

Artículo original

Caracterización de cepas de *Nocardia* spp. aisladas del suelo y de muestras clínicas basada en producción de melanina, hemólisis y propiedades tróficas.

Characterization of clinical and soil *Nocardia* spp. isolates strains based on melanin, hemolysis production and trophic properties.

García Enrique, Chacón Fátima.

Laboratorio de Microbiología del Suelo, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida – República Bolivariana de Venezuela.

Recibido octubre 2011 - Aceptado junio 2012

RESUMEN

El género *Nocardia* comprende bacterias aerobias, grampositivas, ácido-resistente variable, que pueden crecer en forma cocoidal, bacilar y filamentosa. Es un saprofito ambiental, su hábitat natural es el suelo y no forma parte de la microbiota habitual humana. En el hombre puede causar enfermedades como nocardiosis pulmonar y micetoma. En esta investigación se tomaron 33 cepas de *Nocardia* de diferentes especies, aunque con predominio de *Nocardia cyriacigeorgica*, aisladas de suelos de seis localidades del estado Lara y seis cepas de origen clínico, se sembraron en medios con diferente concentración de carbono con el fin de conocer la concentración mínima de carbono que permitía su crecimiento y se evaluó también la producción de pigmentos tipo melanina y la actividad hemolítica. La producción de melanina se evidenció por producción de un exopigmento color café en agar nutritivo y agar conservación, y la actividad hemolítica por la aparición de un halo claro (beta-hemólisis) en el agar sangre. Las cepas crecieron a bajas (10 mg/L) y a altas (1000 mg/L) concentraciones de carbono por lo que pueden considerarse oligotrofas facultativas.

PALABRAS CLAVE

Nocardia, melanina, hemólisis, oligotrofia, suelo.

ABSTRACT

The genus *Nocardia* comprise aerobic bacteria, grampositive, acid-fast variable, which can grow like coccus, rods and filaments. These are an environmental saprophyte, its natural habitat is the soil and does

not form part of the habitual human microbiota. In human may cause nocardiosis and mycetoma. In this investigation 33 *Nocardia* soil strains of different species, with predominance of *Nocardia cyriacigeorgica*, isolated from six localities of the Lara state and other six from clinical origin, were culture in media with different carbon concentration in order to know the minimal concentration of carbon that allow its growth. The production of the pigment melanin and hemolysis were evaluated too. The production of melanin was demonstrated by a brown exopigment secretion in nutrient and conservation agar, and the hemolysis by the appearance of a clear zone in blood agar. The strains grew well at low (10 mg/L) and high (1000 mg/L) carbon concentrations and thereafter may be considered to be oligotrophic facultative.

KEY WORDS

Nocardia, melanin, hemolysis, oligotroph, soil.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias del suelo han sido tradicionalmente divididas en autóctonas y zimógenas. En la actualidad sabemos que las bacterias autóctonas son oligotróficas y que las zimógenas son copiotrofas [1]. Las oligotrofas pueden crecer en condiciones donde escasean los nutrientes, a velocidades relativamente bajas, se asemejan a los denominados organismos con estrategia *K* y son consideradas con alto potencial de supervivencia [2], mientras que las copiotrofas, crecen en condiciones donde los recursos son abundantes, a velocidades mucho más altas que las oligotrofas y son considerados organismos con estrategia *r* [1].

Sin embargo la separación de estos dos grupos de microorganismos no debe verse como una clasificación rígida e inamovible: la oligotrofia es una condición reversible o facultativa [3].

Uno de los microorganismos del suelo menos estudiados es *Nocardia* el cual está conformado por bacterias aerobias, grampositivas, ácido-resistente variable, que pueden crecer en forma cocoidal, bacilar y filamentosa, poseen un metabolismo oxidativo, son quimiorganotrofas y catalasa positivas. El tiempo de generación es mayor que el de la gran mayoría de las bacterias, por lo que la fase estacionaria de crecimiento puede alcanzarse después de 3 ó 4 días [4], característica ésta de los microorganismos considerados oligotrofos o con estrategia K [5]. Es un saprofito ambiental, su hábitat natural es el suelo, agua, o materia orgánica en descomposición, de donde puede ser aislado con diferentes métodos [6-9], no forma parte de la microbiota habitual humana ni animal aunque algunas especies son consideradas importantes patógenos humanos, especialmente en pacientes inmunocomprometidos [10].

Algunas especies de *Nocardia* presentan actividad hemolítica [11] pero no existen muchos reportes de esta actividad en el género *Nocardia* a pesar de ser uno de los factores de virulencia más conocidos en otros microorganismos y fáciles de determinar en la práctica microbiológica rutinaria. Otra actividad también asociada con la virulencia y patogenicidad de los microorganismos es la producción de pigmentos tipo melanina, la cual ha sido reportada en bacterias, hongos y helmintos [12]. La capacidad para producir melanina por parte de los microorganismos de vida libre está asociada con ventajas ecológicas de supervivencia a agresiones del ambiente, mientras que como factor de virulencia está asociado con su capacidad para proteger de la acción de agentes antibacterianos, pesticidas y en la evasión de la respuesta inmunológica del hospedador [12,13]. El hecho de ser *Nocardia* un microorganismo de vida libre pero además un patógeno oportunista que eventualmente cambia de hábitat (suelo -humanos), despierta el interés de estudiar si posee factores de virulencia como la actividad hemolítica y la producción de melanina.

En el Laboratorio de Microbiología del Suelo (LMS) de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, se estudian algunos aspectos de la ecología de *Nocardia*: por una parte su nicho fundamental, es decir, las condiciones bajo las cuales puede vivir y reproducirse en ausencia de interacciones con otros seres vivos (rango de temperatura, pH, concentración de nutrientes, entre otras) y su nicho efectivo, esto es,

aquel que viene determinado por sus interacciones bióticas (competencia, antagonismo, parasitismo, entre otras). El objetivo del presente trabajo fue la caracterización de cepas de *Nocardia* spp. aisladas del suelo y de muestras clínicas basada en a) producción de melanina, b) actividad hemolítica y c) propiedades tróficas. Estos aspectos de *Nocardia* están relacionados con el nicho fundamental y el efectivo, de manera de contribuir al conocimiento de la ecología de estos microorganismos, su papel en el suelo y como eventuales patógenos oportunistas. Para ello se estudiaron: a) las interacciones bióticas de *Nocardia* (nicho efectivo) mediante la determinación de la producción de melanina y la hemólisis, factores potenciales de virulencia, b) El crecimiento de *Nocardia* a diferentes concentraciones de carbono con la finalidad de determinar si es un microorganismo oligotrofo o copiotrofo (nicho fundamental).

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Cepas

Se utilizaron 40 cepas pertenecientes a la colección del Laboratorio de Microbiología del Suelo de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, 33 de las cuales fueron aisladas de muestras de suelo en las siguientes localidades del estado Lara: Siquisique, Duaca (Quebrada de Oro y Caraquita), Humocaró Bajo, Arenales y El Padrón. Las cepas de origen clínico provienen de diferentes laboratorios del país y forman parte de la colección de cepas del Laboratorio de Microbiología del Suelo. Las cepas de referencia ATCC pertenecen a la colección del Departamento de Microbiología y Parasitología. Todas las cepas de *Nocardia* incluidas en este estudio fueron identificadas aplicando métodos bioquímicos, quimiotaxonómicos y de sensibilidad a los antibióticos, en el Laboratorio de Microbiología del Suelo de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (ULA-Mérida) y por amplificación y secuenciación del gen ARNr 16S en el Laboratorio de Taxonomía del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III (España).

2. Actividad hemolítica y producción de melanina

Se inocularon las cepas de *Nocardia*, así como las cepas de referencia *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) en placas de agar sangre (humana) y se incubaron a 32 °C durante 7 días. La positividad se demostró por la presencia de un halo translúcido alrededor del inóculo (β -hemólisis).

Para la determinación de la producción de pigmentos tipo melanina se inocularon las cepas en

agar nutritivo (peptona de caseína, 5,0 g; extracto de carne, 3,0 g; agar 12,0 g; agua destilada c.s.p. 1000 mL), y en agar conservación (peptona de caseína, 10,0 g; extracto de carne, 3,0 g; NaCl, 5,0 g; agar 12,0 g; agua destilada c.s.p. 1000 mL). Se incubaron a 32 °C durante 14 días o hasta la observación de un exopigmento color café que difundía alrededor de las colonias.

3. Estudio de las propiedades tróficas: Concentración mínima de carbono que permite el crecimiento

A partir del medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos oligotrofos y copiotrofos [14,16] constituido por MgSO₄·7H₂O, 0,5 g; KNO₃, 0,5 g; K₂HPO₄, 0,99 g; Ca(NO₃)₂·4 H₂O, 0,06 g; agar, 15 g; agua destilada c.s.p. 1000 mL, y 10 mL de una solución stock con 2,6 g de glucosa y 0,21 g de hidrolizado enzimático de caseína, se prepararon placas de petri con diferentes concentraciones de glucosa, que variaron entre 0 y 1000 mg de carbono por litro (mg C/L), con las siguientes concentraciones intermedias 10, 25, 50 y 100 mg C/L.

Las cepas se inocularon primero en placas con 0 mg C/L y 10 mg C/L con la finalidad de que agotaran su reserva interna de glucosa y luego de incubar por 3 días se tomó de este crecimiento para inocular todas las demás placas, se sellaron con papel parafilm para evitar su desecación, se incubaron por 21 días a 32 °C y se observó el crecimiento periódicamente.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la actividad hemolítica. En ella se observa que cinco de las seis cepas de *Nocardia* aisladas de casos clínicos presentaron actividad hemolítica mientras que, de las 33 provenientes del suelo, 21 (63,6%) mostraron esta actividad. Además, 69,2% (18/26) de las cepas edáficas de *N. cyriacigeorgica* fueron capaces de producir hemólisis sobre placas de agar sangre (Tabla 2). Los resultados también muestran que la hemólisis puede presentarse con diferentes grados o intensidad, con diámetros de halo que van desde 2 cm hasta 5 ó más cm de diámetro, y que las cepas de *N. cyriacigeorgica* de Quebrada de Oro parecieran expresar esta actividad con mayor intensidad que las de Caraquita. También resulta interesante destacar que las tres cepas de *N. farcinica* además de presentar halos de 5 cm también producen melanina.

La producción de melanina tuvo lugar tanto en agar nutritivo como en agar conservación y produjeron pigmento tipo melanina el 67,6% (27/40) de todas las cepas y el 82% (23/28) de las pertenecientes a la

especie *N. cyriacigeorgica* (Tabla 1). En la Tabla 2 se observa que todas las cepas de *N. cyriacigeorgica* o produjeron melanina o produjeron hemólisis y 53,6% (15/28) presentaron ambas actividades.

En la Tabla 3 se observa que todas las cepas crecieron en el medio que contenía el equivalente a 10 mg de C/L y también a las demás concentraciones, inclusive a 1000 mg de C/L. Además, las cepas utilizadas como control también crecieron a todas las concentraciones de carbono, tal y como se esperaba ya que representan a especies saprófitas, comensales o de las comúnmente aisladas en casos clínicos las cuales también son consideradas oligotrofas facultativas [15].

TABLA 1
Producción de melanina y hemólisis

Cepa	Especie	Origen	Melanina	Hemólisis*
LMS 177	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Caraquita	+	-
LMS 178	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Caraquita	+	-
LMS 179	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Caraquita	-	+
LMS 182	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Caraquita	-	+
LMS 186	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Caraquita	+	+
LMS 187	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Caraquita	+	-
LMS 189	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Caraquita	-	+
LMS 201	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Caraquita	+	+++
LMS 202	<i>Nocardia</i> sp.	Caraquita	-	-
LMS 174	<i>N. abscessus</i>	Qda. de Oro	-	+++
LMS 180	<i>Nocardia</i> sp.	Qda. de Oro	-	+
LMS 184	<i>Nocardia</i> sp.	Qda. de Oro	-	-
LMS 185	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	+	+
LMS 188	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	-	++
LMS 190	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	+	-
LMS 191	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	+	-
LMS 196	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	+	+++
LMS 197	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	+	+++
LMS 198	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	+	+++
LMS 199	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	+	-
LMS 200	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Qda. de Oro	+	+
LMS 66	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Siquisique	+	+++
LMS 69	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Siquisique	+	+++
LMS 71	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Siquisique	+	-
LMS 72	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Siquisique	+	-
LMS 73	<i>N. farcinica</i>	Siquisique	+	+++
LMS 121	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Arenales	+	+
LMS 126	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Arenales	+	+++
LMS 192	<i>N. vermiculata</i>	El Padrón	-	-
LMS 193	<i>N. veterana</i>	El Padrón	-	+
LMS 99	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Humocaro Bajo	-	+++
LMS 109	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Humocaro Bajo	+	+++
LMS 110	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Humocaro Bajo	+	+
LMS 1	<i>N. farcinica</i>	Lesión pie	+	+++
LMS 2	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Absceso	+	+
LMS 10	<i>N. cyriacigeorgica</i>	Absceso	+	+
LMS 11	<i>N. farcinica</i>	Absceso	+	+++
LMS 132	<i>N. asteroides</i>	Espito	+	+
LMS 206	<i>N. otitidiscaviarum</i>	Micetoma	-	-
LMS 207	<i>N. nova</i>	Referencia	-	++
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	Referencia	-	-
ATCC 6633	<i>B. subtilis</i>	Referencia	-	+++
ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i>	Referencia	-	+++
ATCC 25923	<i>S. aureus</i>	Referencia	-	-

*+: 2 cm; ++: 3 cm; +++: 5 cm o más de diámetro de halo
ATCC: American Type Culture Collection; LMS: Laboratorio de Microbiología del Suelo

TABLA 2

Producción de melanina y hemolisina por las cepas de *N. cyriaciageorgica*.

Cepa	Origen	Melanina(M)	Hemólisis(H)	M+H
LMS 177	Caraquita	+	-	+
LMS 178	Caraquita	+	-	+
LMS 179	Caraquita	-	+	+
LMS 182	Caraquita	-	+	+
LMS 186	Caraquita	+	+	++
LMS 187	Caraquita	+	-	+
LMS 189	Caraquita	-	+	+
LMS 201	Caraquita	+	+	++
LMS 185	Qda. de Oro	+	+	++
LMS 188	Qda. de Oro	-	+	+
LMS 190	Qda. de Oro	+	-	+
LMS 191	Qda. de Oro	+	-	+
LMS 196	Qda. de Oro	+	+	++
LMS 197	Qda. de Oro	+	+	++
LMS 198	Qda. de Oro	+	+	++
LMS 199	Qda. de Oro	+	-	+
LMS 200	Qda. de Oro	+	+	++
LMS 066	Siquisique	+	+	++
LMS 069	Siquisique	+	+	++
LMS 071	Siquisique	+	-	+
LMS 072	Siquisique	+	-	+
LMS 121	Arenales	+	+	++
LMS 126	Arenales	+	+	++
LMS 99	Humocaro Bajo	-	+	+
LMS 109	Humocaro Bajo	+	+	++
LMS 110	Humocaro Bajo	+	+	++
LMS 02	Absceso	+	+	++
LMS 10	Absceso	+	+	++
Σ=28		23+	20+	15 M+H

LMS: Laboratorio de Microbiología del Suelo

TABLA 3

Concentración mínima de carbono que permite el crecimiento* (mg/L)

Cepa	Especie	Origen	0	10	25	50	100	1000
LMS 177	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Caraquita	-	+	++	++	++	+++
LMS 178	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Caraquita	-	+	++	++	++	+++
LMS 179	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Caraquita	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 182	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Caraquita	-	+	++	++	+++	+++
LMS 186	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Caraquita	-	+	++	++	++	+++
LMS 187	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Caraquita	-	+	++	++	+++	+++
LMS 189	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Caraquita	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 201	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Caraquita	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 202	<i>Nocardia sp.</i>	Caraquita	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 174	<i>N. abscessus</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 180	<i>Nocardia sp.</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 184	<i>Nocardia sp.</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 185	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 188	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 190	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 191	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 196	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 197	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	++	+++
LMS 198	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 199	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	++	+++
LMS 200	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Qda. de Oro	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 66	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Siquisique	-	+	++	++	+++	+++
LMS 69	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Siquisique	-	+	++	++	++	+++
LMS 71	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Siquisique	-	+	++	++	+++	+++
LMS 72	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Siquisique	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 73	<i>N. farcinica</i>	Siquisique	-	+	++	++	+++	+++
LMS 121	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Arenales	-	+	++	++	+++	+++
LMS 126	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Arenales	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 192	<i>N. vermiculata</i>	El Padrón	-	+	++	++	+++	+++
LMS 193	<i>N. veterana</i>	El Padrón	-	+	++	++	+++	+++
LMS 99	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Humocaro Bajo	-	+	++	++	++	+++
LMS 109	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Humocaro Bajo	-	+	++	++	++	+++
LMS 110	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Humocaro Bajo	-	+	++	+++	+++	+++
LMS 1	<i>N. farcinica</i>	Lesión pie	-	+	++	++	++	+++
LMS 2	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Absceso	-	+	++	++	+++	+++
LMS 10	<i>N. cyriaciageorgica</i>	Absceso	-	+	++	++	++	+++
LMS 11	<i>N. farcinica</i>	Absceso	-	+	++	++	+	+++
LMS 132	<i>N. asteroides</i>	Espuito	-	+	++	++	+++	+++
LMS 206	<i>N. otitidiscaviarum</i>	Micetoma	-	+	++	++	+++	+++
LMS 207	<i>N. nova</i>	Referencia	-	+	++	++	+++	+++
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	Referencia	-	+	++	++	+++	+++
ATCC 6633	<i>B. subtilis</i>	Referencia	-	+	++	++	+++	+++
ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i>	Referencia	-	+	++	++	+++	+++
ATCC 25923	<i>S. aureus</i>	Referencia	-	+	++	++	+++	+++

*+: crecimiento moderado; ++: crecimiento intermedio; +++: crecimiento abundante

ATCC: American Type Culture Collection; LMS: Laboratorio de Microbiología del Suelo

DISCUSIÓN

La actividad hemolítica constituye uno de los factores de virulencia más conocidos y estudiados y es causada por la producción de hemolisinas características de muchas especies de bacterias patógenas tales como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* hemolíticos, *Escherichia coli*, y otras. Pocos reportes hablan de la existencia de esta actividad en *Nocardia* con excepción de la publicación de 1986 en la que Emeruwua [11] reporta el aislamiento y estudio de algunas propiedades de una β -hemolisina de *Nocardia asteroides* y la de Schlaberg y col. [17] en 2006. En el presente trabajo se estudiaron 40 cepas (clínicas+edáficas) de diferentes especies de *Nocardia* y se detectó actividad hemolítica en 28 (70%) de ellas, lo cual justifica considerar esta actividad como una característica muy asociada con el género y particularmente con la especie *N. cyriacigeorgica* (69,2% son positivas). En este sentido, el presente trabajo constituye una importante contribución a la descripción del género *Nocardia* y en particular, a la especie *N. cyriacigeorgica* la cual ha sido reconocida recientemente como un patógeno emergente [17] en muchas partes del mundo y ha sido objeto de diversos estudios fenotípicos, quimiotaxonómicos y de biología molecular. Los resultados obtenidos en este estudio sobre la actividad hemolítica producida por *N. cyriacigeorgica* contrastan con los de Schlaberg y col. (17), quienes estudiaron 8 cepas de esta especie y no detectaron actividad hemolítica sobre agar sangre de carnero al 5%. Sería conveniente investigar el comportamiento de las cepas del presente trabajo en agar sangre de caballo, carnero o conejo. También hay que señalar que, tal y como se muestra en la Tabla 1, la hemólisis puede manifestarse con diferentes grados de intensidad (diferencias en el diámetro de halo) lo cual podría ser debido a distintos niveles de producción o de actividad de las hemolisinas involucradas, asunto que sería interesante investigar posteriormente.

En general se considera que la virulencia microbiana está asociada a la producción de diversos factores entre los que se reconocen, además de la producción de hemolisinas, la de pigmentos tipo melanina. La melanina parece contribuir con la virulencia disminuyendo la susceptibilidad de los microorganismos a los mecanismos de defensa del hospedador, promoviendo la supervivencia microbiana y permitiendo al microorganismo causar enfermedad, y su producción además está asociada a la protección contra agresiones del medio ambiente [12]. Llama la atención que de todas las cepas estudiadas (40) sólo tres no produjeron ninguno de los factores de

virulencia, entre ellas dos cepas de *Nocardia* sp., esto sugiere que tal vez pertenezcan a especies saprófitas no patógenas.

Está ampliamente aceptado que las bacterias copiotrofas crecen relativamente rápido en medios ricos en carbono (1000 mg C/L) y sus colonias son visibles después de pocas horas de incubación (~12 h), mientras que las oligotrofas son más lentas en su crecimiento, pero algunas, las denominadas oligotrofas estrictas, lo hacen mejor en medios con bajo contenido de carbono (10 mg C/L) y requieren muchas horas, días, o semanas de incubación [2,5,16]. Esta clasificación de bacterias oligotrofas y copiotrofas corresponde a los denominados microorganismos de estrategia K (“autóctonos”) y r (“zimógenos”), respectivamente, que no son estrategias rígidas sino flexibles que pueden presentarse en bacterias oligotrofas facultativas que crecen bien tanto a bajas como a altas concentraciones de carbono [3]. La concentración utilizada por Semenov y col. [14] para el aislamiento de microorganismos oligotrofos es de 10 mg C/L, la misma a la que crecieron las cepas estudiadas en el presente trabajo. Además crecieron bien a 1000 mg C/L, la utilizada para el crecimiento de microorganismos copiotrofos [14], por lo que estos resultados sugieren que *Nocardia* debe ser considerada un microorganismo oligotrofo facultativo ya que puede crecer tanto a bajas como a altas concentraciones de carbono. Esto último es reforzado por el hecho de que las colonias en medios ricos como el agar sangre o el nutritivo tardaron entre 3 y 4 días para hacerse visibles, característica propia de los microorganismos oligotrofos [5].

Desde el punto de vista del significado ecológico de esta característica (oligotrofia facultativa) se puede decir que *Nocardia* tendría la habilidad de colonizar y habitar sustratos pobres en nutrientes, tales como suelo, que puede mantener sus células viables bajo condiciones ambientales muy desfavorables y que por su condición de oligotrofa facultativa puede también desarrollarse cuando las condiciones del medio ambiente cambien y se haga más rico en nutrientes.

CONCLUSIONES

1. La capacidad de producir hemólisis y pigmentos tipo melanina es una característica que debe ser incluida en la descripción general de la especie *N. cyriacigeorgica*.

2. Debido a la capacidad de crecer a bajas y a altas concentraciones de carbono, las especies de *Nocardia* que se estudiaron deben ser consideradas oligotrofas

facultativas.

3. Desde el punto de vista ecológico y como hipótesis de trabajo para estudios posteriores se podría considerar a *Nocardia* como un microorganismo con un nicho fundamental caracterizado por mecanismos de supervivencia que le permite vivir en suelos pobres o ricos en materia orgánica (oligotrofia facultativa), que puede protegerse de agresiones ambientales (ejemplo luz ultravioleta) produciendo melanina, pero que cuando cambia de hábitat e infecta al humano (patógeno oportunista) puede lisar sus eritrocitos (nicho efectivo) y protegerse de los mecanismos de defensa del hospedador con la melanina que antes lo protegía en su hábitat natural.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes (CDCHTA) de la Universidad de Los Andes, Mérida – Venezuela (Proyecto N° FA-488-11-03-F).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Van Elsas JD, Torsvik V, Hartmann, Øvreas L, Jansson K. The bacteria and archaea in soil. En: *Modern Soil Microbiology*; 2ª edición. CRC Press; 2007. CRC Press. p 83-105.

[2] Fierer N, Bradford MA, Jackson RB. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*. 2007; 88 (6): 1354-1364.

[3] Stenström J, Svensson K, Johansson M. Reversible transition between active and dormant microbial states in soil. *FEMS Microbiol Ecol*. 2001; 36: 93-104.

[4] Goodfellow M, Lechevalier M. Genus *Nocardia*. En: Williams ST, Sharpe E, Holt J, (Eds.) *Bergey's manuals of systematic bacteriology*; 1989. Baltimore (EE UU). Williams & Wilking.

[5] Schmidt TM, Konopka AE. Physiological and ecological adaptations of slow-growing, heterotrophic microbes and consequences for cultivation. *Microbiol Monographs*. 2008; 101-120.

[6] Ramírez A., Blanco M., García E. Biogeografía de *Nocardia*: Estudio de la población edáfica de *Nocardia* en diversas zonas climáticas del estado

Lara, Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2003; 23 (2): 142-147.

[7] Uzcátegui M, Serrano J, Rojas K, García E, Díaz F., Couble A. Aislamiento de *Nocardia* asteroides de muestras de suelo de cinco estados de Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2001; 21 (1): 17-23.

[8] Valero P, Matin F. *Nocardia* in soil of southeastern Spain: abundance, distribution, and chemical characterization. *Can J Microbiology*. 1984; 30: 1088-1092.

[9] Van Gelderen A, Duran E. The efficiency of 1M NH₄Cl and 2M NaCl for the isolation of pathogenic *Nocardia* from soil. *Mycopathologia*. 1989; 108: 117-123.

[10] Conville PS, Murray PR, Zelazny AM. Evaluation of the integrated database network system (IDNS) smartgene software for analysis of 16S rRNA gene sequences for identification of *Nocardia* species. *J Clin Microbiol*. 2010; 48 (8): 2995-2998.

[11] Emeruwa AC. Isolation and some properties of beta-hemolysin produced by *Nocardia* asteroides. *Mycopathologia*. 1986; 95: 29-35.

[12] Nosanchuk JD, Casadevall A. The contribution of melanin to microbial pathogenesis. *Cell Microbiol*. 2003; 5 (4): 203-23.

[13] Nosanchuk JD, Casadevall A. Impact of melanin on microbial virulence and clinical resistance to antimicrobial compounds. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50 (11): 3519-3528.

[14] Semenov AM, Bruggen AHC, Zelenev W. Moving waves of bacterial populations and total organic carbon along roots of wheat. *Microb Ecol*. 1999; 37: 116-128.

[15] Tada Y, Ihmori M, Yamaguchi J. Oligotrophic bacteria isolated from clinical materials *J Clin Microbiol*. 1995; 33 (2): 493-494.

[16] Zelenev VV, van Bruggen AHC, Leffelaar PA, Bloem J, Semenov AM. Oscillating dynamics of bacterial populations and their predators in response to fresh organic matter added to soil: The simulation model 'BACWAVE-WEB'. *Soil Biol Biochem*. 2006; 38: 1690-1711.

[17] Schlaberg R, Huard RC, Della-Latta P. *Nocardia cyriacigeorgica*, an emerging pathogen in the United States. *J Clin Microbiol*. 2008; 46 (1): 265-273.