاک یافت می شوند و سبب عفونت های فرصت طلب در انسان و حیوانات می شوند . افزایش عفونت های ناشی از اکتینومیست های هوازی بویژه گونه های نوکاردیا به اشکال بالینی مختلف بخصوص فرم سیستمیک و منتشره در افراد با سیستم ایمنی سالم و یا در بیماران با نقص سیستم ایمنی ، سرطان ، سل ، دیابت ، ایدز و بیماران تحت درمان با داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی و آنتی بیوتیک های وسیع الطیف در جهان اهمیت شناسائی این عوامل را بیش از پیش آشکار می سازد. (۱،۲،۳،۴)
شناسائی این عوامل در خاک نواحی مختلف یکی از راههای کمکی در تشخیص بیماری محسوب می شود . اکتینومیست های هوازی در خاک تمام نقاط دنیا یافت می شوند اما وفور آنها در مناطق مختلف برحسب عوامل مختلف اکولوژیک محیط (دما ، رطوبت هوا ، پوشش گیاهی منطقه و ...) متفاوت است .

اکولوژی اکتینومیست های هوازی در خاک کشورهای هند (۵ ، ۶) ، سودان (۷) ، مصر (۸) ، اسپانیا (۹) ، آرژانتین (۱۰) ، قزاقستان (۱۱) ، مکزیک (۱۲) ، نیجریه (۱۳) ، کویت (۱۴) مورد بررسی قرار گرفته است. در ایران در طی سالهای اخیر تحقیقاتی در مناطق مختلف کشور مثل تهران (۱۵) ، قزوین (۱۶) ، کرمان (۱۷) ، اهواز (۱۸) ، زاهدان (۱۹) ، گیلان و مازندران (۲۰) انجام گرفته است. در این تحقیق در ۱۶ شهرستان استان اصفهان , به دلیل داشتن آب و هوا و پوشش گیاهی متنوع در آنها , به منظور تعیین میزان فراوانی و عوامل همراه (میزان PH و نوع آب و هوا) اکتینومیست های هوازی موجود در لایه سطحی خاک انجام گرفت.

مواد و روش ها

الف- تعداد نمونه

- تعداد کل نمونه خاک : ۸۰۰ نمونه از ۸۰۰ نقطه
- نعداد نمونه خاک در هر شهرستان : ۵۰ نمونه (شامل ۳۰ نمونه از شهر مرکزی و ۲۰ نمونه از روستا)

ب- مناطق مورد مطالعه : شامل ۱۶ شهرستان (۱۶ شهر و ۱۶ روستا) که به ترتیب حروف الفبا عبارت بودند از : اردستان (اردستان ، کریم آباد) ، برخوار و میمه (شاهین شهر ، گرگاب) ، خمینی شهر (خمینی شهر ، قلعه امیریه) ، خوانسار (خوانسار ، سنگ شیر) ، سمیرم (سمیرم ، دولت قرین) ، شهرضا (شهرضا ، منوچهر آباد) ، فریدن (داران ، آشجرد) ، فریدونشهر (فریدونشهر ، وحدت آباد) ، فلاورجان (فلاورجان ، رارا) ، کاشان (کاشان ، نوش

[1] - استاد دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ، استاد و مدیر گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شمال تهران
[2] - دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) ، دانشکده پزشکی ، گروه میکروبیولوژی – دانشجوی دکتری (Ph.D) قارچ شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
[3] - دانشگاه تربیت مدرس ،دانشکده علوم پزشکی ، گروه آمارحیاتی
[4] - دانشگاه علوم پزشکی تهران – دانشکده بهداشت – گروه قارچ شناسی و انگل شناسی

آباد) ، گلپایگان (گلپایگان ، خم پیچ) ، لنجان (زرین شهر ، اشیان) ، مبارکه (مبارکه ، نکوآباد) ، نائین (نائین ، هما آباد) ، نجف آباد (نجف آباد ، صالح آباد) و نطنز (نطنز، رحمت آباد) .

ج- زمان نمونه برداری و انجام کار : به ترتیب زمستان ۷۵ و در طول سالهای ۷۶ و ۷۷

د- محل های نمونه برداری

شهر : میدان ، بلوار ، کنارخیابان ، حیاط اداره جات ، پارکها ، پارکهای جنگلی وساحلی ، سواحل رودخانه ، کنارآبشار و ...

روستا : آغل دام و حیوانات اهلی ، لانه جوندگان ، زمین های زراعی و باغات میوه ، باغچه منازل مسکونی و ...

ه – روش نمونه برداری : پس از انتخاب محل , نمونه برداری توسط قاشق چوبی محکم و استریل از لایه سطحی خاک (تا عمق حداکثر ۳ سانتیمتری خاک) به میزان ۲۰۰ الی ۳۰۰ گرم انجام شد. نمونه ها به داخل کیسه نایلونی تمیز و ضخیم ریخته و درب آن را محکم بسته شد. مشخصات محل نمونه برداری ، موقعیت محل و زمان نمونه برداری ثبت شد نمونه ها به آزمایشگاه منتقل در جای خنک نگهداری شدند.

و- اندازه گیری PH خاک قبل از کشت نمونه ها با استفاده از دستگاه PH متر انجام شد.

روش اندازه گیری PH خاک : ابتدا سوسپانسیونی به نسبت ۱ به ۵ از خاک در آب مقطر تهیه نموده (۱ گرم خاک در ۵ میلی لیتر آب مقطر) و بلافاصله با قرار دادن الکترود PH متر به داخل آن PH خاک مورد نظر را اندازه گری شد.

ز- روش کار

طی یک پیش آزمون روش ، مورد ارزیابی قرار گرفت . در ابتدا روش میله های شیشه ای آغشته به پارافین را در مورد ۳۰ نمونه خاک شهر فلاورجان به کار بردیم اما به دلیل آلودگی باکتریائی خیلی زیاد نتایج رضایت بخشی حاصل نگردید. تنها دو نمونه مثبت بود و از آن دو نمونه هم گونه های نوکاردیا بطور خالص از محیط جدا نشد

. سپس دو نمونه خاک مثبت را به روش رقیق سازی با آنتی بیوتیک های کلرآمفنیکل و تتراسیکلین مورد ارزیابی قرار دادیم . اما از هیچکدام از دو نمونه گونه های نوکاردیا و دیگر اکتینومیست ها جدا نشد و محیط کشت آلودگی باکتریائی داشت ، بنابراین روش سوم که روش استفاده از محیط کشت حاوی کانامایسین بود ، بر روی این دو نمونه مورد ارزیابی قرار گرفت .

یافته ها

در این مطالعه از هر منطقه ۵۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. از ۸۰۰ نمونه خاک مورد بررسی , ۱۵۳ نمونه (۱۹/۱٪) دارای اکتینومیست های هوازی بود. از ۱۵۳ نمونه فوق ۱۷۸ گونه اکتینومیست هوازی , ۶ گونه مشخص از ۳ جنس مختلف , شامل نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس ۸۱ مورد (۴۵/۵٪) ، نوکاردیا برازیلینسیس ۴۴ مورد (۲۴/۷٪) ، گونه های نامشخص ۴۱ با به کار بردن کانامایسن در مقادیر (۲۵ , ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) و سیکلوهگزامید (۵۰۰ میلی گرم در لیتر) در محیط های کشت s و BHI آگار با و بدون کلرآمفنیکل (۵۰ میلی گرم در لیتر) در دو نمونه خاک محیط کشت BHI آگار محتوی کانامایسین به میزان ۲۵ میلی گرم در لیتر و سیکلوهگزامید به میزان ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به عنوان بهترین محیط کشت انتخاب شدند . در این محیط نه تنها از دو نمونه مثبت ذکر شده در بالا کلنی خالص گونه های نوکاردیا جدا شد بلکه در اکثر نمونه های مثبت ، کلنی خالص گونه های نوکاردیا بدون وجود حتی یک کلنی باکتری و یا قارچ بدست آمد.

- روش جداسازی با استفاده از محیط کشت حاوی کانامایسین

برای تهیه سوسپانسیونی از خاک کاملا مخلوط شده مراحل زیر طی شد:

۵-۳ گرم از خاک را به لوله آزمایش محتوی ml ۱۰ سرم فیزیولوژی استریل اضافه کرده ، به مدت ۲ دقیقه هم زدیم . سپس به مدت ۱۵ دقیقه سوسپانسیون را به حال خود قرار داده وسپس در شرائط استریل توسط پیپت استریل ml ۵-۲ از محلول روئی را کشیده و به لوله آزمایش استریل منتقل نمودیم. به میزان نصف حجم محلول روئی محلول آنتی بیوتیکی استرپتومایسین و کلرآمفنیکل (mg/ml ۲) اضافه کرده و هم زدیم . سپس محلول را به مدت ۰/۵ ساعت به حال خود قرار داده و پس از این مدت مجددا آنرا هم زده و بلافاصله به میزان یک قطره (ml ۰/۰۵) از آن را به محیط کشت BHI آگار سیکلوهگزامید دار (gr/lit ۰/۵) و کانامایسین دار (mg/lit ۲۵) اضافه نموده و به روش استریک (خطی) کشت داده در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲ هفته نگهداری نمودیم. در طول این مدت و بعد از آن از کلنی های چین دار به رنگ زرد ، قرمز،نارنجی و سفید تا کرم مشکوک به اکتینومیست ، نمونه خرد شده تهیه کرده و در صورت مشاهده میسلیومهای رشته ای ظریف و منشعب مشخص

اکتینومیست ها ، آن را ایزوله کرده و در محیط سابورو دکستروز آگار داخل لوله ، کشت دادیم. با در نظر گرفتن شکل و ظاهر کلنی و انجام رنگ آمیزی کاینیون وانجام تست های فیزیولوژیک هیدرولیز تیروزین ، گزانتین ، هیپوگزانتین ، اوره ، کازئین ، نشاسته و رشد در محیط ژلاتین ۰/۴ ٪ به شناسائی گونه های آن پرداختیم. مورد(۲۳٪) ، نوکاردیا اوتیتیدیس کاویاروم ۴ مورد (۲/۲٪) ، نوکاردیوپسیس داسونویلی و اکتینومادورا مادوره هر کدام به تعداد ۳ مورد (۱/۷٪) ، نوکاردیا ترانس والنسیس ۲ مورد (۱/۱٪) جدا شد.

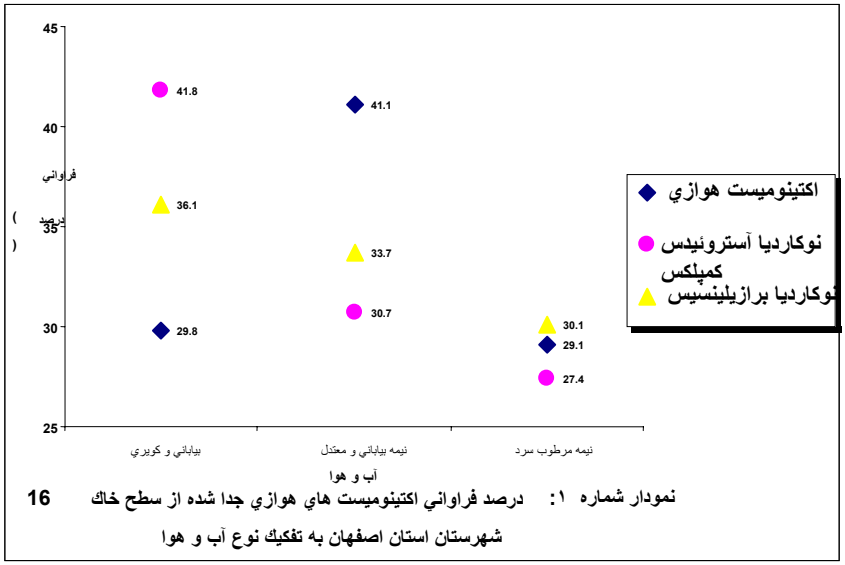
در بین ۱۶ شهرستان مورد مطالعه بیشترین و کمترین تعداد گونه اکتینومیست به ترتیب از شهرستان فلاورجان ۲۴ گونه (۱۳/۵٪) و شهرستان برخوار و میمه ۲ گونه (۱/۱٪) جدا گردید. (جدول شماره ۱). گونه غالب دراکثر شهرستانها مثل اردستان ، خمینی شهر ،

خوانسار، سمیرم ، شهرضا ، فریدن ، فریدونشهر ، فلاورجان ، لنجان
، مبارکه ، نجف آباد و نطنز ، نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس بود.

جدول شماره (۱) : تعداد و درصد فراوانی نمونه های مثبت ۱۶ شهرستان استان اصفهان در سال ۷۷-۱۳۷۶

داده شهرستان	تعداد کل نمونه های خاک	نمونه های مثبت	
		تعداد	درصد
اردستان	۵۰	۴	۸
برخوار و میمه	۵۰	۲	۴
خمینی شهر	۵۰	۸	۱۶
خوانسار	۵۰	۱۰	۲۰
سمیروم	۵۰	۸	۱۶
شهرضا	۵۰	۱۲	۲۴
فریدن	۵۰	۱۳	۲۶
فریدون شهر	۵۰	۶	۱۲
فلاور جان	۵۰	۲۱	۴۲
کاشان	۵۰	۷	۱۴
گلپایگان	۵۰	۳	۶
لنجان	۵۰	۱۶	۳۲
مبارکه	۵۰	۹	۱۸
نائین	۵۰	۱۳	۲۶
نجف آباد	۵۰	۱۲	۲۴
نطنز	۵۰	۹	۱۸
جمع کل	۸۰۰	۱۵۳	۱۹/۱

بیشترین گونه اکتینومیست هوازی (۴۱/۱٪) و بیشترین گونه نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس (۴۱/۸٪) از شهرستانهای با آب و هوای نیمه بیابانی و معتدل و بیشترین گونه نوکاردیا برازیلینسیس از شهرستانهای با آب و هوای بیابانی و کویری (۳۶/۱٪) جدا گردید. (نمودار شماره ۱)



نمودار شماره ۱: درصد فراوانی اکتینومیست های هوازی جدا شده از سطح خاک 16
شهرستان استان اصفهان به تفکیک نوع آب و هوا

از تعداد ۱۷۸ گونه اکتینومیست هوازی جدا شده ، ۱۰۷ گونه (۵۴/۵٪) از نمونه خاک های با PH بین ۷/۰۱ تا ۸ ، ۷۱ گونه (۴۵/۵٪) از خاک های با PH ۸/۰۱ تا ۹ جدا گردید. از نمونه خاک های با PH ۶ تا ۷ هیچ نوع اکتینومیستی جدا نگردید. در این بررسی بیشترین گونه نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس (۶۶/۷٪) از خاک های با ۸-۷/۰۱= PH و در مقابل بیشترین گونه نوکاردیا برازیلینسیس (۵۶/۸٪) از نمونه خاک های با ۹-۸/۰۱=PH جدا شد.

بحث

در این بررسی از محیط کشت انتخابی با آنتی بیوتیک کانامایسین استفاده شد و به دو دلیل از روش طعمه گذاری پارافین استفاده نگردید .

۱ – آلودگی باکتریایی به طور زیاد ۲ – عدم استفاده از پارافین توسط برخی گونه های نوکاردیا و دیگر اکتینومیستها

وتلوگینا و همکاران در سال۱۹۹۰ از ۱۱ ناحیه قزاقستان تعداد ۳۰۰۰ اکتینومیست را با استفاده از محیط کشت انتخابی با آنتی بیو تیک ها جدا کردند و به این نتیجه رسیدند که کانامایسین رشد اکتینومادورا و نوکاردیاها را تحریک می کند . (۱۱)

یازاوا و همکاران در سال ۱۹۹۱ در بررسی اثر کانامایسین بر روی گونه های پاتوژن نوکاردیا به این نتیجه رسیدند که تمام سویه های نوکاردیا برازیلینسیس ، نوکاردیا فارسینیکا و برخی سویه های نوکاردیا آستروئیدس از طریق تولید آنزیم آمینوگلیکوزید فسفو ترانسفراز مانع از اثر کانامایسین بر روی خود می شوند .(۲۱)

گونه غالب اکتینومیست هوازی در این بررسی گونه های نوکاردیا بود که با بررسی کرباسیان (۱۹) ، آیت الهی موسوی (۱۷) و حسینی سیاهی (۱۸) مغایرت و با بررسی پدی (۲۲)، موگرابی (۲۳) و درگاهی (۱۶) مطابقت دارد .

میزان شیوع گونه های نوکاردیای پاتوژن در خاک نقاط مختلف جهان از ۵ تا ۵۰ ٪ و در ایران از ۱/۸ تا ۱۶/۴ درصد گزارش شده است . (۱۴،۱۶،۱۷،۱۸،۱۹) . بیشترین میزان شیوع گونه های نوکاردیای پاتوژن در خاک نقاط مختلف ایران (۱۶/۴٪) مربوط به بررسی حاضر بود .

گونه غالب در بررسی حاضر نوکاردیا آستروئیدس کمپلکس بود که با بررسی عطیه (۸) وان گلدرن (۱۰) ، حسینی سیاهی (۱۸) ، مغایرت و با بررسی کروپ و میشرا (۵) ، آئلو(۷) ، مالیک (۶) ، ولروگیلن و مارتین لنگو (۹) کاستانون – الیواریس (۱۲) ، گل وکانتا (۲۴) ، اوناگو (۱۳) ، خان (۱۴) ، کرباسیان ، در گاهی ، و آیت الهی موسوی مطابقت دارد .

گونه غالب عامل نو کاردیوزیس در ایران نیز نو کاردیا آستروئیدس گزارش شده است. (۲۵،۲۶،۲۷)

میشوستین و همکاران در بررسی خود بر روی خاک مناطق مختلف روسیه بیشترین گونه اکتینومیست هوازی را از خاک با آب و هوای نیمه بیابانی و کمترین گونه را از مناطق سرد جدا نمودند که با بررسی حاضر مطابقت دارد .(۲۸)

در بررسی حاضر گونه های استرپتومایسس جدا نگردید که دلیل آن را می توان ۲ مورد زیر ذکر کرد.

۱- برطبق نظر ریپون گونه های استرپتومایسس بیشتر در PH کمتر از ۶/۵ دیده می شوند ، در این بررسی حدود ۹۰٪ نمونه های خاک واجد PH بالاتر از ۷ بودند. بنابراین یک دلیل را می توان قلیائی بودن خاک منطقه ذکر کرد. (۲۹)

۲- کرباسیان در بررسی خود به این نتیجه رسید که گونه های استرپتومایسس نسبت به کانامایسین (mg ۱۰) حساس هستند. با توجه به اینکه در روش کار از کانامایسین (mg ۲۵) استفاده نمودیم . دلیل دوم را میتوان غلظت کانامایسین مصرفی دانست.

تقدیر و تشکر

از اساتید و اعضاء محترم هیات علمی بخش قارچ شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران بویژه دکتر محمد رضا شیدفر ، دکتر فریده زینی ، دکتر پریوش کردبچه، دکتر سیدجمال هاشمی ،دکتر سید حسین میر هندی و پرسنل فعال آزمایشگاه قارچ شناسی پزشکی بویژه خانم ها خوشقدم امیدی ، فاطمه قرائیان ، نسرین قرائیان و آقایان مهربانی و نوروزی سپاسگزاری به عمل می آید.

Reference :

1-Borm W. , Gleixner M. (2003) Nocardia brain abcess misinterpreted as cerebral infarction , J Clin Neurosci , Jan;10(1)130-2

2-Daly AS , MC Geer A , Lipton JH. (2003) Systemic nocardiosis following allogenic bone marrow transplantation , Transpl Infect Dis . Mar ; 5 (1) :16-20

3-Dekeyser S and et al , (2003) Nocardia otitidiscaviarum , cutaneous infection … , Ann Biol Clin (paris),Mar-Apr ;61 (2) : 219-22

4-Singh and et al ,(2003),Disseminated nocardiosis in an immunocompetent child , Ann Trop Pediatr , Mar ; 23 (1) : 75-8 .

5-Kurup P.K and et al . (1968) A survey of N.asteroides , N.caviae and N.brasiliensis occuring in soil in india. Sabouroudia 260-266

6-Malikak and et al. (1986) Isolation ,characterization and animal pathogenicity of nocardia isolated from soil .Indian j path microbiol ; 25 : 263-67

7-Ajello G. and et al. (1979) A note on the isolation of pathogenic aerobic actinomycetes from sudanense soil. Curr.Microbiol; 2 : 25-26 .

8-Atia M.A. (1981) The isolation of pathogenic fungi and actinomycetes from soil in egypt . Sabourodia ; 19 : 217-221
9-Valero – Guillen pl. , Martin – luengo F. (1984) Nocardia in soil of southeastern spain . Abundance , distribution and chemical characterization . Cand j Microbiol ; 30 : 1088-92
10-Van Gelderen DKA and et al. (1987) Natural occurrence of Nocardia in soil of Tucuman physiological characteristic , Mycopathologia ; 99: 15-19
11-Vetlugina – La. And et al. (1990) Isolation of actinomycetales from the soil of kazakhestan on selective media with antibiotics , Antibiot. Khimioter. , Feb ; 35(2) : 3-5
12-Castanon – olivaris IR and et al (1992) Isolation of pathogenic actinomycetes from an area endemic for mycetoma in mexico revista mexicanade Micologia , 8 : 111-20
13-Unagu IG and et al . (1993) Occurrence of aerobic pathogenic actinomycetes in natural substrates in nigeria. J Common Dis ; 25 : 164-
14-Khan Z.U. and et al. (1997) Nocardia asteroides in the soil of kuwait . Mycopathologia ; 137 : 159-163
۱۵- عدیمی ناغان ، پروانه (۱۳۶۷) بررسی و مطالعه وجود اسپوروتریکس شنکئی در خاک و گیاهان شهر تهران و حومه ، پایان نامه کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی ، تهران دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۱۶-درگاهی ، غلامرضا (۱۳۷۱) ، بررسی و مطالعه اکتینومیستها و قارچهای بیماریزا در خاک شهر قزوین و حومه ، پایان نامه دوره دکتری علوم آزمایشگاهی تهران ، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی نهران
۱۷-آیت الهی موسوی ، سید امین (۱۳۷۲) ، بررسی و شناسائی قارچهای موجود در خاک و خار و خاشاک شهر کرمان ، پایان نامه کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی ، تهران دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۱۸-حسینی سیاهی ، علی (۱۳۷۳) ، بررسی قارچها و اکتینومیست ها در خاک و قارچهای موجود در خار و خاشاک شهر اهواز ، پایان نامه کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی ، تهران دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۱۹-کرباسیان ، محمد علی (۱۳۷۱) جداسازی اکتینومیستهای هوازی پاتوژن از خاک منطقه زاهدان و بررسی مایستوما در آن منطقه ، پایان نامه دوره دکتری علوم آزمایشگاهی تهران ، دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران
۲۰- مقدمی ، مهین ، شیدفر ، محمد رضا (۱۳۷۰) مطالعه عوامل بیماریزای مایستوما و اسپوروتریکوزیس در شمال ایران (گیلان و مازندران) ، مجله پزشکی جمهوری اسلامی ایران ، جلد پنجم ، شماره ۴-۳
21-Yazawa K. and et al. (1991) Inactivation of kanamycin a by phospharylation in pathogenic Nocardia . Microbiol Immunolm ; 35 (1) : 39-48
22-Bedi T.R. and et al. (1978) Red groin mycetoma of the scalp a case report from india , Mycopathologia ; 63 : 127-128
23-Moghraby and et al (1974) The isolation of pathogenic fungi and actinomycetes from soil … , Mycopathologia ; 30 : 81-87
24-Goels , kantas (1993) prevalence of Nocardia species in the soil of patiala area . Indian j pathol microbial ; 36 : 53-60
۲۵- امامی ، مسعود و همکاران (۱۳۷۳) ، قارچ شناسی پزشکی ، انتشارات دانشگاه تهران
۲۶-کردبچه ، پریوش ، مقدمی ، مهین (۱۳۷۱) بررسی نوکاردیوزیس در ایران ، مجموعه مقالات کنگره مشهد ، ص ۵۲
۲۷-توکل ، پرویز (۱۳۷۰) بررسی عفونت های قارچی ریه در بخش ریه بیمارستان شریعتی تهران ، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ، پایان نامه شماره ۱۹۷۴
28-Mishustin Y. and et al. (1986) Sanitary microbiology of the soil , Nauca.
29-Rippon j.w. (1988) medical mycology 3rd ed philadelphia , w.b.saunders.