تمایز سوش‌های چندگانه ترایکوفایتون منتاگروفایتیس در بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس با استفاده از روش تکثیر تصادفی پلی‌مورفیسم DNA (RAPD) در مراکز پوست وابسته به بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی ایران

*دکتر سید امیر یزدان‌پرستI

حمزه رحیمیII

میترا فرنودیانIII

چکیده

زمینه و هدف: درماتوفیت‌ها،گروهی از قارچ‌های کراتین دوست هستند که گروه وسیعی از بیماری‌های پوست و ضمائم آن مانند ناخن و مو را ایجاد می‌کنند. در بین عوامل قارچی، جنس ترایکوفایتون که عامل عمده کچلی پا در سرتاسر دنیا می‌باشد، از اهمیت خاصی برخوردار است و تا به حال درحدود ۲٤ گونه آن شناسایی شده است .علاوه بر آن بررسی‌های مولکولی بر روی تمایز انواع گونه ترایکوفایتون منتاگروفایتیس در نمونه‌های جمع آوری شده در ضایعات یکسان از بیماران مختلف مبتلا به درماتوفیتوزیس، نشان دهنده وجود چندین گونه متفاوت در این ضایعات بوده است. هدف از انجام این پژوهش تعیین گونه و نوع ترایکوفایتون‌ها جهت جلوگیری از گسترش عفونت است که از نقطه نظر اپیدمیولوژیک بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه از نوع توصیفی تحلیلی است. نمونه‌های پوست از ۱۰۰ بیمار مختلف مبتلا به درماتوفیتوزیس در اثر ترایکوفایتون منتاگروفایتیس کشت داده شد و پلیت‌های کشتی که دارای ٥ کلنی بودند، انتخاب شدند.DNA آن‌ها به طور جداگانه استخراج و نتایج با توجه به مراحل مختلف روش مولکولی واکنش زنجیرهای پلیمراز و بر اساس خصوصیت اختلاف در تعداد تکرار ژن‌های تولید کننده اسیدریبونوکلئیک ریبوزومی منطقه غیرژنی تجزیه و تحلیل شد. قابل ذکر است نتایج داده شده با آزمون‌های آماری انحراف معیار (±SD)، Chi-square و t-student مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها: از میان ۱۰۰ نمونه ترایکوفایتون منتاگروفایتیس تنها در ۲۰ نمونه، تعداد ۲ نوع مختلف یا بیشتر در یک واریته از گونه ترایکوفایتون منتاگروفایتیس مشاهده گردید.

نتیجه گیری: براساس یافته‌های این پژوهش پیش بینی می‌شود که در تعداد زیادی از عفونت‌های قارچی پوست که توسط ترایکوفایتون منتاگروفایتیس ایجاد شده اند، گونه های زیادی وجود داشته باشد. وجود چنین مسئله‌ای (Multiple strain) در مطالعات اپیدمیولوژیک مربوط به بیماری‌های قارچی، نحوه درمان و مشخص کردن مقاومت دارویی از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱- ترایکوفایتون منتاگروفایتیس ۲- درماتوفیتوزیس ۳- تمایز مولکولی استرین ها ٤- تکثیر تصادفی پلی مورفیسم DNA (RAPD)

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۳، تاریخ پذیرش:۸۷/۹/۱۱

مقدمه

درماتوفیت‌ها، گروهی از قارچ‌های کراتین دوست هستند که در سه دسته اپیدرموفایتون، میکروسپوروم و ترایکوفایتون قرار می‌گیرند و شایع ترین تظاهر آن‌ها کچلی پا (پای ورزشکاران)، کچلی ناخن و کچلی تنه و سرمی باشد.[۱] علل عمده کچلی پا در سرتاسر دنیا ترایکوفایتون منتاگروفایتیس و ترایکوفایتون روبروم گزارش شده است.[۲]

یکی از نتایج تشکیل این کلنی‌های درماتوفیتی واکنش میزبان با متابولیت‌های قارچ است که شدت بیماری براساس استرین یا گونه درماتوفیت و حساسیت میزبان به قارچ خاص متفاوت می‌باشد. به طور کلی، واکنش میزبان تحت تاثیر ایمنی میزبان و گونه‌ها و زیر گونه‌های قارچ بوده و حساسیت نسبت به درماتوفیت‌ها می‌تواند

این مطالعه تحت حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است(کد پروژه ٦۰۳).

I) دانشیار و متخصص قارچ شناسی، بخش قارچ شناسی، دانشکده پیراپزشکی،تقاطع برگراه‌های شهید همت و چمران،دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران (* مولف مسؤول)

II) ،دانشجوی دوره دکتری تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی، انیستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

III) کارشناسی ارشد رشته قارچ شناسی ، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-04-20]

از نوع فوری یا تاخیری باشد که به طور معمول حساسیت فوری در اثر کربوهیدرات قارچ و حساسیت تاخیری در اثر وجود پروتئین قارچ ایجاد می‌گردد.[۳]

ترایکوفایتون منتاگروفایتیس دارای انواع متفاوتی است، اما اغلب تنها دو نوع آن از ضایعات انسانی جدا شده است: ترایکوفایتون منتاگروفایتیس واریته اینتردیجیتال (فرم انسان دوست) و ترایکوفایتون منتاگروفایتیس واریته منتاگروفایتیس (فرم حیوان دوست). واریته منتاگروفایتیس معمولاً باعث ضایعات التهابی کچلی سر،کچلی بدن و کچلی کشاله ران می‌شود، در حالی که واریته انسان دوست (اینتردیجیتال) اکثراً باعث کچلی مزمن پا،کچلی ناخن و کچلی نواحی چین‌دار می‌شود.

داروهای موضعی ضد قارچ گروه آزول از موثرترین داروها جهت درمان درماتوفیت‌ها هستند. درمان درماتوفیتوزیس و انیکومایکوزیس ناشی از درماتوفیت‌ها با تربینافین (Terbinafine) در ۸۵٪ موارد موفقیت‌آمیز بوده است. از دلایل عمده عدم موفقیت درمان (۱۵٪) می‌توان به عواملی مانند عدم نفوذ دارو به بافت‌های عمقی، مقاومت به داروهای ضد قارچی، عدم تشخیص صحیح عوامل قارچی در آزمایشگاه، انواع گونه‌ها، واریته‌ها و استرین‌های قارچی، عوامل سیستمیک و پاسخ‌های میزبان و مهم‌تر از همه ساختمان پیچیده و مقاوم آرتروکونیدیا اشاره کرد که تمام آن‌ها می‌توانند سبب عود مجدد شوند.

عود بیماری به ویژه در عفونت‌های ناشی از ترایکوفایتون روبروم به طور مکرر مشاهده شده است.[۴] از نظر رشد اپیدمیولوژیک(Dysgonic) ، تعیین واریته و استرین ترایکوفایتون‌ها و طبقه‌بندی آن‌ها برای جلوگیری از گسترش عفونت از اهمیت زیادی برخوردار است.

در حال حاضر تشخیص آزمایشگاهی گونه‌ها و واریته‌های ترایکوفایتون براساس آزمایش‌های میکروسکوپی و کشت‌های آزمایشگاهی و تست هایی مانند سوراخ کردن مو و تعدادی از تست‌های فیزیولوژیکی صورت می‌گیرد که اغلب این تست‌ها بسیار وقت‌گیر بوده و نیاز به مهارت‌های خاص و دقت فراوان در آزمایشگاه دارند.[۵]

روش‌های مولکولی تیپ‌بندی جهت مطالعه گونه‌های درماتوفیت با موفقیت زیادی همراه نبوده است. روش آنالیز آنزیمی محدودکننده DNA (Restriction Enzyme Analysis) میتوکندری ایزوله‌های ترایکوفایتون منتاگروفایتیس از نواحی مختلف جغرافیایی نتوانسته تفاوت بین گونه‌ای (Intraspecies) را معلوم کند.[۶] در حالی که روش تکثیر اتفاقی DNA پلی‌مورفیک (Random Amplified Polymorphic DNA-RAPD) هتروژنیسیتی موجود بین ایزوله‌های ترایکوفایتون ویولاسئوم را در یک مطالعه اپیدمولوژیک نشان داده است.[۷]

در مطالعات انجام شده معلوم شده است که دو واریته ترایکوفایتون منتاگروفایتیس با استفاده از یک پرایمر RAPD از همدیگر متمایز می‌شوند[۸]که براساس باندهای اختصاصی مشاهده شده، بینش هایی را نسبت به ساختار ژنتیکی وعملکردهای ممکن در مورد این نواحی ژنی اشغال شده فراهم می‌کند که موجب درک بیشتر روابط ژنتیکی بین واریته‌های مختلف ترایکوفایتون‌ها می‌شود و تشخیص درماتوفیت‌های انسانی بهتر، دقیق‌تر و سریع‌تر صورت می‌گیرد.

این مطالعه که در مقطع زمانی یک ساله (۱۳۸۶-۱۳۸۵) انجام شد، نشان داد که عامل جدا شده ترایکوفایتون منتاگروفایتیس از ضایعات پوست در یک بیمار مشخص، ممکن است که دارای چندین استرین مختلف باشد که این مسئله در مطالعات اپیدمیولوژیکی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار می‌باشد.

هدف از انجام این پژوهش تعیین واریته واسترین ترایکوفایتون‌ها جهت جلوگیری از گسترش عفونت است که می‌تواند نقش بسزایی دربررسی چگونگی الگوی مقاومت و نحوه درمان این بیماری داشته باشد.

روش بررسی

جمع‌آوری نمونه‌ها

ایزوله‌های ترایکوفایتون منتاگروفایتیس از ضایعات پوستی درماتوفیتی در دست،پا، سینه،پشت

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-04-20]

و گردن ۱۰۰ بیمار مختلف که مبتلا به درماتوفیتوزیس بودند به طور تصادفی از بیمارستان حضرت رسول اکرم و آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران به مدت ٦ ماه جمع آوری شده‌اند. سپس هر یک به طور جداگانه به روش آزمایش مستقیم مورد بررسی قرار گرفتند و روی محیط کشت سابورودکستروز آگار (SAB-agar)کشت داده شدند. ٦٠٪ نمونه‌ها در آزمایش مستقیم مثبت گزارش شدند وسپس از هر پلیت کشت، ٥ کلنی انتخاب گردید.

استخراج و تخلیص DNA از ایزوله‌های قارچی

ایزوله‌های قارچی ترایکوفایتون منتاگروفایتیس به طور جداگانه در حجم ٥٠ میلی لیتر از محیط کشت آبگوشت سابورو(Sabouraud broth) به مدت ٧ روز در حرارت ٢٧ درجه سانتی‌گراد (^{0}c) در داخل دستگاه شیکر انکوباتور با سرعت ١٥٠rpm کشت داده شدند. جرم زیستی حاصل، پس از ٢ نوبت شستشو با آب مقطر استریل و صاف کردن از صافی مخصوص جمع‌آوری و در دمای ٧٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به٣-٢ گرم از جرم زیستی شده در داخل یک هاون چینی سرد، نیتروژن مایع اضافه گردید و با استفاده از دسته هاون چینی آسیاب و به پودر تبدیل گردید. سپس به٢٠٠ میلی‌گرم از این پودر مقدار ٦٠٠ میکرولیتر (µl) از بافر لیز (400 mM Tris-HCl, pH 8.0; 60 mM EDTA; 150 mM NaCl; 1% [SDS]; 40 mg/ml proteinase K) اضافه گردید.

نمونه‌ها به مدت ١ ساعت در حرارت ٦٠ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس ١٠٠ میکرولیتر از سدیم پرکلرات اضافه و به مدت ١٥ دقیقه در حرارت ٦٠ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از قرار دادن لوله‌ها بر روی یخ، ٥٠٠ میکرولیتر ازکلروفرم سرد و ٥٠٠ میکرولیتر از فنل کلروفرم ایزوآمیل(24:24:1 ، ٨ =pH) و در نهایت ٥٠٠ میکرولیتر کلروفرم افزوده شد.

سپس با اضافه کردن ١٠٠٠ میکرولیتر اتانول سرد ٩٥٪ و ٢ نوبت شستشو رسوب DNA با اتانول سرد ٧٠٪، می‌توان رسوب را روی کاغذهای مخصوص خشک و بعداً در ٢٠٠میکرولیتر از آب مقطر استریل به صورت معلق در لوله اپندورف میکروسانتریفوژ حل کرد.

تکثیر DNA با استفاده از روش RAPD

جهت تکثیر منطقه غیرژنی بین محل TRS1–(NTS region of T.rubrum) از پرایمرهای (RAH1) 5-GTGACGTAGG-3 و (RAH2) 5-ATGGATCCGG-3 (شرکت سیناژن،ایران) در واکنش‌های جداگانه استفاده شد.DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Palam Cycler (شرکت آرمین طب،ایران) در حجم µl ٥٠ انجام شد. هر واکنش حاوی ٥٠-٢٥ میکروگرم(µg) از DNA قارچی،٥٠ پیکومول (pmol) از هر یک از دی اکسی نوکلئوزید تری فسفات ها، Tris-HCL 10mmol (PH=8.3)، 0/5mmol/l $MgCl_2$-،kcl 150mmol/l ١٠٠ pmol،از پرایمر و 1U از DNA Taq پلیمراز (شرکت سیناژن،ایران) می‌باشد.

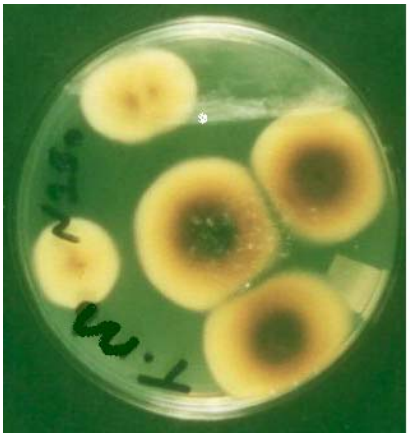
واکنش در ٣٠ سیکل و با شرایط زیر انجام شد::^{0}c٩٤،٥ دقیقه یک سیکل، ^{0}c٩٤، ١دقیقه، ^{0}c٥٨، ٦٠ ثانیه، ^{0}c٧٢، ٣ دقیقه در ٣٠ سیکل. در هر آزمایش یک لوله فاقد DNA به عنوان کنترل منفی استفاده شد. قطعات DNA حاصل بر روی ژل آگاروز ٢٪(wt/vol) (شرکت سیناژن،ایران) به مدت یک ساعت در ولتاژ ٧٠ میلی‌آمپر با بافر 1x TBE(89 mmol/l،89.2 mmol/l Tris بوریک اسید و ٠/٥ mmol/l EDTA) ران و جدا شد. سپس با رنگ اتیدیوم بروماید (٠/٥ µg/ml) رنگ‌آمیزی انجام شد.

در نهایت محصول PCR زیر نور فرابنفش مورد مشاهده و عکس برداری قرار گرفت. از مارکر bp ١٠٠ (QiaGene,Germany) جهت تعیین اندازه باندها و به عنوان نشانگر مورد استفاده قرار گرفت. ذکر این نکته لازم است که با استفاده از کنترل‌های منفی DNA و PCR در تمام تست ها، هیچ گونه باندی مشاهده نشد.

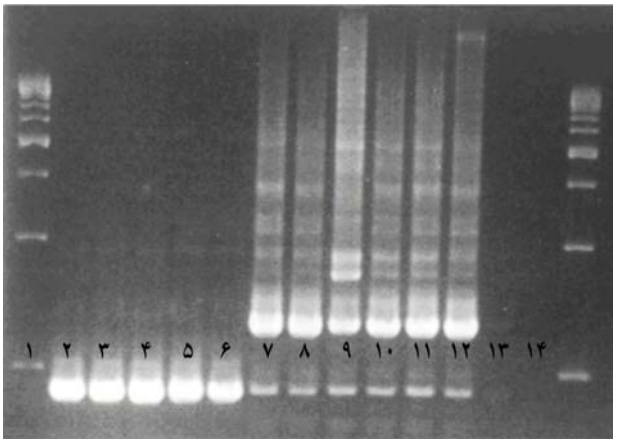
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-04-20]

یافته‌ها

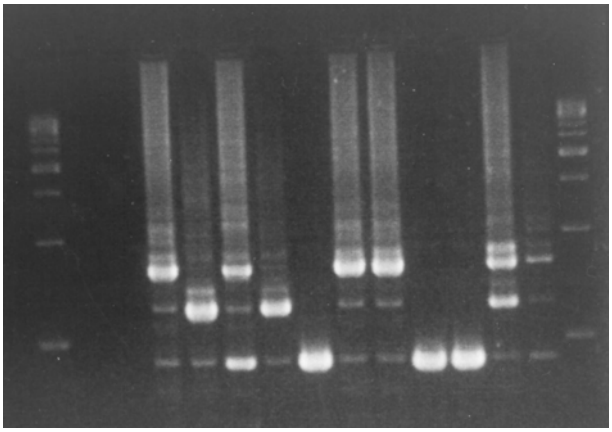
در این مطالعه که با روش RAPD انجام شد، تعداد ۱۰۰ایزوله ترایکوفایتون منتاگروفایتیس به دست آمده از ضایعات یکسان پوست که هر یک متعلق به بیمار مشخصی بود، بر روی محیط SAB کشت داده شداند و از هر پلیت کشت، ۵ عدد کلنی انتخاب گردید (شکل شماره۱). DNA استخراج شده از کلون‌های مذکور جهت تکثیر با روش RAPD مورد آزمایش قرار گرفتند که نشان داد بیش از یک استرین در نمونه‌ها وجود دارد (اشکال شماره۲ و ۳).



شکل شماره ۱- ۵ کلنی ترایکوفایتون منتاگروفایتیس



شکل شماره ۲- تمایز استرین‌های ترایکوفایتون منتاگروفایتیس و تعیین نوع مربوطه در ۵ کلنی مربوط به هر بیمار از نمونه‌های پوست در ۲ بیمار مختلف مبتلا به درماتوفیتوزیس با روشRAPD ، باند شماره ۱ مارکر مولکولیBP 100، باند شماره ۲، ۳، ٤، ۵ و ٦ مربوط به کلنی‌های یک بیمار، باند شماره۷ کنترل مثبت، باند شماره ۸، ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ مربوط به کلنی‌های بیمار شماره۲، باند شماره ۱۳ و ۱٤ کنترل منفی می‌باشند.



شکل شماره ۳- تمایز استرین‌های ترایکوفایتون منتاگروفایتیس و تعیین نوع مربوطه در ۵ کلنی مربوط به هر بیمار از نمونه‌های پوست در ۲بیمار مختلف مبتلا به درماتوفیتوزیس با روش PCR، :5 ت.منتاگروفایتیس) بیمار شماره ٦، نوع ۱- نشان وزن مولکولی، - باند- 1:mx ت :10 (+C):.ت. م)بیمار شماره ۷ .(نوع ۲، - باند ۱۱ - - باند٦، DNA) کنترل منفی) استخراج: (-C)کنترل مثبت، نوع ۲، - باند ۱۲، (LM101(PCR کنترل منفی: - (xc)باند ۱۳

توصیف انواع، براساس روش دکتر جکسون[۹] انجام شد. بدین ترتیب که نوع ۱ بیان کننده یک باند منفرد به اندازهbp ٤۳٤ و نوع ۲ به اندازه bp ۲۰۰ بزرگ تر یعنیbp ٦۳٤ می‌باشد و نوع ۳، تولید باندی به اندازهbp ۸۳٤ می‌نماید. همچنین، ایزوله ترایکوفایتون منتاگروفایتیس نوع ۲ که به عنوان کنترل مثبت DNA در تست‌ها استفاده شد، اهدایی دکتر سی جکسون بوده است.

نتایج متمایزسازی استرین‌های چندگانه ترایکوفایتون منتاگروفایتیس در بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس با استفاده از روش RAPD در جدول شماره ۱ آورده شده است. ۲۰ بیمار دارای عفونت همزمان با بیشتر از یک استرین از ترایکوفایتون منتاگروفایتیس بودند. نمونه هایی از این تمایزسازی و باندهای تشکیل شده یکسان یاهموژن و نامتجانس یاهتروژن در اشکال مشاهده می‌شود.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-04-20]

جدول شماره ۱- تمایز استرین‌های ترایکوفایتون منتاگروفایتیس در نمونه ضایعات پوست مبتلا به درماتوفیتوزیس

تاپ (تعداد کلنی)	جنس سن (سال)	مدت زمان تخمینی عفونت	شماره بیمار
۱(۳)و۲(۱)و۱۲(۱)	مرد-۵۰	یکسال	۱
۱(۳)و۲(۲)	مرد-۴۲	ناشناخته	۲
۱(۲)و۲(۳)	زن-۳۳	کمتر از ۱ سال	۳
۲(٤)و۱(۱)	مرد-۶۱	ناشناخته	٤
۱(۳)و۲(۲)	زن-۴۷	بیشتر از ۱ سال	۵
٤(۳)و۲(۲)	مرد-۳۶	کمتر از ۱ سال	۶
۳(٤)و٤(۱)	زن-۶۷	کمتر از ۱ سال	۷
۲(٤)و۳(۱)	زن-۳۵	کمتر از ۱ سال	۸
۲(۱)و۳(۱)و۱۲(۳)	مرد-٤٤	ناشناخته	۹
۲(۳)و۳(۲)	زن-۵۲	بیشتر از ۱ سال	۱۰
٤(۲)و۳(۳)	مرد-۲۵	کمتر از ۱ سال	۱۱
۱(٤)و۳(۱)	زن-۲۹	کمتر از ۱ سال	۱۲
۲(۲)و۳(۳)	زن-۳٤	ناشناخته	۱۳
۱(٤)و۲(۱)	مرد-۳۸	کمتر از ۱ سال	۱٤
۳(۲)و٤(۳)	زن-٤۳	بیشتر از ۱ سال	۱۵
۱(۲)و۲(۳)	مرد-٤۵	کمتر از ۱ سال	۱۶
۱(۳)و۲(۲)	زن-۵۱	کمتر از ۱ سال	۱۷
٤(۱)و۱(٤)	مرد-۲۸	کمتر از ۱ سال	۱۸
۲(۳)و۱(۲)	زن-۱۹	ناشناخته	۱۹
۲(٤)و۱۲(۱)	مرد-۲۶	کمتر از ۱ سال	۲۰

بحث

این تحقیق نشان داد که بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس ممکن است در یک زمان مبتلا به چند استرین از یک واریته ترایکوفایتون منتاگروفایتیس باشند. این مطلب شاید توضیحی برای عدم درمان کامل این عفونت‌ها یا درمان طولانی مدت ضایعات درماتوفیتی و مزمن بودن طولانی مدت این بیماری‌ها باشد.

تاکنون چنین تصور می‌شد که عامل درماتوفیتی تنها یک استرین است و دارو جهت درمان بیماری تجویز می‌شد، در حالی که ممکن است استرین‌های مختلف این عامل قارچی، پاسخ‌های مختلفی به درمان دارویی بدهند واز درجه حساسیت متفاوتی برخوردار باشند .

با پیشرفت تکنولوژی امروزه کاربردهایPCR بیشتر شده است که از جمله آن استفاده از روشRAPD در مطالعه حاضر می‌باشد. به عنوان مثال، اکنون می‌توانیم تعیین کنیم که عود (Relapse) بیماری بعد از یک درمان موفقیت‌آمیز به علت (Reinfection) یعنی تکرار بیماری به علت یک استرین جدید است یا در اثر Recrudescence است، یعنی تکرار عفونت در اثر یا به علت همان استرین قبلی می‌باشد.

یکی از مهم‌ترین تحقیقات اپیدمیولوژی که انجام شدن آن ضروری به نظر می‌رسد این مطلب است که آیا عفونت‌ها در اثر یک استرین یکسان به وجود آمده‌اند یا در اثر چند استرین مختلف؟ این پژوهش جهت مطالعات آتی بسیار با اهمیت به نظر می‌رسد. متمایز کردن استرین های قارچی از طریق روش‌های مولکولی در مورد درماتوفیت‌های انسانی تنها توسط یکی از محققان گزارش شده است.[۱۰] از جمله در مورد ترایکوفایتون منتاگروفایتیس[۸] یا ترایکوفایتون روبروم یکی ازمحققان تنها تمایز بسیار ناچیزی را در بین استرین‌های مختلف گزارش نمود و نتیجه‌گیری کرد که ترایکوفایتون روبروم نشان‌دهنده یک گونه کلونال است(Clonal species).

کاک و همکاران در سال ۱۹۹۹، مطالعه‌هایی را در زمینه مقایسه ترایکوفایتون روبروم و ترایکوفایتون منتاگروفایتیس انجام دادند[۱۱]و با استفاده از روش مولکولی تکثیر شناسایی مناطق تغییر یافته و پرایمر اتفاقی یا روش DNA-(Random amplified polymorphic RAPD) دریافتند که از نظر مولکولی ۲ ایزوله ترایکوفایتون منتاگروفایتیس جدا شده از ۲ بیمار مبتلا تفاوتی با هم نداشته‌اند. در حالی که نکته قابل توجه این بود که ۲ ایزوله جمع‌آوری شده از این بیماران که در یک مکان نیز زندگی می‌کردند،از نظر ظاهری با هم تفاوت داشتند.

هر چند که مقایسه این مطالعه با مطالعه دکتر کاک و همکاران مشکل به نظر می‌رسد، اما می‌توان چنین پیشنهاد کرد که شاید استرین‌های عفونت‌های مربوط به ترایکوفایتون منتاگروفایتیس نسبت به ترایکوفایتون روبروم از نزدیکی (Less heterogeneity) بیشتری برخوردار باشند.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-04-20]

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که مطالعه طرح احتمال چند استرین بودن گونه‌های مربوط به درماتوفیت‌ها (Multiple Strains) و عوامل دیگر عفونت‌های قارچی در مطالعات آینده ضروری باشد. توزیع و پراکندگی انواع به دست آمده از این آزمایش ونمونه‌های جمع آوری شده شباهت زیادی با مطالعات وسیع‌تر قبلی در منطقه انگلستان داشت.[۹] از آن جا که ما هنوز از دستیابی به یک درمان سریع و مطمئن جهت عفونت‌های حاد اونیکومایکوزیس حتی پس از ماه‌ها درمان به دور هستیم، این روش، قادر است که به بسیاری از سئوالات مربوط به عدم موفقیت و نیز عود بیماری در درمان پس از درمان کامل (Relapse) پاسخ دهد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله نویسندگان مقاله از مساعدت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران جهت انجام این پروژه تحقیقاتی کمال تشکر را دارند و نیز از همکاران محترم در دانشکده پیراپزشکی و مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی و نیز دکتر سی جکسون به خاطر اهدای نمونه کنترل مثبت DNA از دانشگاه ابردین سپاسگزاری می‌نمایند.

فهرست منابع

1- Rippon JW. Medical mycology. 3rd ed.Philadelphia: Saunders; 1988.p.169-275.

2- Evans, EGV. Causative pathogens in onychomycosis and the possibility of treatment resistance; A review. JAAD 1988; 39(5) Part 3: S32.

3- Graham-Brown R. Burns T. Lecture notes on dermatology. 1st ed. Oxford: Black well scientific publications; 1990.p. 25.

4- Roberts DT, Evans EGV. Subfungal dermatophytoma complicating dermatophyte onychomycosis. British assocition of dermatologists.BJD 1998; 138: 189-203

5- Evans EGV, Richardson MD. Medical mycology, a practical approach. 1st ed. Oxford: IRL Press; 1989. p. 68-71.

6- Liu D, Coloe S, Pedersen J, Baird R. Use of arbitrarily primed PCR to differentiate trichophyton dermatophytes FEMS. Microbiol Lett 1996; 116(2): 147-50.

7- Soll DR. The ins and outs of DNA finger printing the infectious fungi. Clin Microbiol Rev 2000; 13(2): 332-70.

8- Bistis GN. Pleomorphism in the dermatophytes. Mycologia 1959; 51(1): 440–52.

9- Jackson CJ, Barton RC, Evans EGV. Species identification & strain differentiation of dermatophyte fungi by analysis of ribosomal-DNA spacer regions. JCM 1999; 37(4): 931-6.

10- Moor D , Novak Farzer LA. Why study the genom of fungi ? In: Essential fungal Genetics.. Moor D, editors. New York : 2002,.p.1-25

11- Kac G, Boughoux ME, Feuilhade De,Chauvin M, Sene S, Derouin F. Genetic diversity among T. Mentagrophytes isolates using random amplified polymorphic DNA method. BJD 1999; 140(5): 839-44.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-04-20]

Molecular Strain Typing of Trichophyton mentagrophytes Isolated from Patients with Dermatophytosis by Random Amplified Polymorphic DNA

***S.A. Yazdanparast, PhD[I] H. Rahimi, MSc[II]**
M. Farnoodian, MSc[III]

Abstract

Background and Aim: Dermatophytes are the group of keratinophilic fungi that can cause diseases and infection in skin and other keratinized parts such as nail and hairs. The most important genus among keratinophilic fungi is Trichophyton which can be the most probable cause of tinea pedis in the world. There are 24 recognized species of this genus. Additionally, molecular strain typing of Trichophyton mentagrophytes isolates within skin specimens from patients with dermatophytosis indicates involvement of multiple strains. The aim of this study was the determination of strains of Trichophyton mentagrophytes in order to prevent the dissemination of infection,which is very important epidemiologically.

Materials and Methods: The study was of descriptive – analytic type. Skin specimens from 100 patients who had dermatophytosis by Trichophyton mentagrophytes were cultured and plates which had 5 colonies were selected. Deoxyribonucleic acid (DNA) was extracted from the isolates. According to PCR-based typing method that analysed variations in the numbers of repeats in the non-transcribed spacer(NTS) region of the ribosomal ribonucleic acid(rRNA) gene repeats, data were described. All the results were analyzed by (± SD) , Chi –square and t-student tests.

Results: In 20 out of 100 specimens of Trichophyton mentagrophytes , there were 2 or more strain types in a variety of Trichophyton mentagrophytes.

Conclusion: These results suggest that in the most cases of fungal infections caused by Trichophyton mentagrophytes, multiple strains are involved. These results have important implications in epidemiological studies,treatment and drug resistance in fungal infection.

Key Words: 1) Trichophyton mentagrophytes 2) Dermatophytosis
3) Molecular strain typing 4) Random amplified polymorphic DNA

This study has been conducted under the financial support of Iran University of Medical Sciences and Health Services.
I) *Associate Professor of Mycology, Department of Mycology, Faculty of Paramedical Sciences, Crossing of Shaheed Hemmat and Chamran Expressways,Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran , Iran (* Corresponding Author)*
II)*PhD student in Medical Biotechnology, Department of Medical Biotechnology, Biotechnology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran*
III) *MSc in Mycology, Department of Mycology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran , Iran*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-04-20]