بررسی پلی‌مورفیسم ژنومی تریکوفیتون روبروم (Trichophyton rubrum) جداشده از منابع بالینی کراتینیزه با روش RAPD_PCR

کیومرث امینی[۱]، شیما چهرئی*[۲]، پریسا مالک‌آبادی[۲]

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

۲) گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱/۱ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۱۰/۱۷

چکیده

مقدمه: درماتوفیتوزیس عارضهٔ قارچی بافت‌های کراتینیزه پوست، مو و ناخن است که درنتیجهٔ استقرار درماتوفیت در نسوج روی می‌دهد. اقدام به تایپینگ و افتراق زیرگونه‌ها و مطالعهٔ ارتباط احتمالی گونه‌های خاص با اشکال بالینی جدایه تریکوفیتون، با استفاده از روش RAPD-PCR، با کمک پرایمرهای تصادفی است که ابزار سودمندی برای تیپ‌بندی و تمایز گونه‌های قارچی به‌شمار می‌رود. هدف از این پژوهش، بررسی پلی‌مورفیسم ژنومی تریکوفیتون روبروم جداشده از منابع کراتینیزه با روش RAPD_PCR است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۶۰ نمونه درماتوفیتوزیس از بیماران پوستی در سنین ۱۲ تا ۴۵ سال، از بیمارستان خاتم‌الانبیا استان تهران و بیمارستان قدس استان مرکزی جداسازی شدند. نمونه‌ها در محیط سابورو دکستروز آگار یا محیط میکروبیوتیک آگار تلقیح گردیدند. درمجموع، ۳۰ نمونه مثبت (+) به‌دست آمد. برای استخراج DNA تریکوفیتون روبروم، از کیت اختصاصی استفاده شد. آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی صورت گرفت و از روشRAPD_ PCR برای بررسی ژنومی آن‌ها استفاده گردید. بررسی پلی‌مورفیسم ژنوم، شاخص ژنتیکی ارزشمندی در ارزیابی ساختار ژنوم تریکوفیتون روبروم است.

یافته‌های پژوهش: از غربالگری نمونه‌های بالینی آزمایشگاه که بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک، میکروسکوپی و تست‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند، درمجموع ۳۰ جدایه تریکوفیتون روبروم جدا گردید. این سویه‌ها در ۹ گروه مجزا دسته‌بندی شد که هرکدام از سویه‌ها صفات فنوتیپی و ژنوتیپی مشترک دارند. در میان کلاسترهای مشخص‌شده، بیشترین فراوانی مربوط به کلاستر ۹ است که ۱۲ ایزوله با ویژگی‌های خویشاوندی مشترک را در برمی‌گیرد.

بحث و نتیجه‌گیری: بررسی پلی‌مورفیسم ژنومی تریکوفیتون روبروم جداشده از نمونه‌های درماتوفیتی افراد مبتلا به درماتوفیتوزیس در منطقهٔ جغرافیایی تهران، با تکنیک RAPD_ PCR، به‌وسیلهٔ پرایمر اختصاصی پرداخته شد که در این مطالعه، بعد مسافت و متغیر گروه سنی تأثیر بسزایی داشتند. تنوع ژنتیکی می‌تواند در انتقال و بیماری‌زایی تریکوفیتون روبروم نقش ویژه‌ای داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: تریکوفیتون روبروم، درماتوفیتوزیس، پلی‌مورفیسم ژنومی، RAPD_ PCR

* نویسنده مسئول: گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک، اراک، ایران

Email: Sh-chehreii@iau-arak.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

مقدمه

درماتوفیت‌ها قارچ های رشته‌ای هستند که می‌توانند انواع گوناگونی از درماتوفیتوزیس را در حیوانات و انسان‌ها، با انتقال احتمالی حیوانات به وجود بیاورند. محیطی که در اثر یک درماتوفیت در معرض عفونت قرار می‌گیرد، به انتشار آنزیم‌های ویژه‌ای نیاز دارد که اجازهٔ نفوذ در بافت میزبان را به‌دست آورد. درماتوفیتوزیس عارضهٔ قارچی بافت‌های کراتینیزه پوست، مو و ناخن است که درنتیجهٔ جایگزین شدن درماتوفیت‌ها در این نسوج روی می‌دهد. درماتوفیت‌ها دسته‌ای از قارچ‌های کراتینوفیلیک هستند که از نظر ویژگی‌های ساختمانی، شباهت بسیاری به یکدیگر دارند. تاکنون بیش از ۴۰ گونه درماتوفیت شناخته شده که درمجموع، در سه جنس میکروسپوروم، تریکوفیتون و اپیدرموفیتون هستند (۱).

تریکوفیتون روبروم شایع‌ترین گونه‌های عامل درماتوفیتوزیس در سراسر جهان است و شناسایی این دو موضوع از دیدگاه همه‌گیرشناسی و بیماری‌زایی مهم است. تریکوفیتون روبروم (Trichophyton rubrum) یک درماتوفیت انسان‌دوست با انتشار جهانی است که از عوامل مهم عفونت‌های انسان به‌شمار می‌رود و به‌ندرت از عفونت‌های حیوان جداشده است؛ اما تابه‌حال گزارشی از جداسازی آن از خاک نیست. تریکوفیتون روبروم عامل کچلی‌های بدن و به‌طور فراوان، عامل کچلی پا و ناخن است (۲).

تریکوفیتون روبروم، با فراوانی حدود ۴۰ درصد، عامل عفونت‌های بافت کراتینیزهٔ ناخن و رایج‌ترین عامل گرانولوماتوز ندولر قارچی جلدی و زیرجلدی است که معمولاً عامل عفونت‌های بافتی محدود به اپیدرم سطحی است. مطالعات محدودی به‌منظور شناسایی توالی DNA موردنیاز برای گروه مهم از عوامل بیماری‌زا، برای تشخیص مؤثر و به‌صرفه، درمان و ساخت واکسن صورت گرفته است که تا به امروز، ۴۳ توالی ژنی کدگذاری منحصربه‌فرد از گونهٔ تریکوفیتون روبروم با پنج کروموزوم شناسایی‌شده است (۳).

استفاده از نشانگرهای اختصاصی که چندشکلی را در سطح DNA آشکار می‌کنند، می‌تواند به‌عنوان روش‌های مکمل، اقسام مورفولوژیکی و روابط ژنتیکی بین‌گونه‌ای را تعیین کنند (۴). امروزه، از روش RAPD_ PCR به‌عنوان ابزار سودمندی در تیپ بندی و تمایز گونه‌های میکروبی ازجمله قارچها استفاده می‌گردد. درنهایت، برای تأیید ایزوله‌های تریکوفیتون روبروم جداسازی و شناسایی‌شده با روش‌های روتین آزمایشگاهی، از روش مولکولی اختصاصی PCR مبتنی بر آغازگرهای اختصاصی پلی‌مورفیسم ژنومی کدگذاری شده در DNA گونهٔ تریکوفیتون روبروم پرداخته شد که مشاهدهٔ قطعهٔ ژنومی ۱۱۰۰، بیانگر تأیید گونهٔ تریکوفیتون روبروم (Trichophyton rubrum) است (۵).

در روشRAPD ، قطعات بسیاری از ژنوم (۱ تا ۲۰ لوکوس و یا حتی بیشتر) به‌طور تصادفی تکثیر می‌شوند. حضور داشتن یا نداشتن این قطعات یا باندها، معیاری برای پلی‌مورفیسم (چندشکلی) در میان افراد مختلف متفاوت است. قطعات تکثیرشده به‌وسیلهٔ پرایمر RAPD را می‌توان نمایندهٔ همهٔ ژنوم در نظر گرفت. ویلیامز عنوان کرد قطعات تکثیر یافته در RAPD ، حاوی ترادف‌های متعلق به کلاس‌های گوناگون ژنوم (ترادف‌های تک کپی، تکرار متوسط و تکرار بالا) هستند (۷، ۶).

از نشانگرهای RAPD می‌توان برای شناسایی تاکسون‌های گوناگون، در سطح جمعیت تا جنس استفاده کرد. این نشانگر تنوع بالایی را در میان و داخل گونه‌ها نشان می‌دهد؛ بنابراین، برای آنالیزهای فیلوژنی و تعیین قرابت بسیار مناسب است. برای هر تاکسون باید تعداد فراوان و کافی از ژنوتیپ‌ها را بررسی کرد تا مطمئن شد که یک نشانگر در همهٔ ژنوتیپ‌ها وجود دارد و ناشی از فراوانی آللی نیست. از سویی، به علت اینکه این نشانگرها در رنج تاکسونومیکی محدودی قابل‌استفاده هستند، استفاده از آن‌ها در فیلوژنی محدود است (۸، ۶). در این پژوهش، برای بررسی تایپینگ و افتراق زیرگونه‌ها و مطالعهٔ ارتباط احتمالی استرین‌های خاص تریکوفیتون روبروم (Trichophyton rubrum) با اشکال بالینی متفاوت، از روش RAPD-PCR با کمک آغازگرهای تصادفی استفاده شد که هدف از آن، بررسی تنوع ژنومی ایزوله‌های تریکوفیتون روبروم جداشده از منابع بالینی با روش RAPD_ PCR است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

مواد و روش‌ها

تهیه سویه: سویه های کشت داده شده از آزمایشگاه های خصوصی در تهران و اراک به صورت آماده بر روی محیط کشت اختصاصی اخذ گردید. از لحاظ تفکیک نمونه، ۱۵ نمونهٔ اول از استان مرکزی و ۱۵ نمونهٔ دوم از استان تهران بود. دامنهٔ سنی ذکر شده نمونه‌های استان مرکزی در محدودهٔ ۳۸-۲۸ سالگی و دامنهٔ سنی نمونه‌های تهران در محدودهٔ ۴۲-۲۵ سالگی گزارش شد

انجام تست های تاییدی تریکوفیتون روبروم: سو یه‌های اخذ شده از آزمایشگاهها جهت تایید بر روی محیط سابورودکستروز آگار محتوی کلرامفنیکل و سیکلوهگزامید، طبق دستورالعمل کشت داده شد. از هر دو روش کشت و روش لام مستقیم استفاده گردید. نمونه‌ها به‌دقت در پلیت تلقیح‌شده و در دمای ^{c}۲۵°، برای ۴ هفته انکوبه شدند. قارچ‌های جداشده بر روی محیط کشت سابوروی جدید و محیط کورن میل آگار، برای کونیدی‌زایی، مجدد کشت شدند. برای تشخیص، از هیدرولیز اوره و تست سوراخ کردن مو و ایجاد پیگمان بر روی محیط کورن میل آگار استفاده گردید (۱۰). برای بررسی شکل کلنی و مورفولوژیکی ماکروسکوپی، در محیط سابورو دکستروز آگار SDA و محیط افتراقی و مغذی، سابورو دکستروز آگار حاوی عصارهٔ برنج و همچنین محیط اختصاصی، سابورو دکستروز آگار با سیکلوهگزامید و کلرامفنیکل (SCC) به‌صورت نشا کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح‌شده را در $^{\circ}$۲۵، برای ۴ هفته انکوبه کرده و هر هفته، رشد درماتوفیت بررسی گردید (۱۰).

استخراج DNA با کیت ستونی استخراج ژنوم اختصاصی قارچ: به‌منظور استخراج DNA قارچ، از کیت استخراج DNA اختصاصی آن استفاده شد. با این کیت، استخراج به روش ستونی (mini column) انجام گردید. برای انجام واکنش PCR، به استخراج یا تخلیص DNA نیاز است که درواقع، PCR برای تکثیر یک ناحیهٔ ژنتیکی مشخص در عامل بیولوژیک خاص، توسط پرایمر اختصاصی شناسایی شد.

نحوهٔ استخراج DNA قارچ ها: برای استخراج DNA، از پرگنه‌های ۵ روز کشت داده‌شده استفاده گردید که بر روی محیط کشت (Potato dextrose agar) PDA کشت داده شدند.

الکتروفورز DNA استخراجی: پس از پایان مراحل استخراج، برای اطمینان از وجود DNA و میزان خلوص آن، DNA استخراجی در ژل آگاروز ۱ درصد، به مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز شد و سپس باندهای حاصل، پس از رنگ‌آمیزی، در زیر نور ماوراءبنفش مشاهده گردیدند (۱۱).

کنترل کیفیت با دستگاه نانودراپ: برای کنترل کیفیت DNA ای که توسط کیت سیناژن استخراج شد، با استفاده از دستگاه نانودراپ ساخت کشور آلمان، جذب نوری DNA بررسی گشت. این روش کمی است و می‌توان غلظت DNA را با استفاده از جذب نوری در طول موج ۲۶۰ nm محاسبه کرد. جذب برای یک OD در ۲۶۰ nm، نشان‌دهندهٔ حضور ۵۰ gμ در میلی‌لیتر DNAدورشته‌ای در محلول است. با استفاده از این روش می‌توان مقدار ناخالصی ناشی از وجود پروتئین را در محلول DNA تشخیص داد. برای این منظور، جذب را بایستی یک‌بار در طول موج ۲۶۰ nm و بار دیگر در طول موج ۲۸۰ nm اندازه گرفت (۱۲).

کنترل کیفیت با الکتروفورز: برای کنترل کیفیت DNA استخراج‌شده، از تکنیک الکتروفورز استفاده شد. در این روش، ابتدا ژل ساخته و پس از راه‌اندازی دستگاه الکتروفورز، نمونه‌های DNA درون چاهک‌ها ریخته و سپس جداسازی انجام شد. درنهایت، نمونه‌ها رنگ‌آمیزی گشته و در دستگاه ژل داک، بررسی و عکس‌برداری شدند (۱۳).

آماده‌سازی پرایمرها: پس از مطالعه و جستجو در مقالات گوناگون، پرایمرهای مناسب برای ژن‌های sub4، sub7 انتخاب شدند. پرایمرها در سایت (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) مقایسه و بلاست گردیدند و به شرکت ماکروژن سفارش داده شدند. در جدول شمارهٔ ۱، توالی پرایمر و طول قطعهٔ تکثیری نشان داده‌شده است (۱۴).

پرایمر به‌کاررفته در این پژوهش: پرایمر قطعهٔ کوتاهی از اسید نوکلئیک است که این قطعه، مکمل یک قطعهٔ تک‌رشته‌ای در پلی نوکلئوتید DNA الگو است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

انجام یک PCR موفقیت‌آمیز، به انتخاب پرایمر مورداستفاده بستگی دارد. ضمن آنکه پرایمرها کاملاً اختصاصی هستند و از طول نسبتاً مناسبی برخوردارند. برای طراحی پرایمر لازم است توالی دو انتهای قطعه‌ای که بایستی تکثیر گردد، مشخص شود. پرایمر مدنظر برای انجام این آزمایش، در ایزولهٔ تریکوفیتون روبروم جدول شمارهٔ ۱ نشان داده‌شده است (۱۵).

جدول شمارهٔ ۱. توالی‌های نوکلئوتیدی پرایمر برای شناسایی در ایزوله‌های تریکوفیتون روبروم (۱۶، ۱۵)

پرایمر	توالی ۵′ →۳′	اندازه پرایمر (bp)
sub4	F 5′-ACCCTCCTATCCTTTACATTCCC R 5′-CATTTCGCTGTTCTTGTGGC	۱۴۰
sub7	F 5′-TGGGTGCCTGTTGGTTGA R 5′-TGACTGGTGAAGAGGGAAGAA	۱۵۱

پس از آماده شدن نمونه، مخلوط حاصل در حجم نهایی ۲۵ µl، به دستگاه ترموسایکلر (آلمان، Gradient Masterrcycler Eppendorf) انتقال یافت. برنامهٔ تنظیم درجه حرارت و زمان برای انجام مراحل PCR تریکوفیتون روبروم، با استفاده از پرایمرهای جلودار و برگشتی بر اساس جدول شمارهٔ (۱) انجام شد (۱۷).

جدول شمارهٔ ۲. برنامهٔ تنظیم درجه حرارت و زمان برای انجام مراحل PCR

مرحله	دما (درجه سیلسیوس)	زمان (ثانیه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۴	۳۰۰	۱
واسرشت	۹۴	۳۰	–
اتصال	۳۷	۳۰	–
بازآرایی (گسترش)	۷۲	۹۰	۳۴
بازآرایی نهایی	۷۲	۶۰۰	–

RAPD –PCR: به‌منظور بهینه‌سازی شرایط RAPD، غلظت واکنش‌گر برای حجم ۵۰ میکرولیتر، شامل ۲۰ نانوگرم از DNA ژنومی،۶۰ نانوگرم از آغازگر، dNTP با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، MgCl2 با غلظت ۵۰ میلی‌مولار، ۵ میکرولیتر از بافر PCR ۱۰X، ۳۷/۵ میکرولیتر از آب مقطر دوبار تقطیر استریل و ۵ واحد بر میکرولیتر آنزیم پلی‌مراز Taq DNA در داخل تیوب اپندورف ۱۰۰ µl آماده شد و پس از آماده‌سازی پرایمرهای RAPD، برنامهٔ لازم برای انجام PCR در دستگاه ترموسایکلر MAXI-GENE از شرکت استوارت سایتیفیک انگلستان تنظیم گردید.

در این برنامه، یک چرخه برای تک‌رشته‌ای شدن کلی DNA اولیه، به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه انجام شد؛ سپس ۳۴ چرخه شامل مراحل مربوط به اتصال پرایمر به مدت ۹۰ ثانیه صورت گرفت که دمای اتصال برای هر پرایمر در جدول شمارهٔ ۳ مشخص‌شده است. سنتز DNA به مدت ۹۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه، تک‌رشته‌ای شدن DNA های ساخته‌شده به مدت ۹۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه و یک دور برای تکمیل اتصال پرایمر و تکمیل ساخت DNA به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه بر روی دستگاه ترموسایکلر تنظیم گردید (جدول شمارهٔ ۲).

RAPD برای هر یک از ۱۲ پرایمر انجام گرفت که توالی آن‌ها در جدول شمارهٔ ۱ آمده است و پس از پایان PCR، همهٔ محصولات PCR همراه با نشانگرهای مولکولی DNA ، بر روی ژل آگارز ۲ درصد در شرایط کاملاً یکسان الکتروفورز گردید. از ژل‌ها پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید و رنگ‌زدایی ژل با آب مقطر، در زیر نور ماوراءبنفش UV توسط دوربین پلوراید عکس‌برداری شد (۱۸).

تجزیه‌وتحلیل آماری: برای تجزیه‌وتحلیل آماری محصولات RAPD، از میزان حرکت نوارها استفاده و جدول ماتریس صفر و یک رسم گردید. با استفاده از جدول ماتریس صفر و یک تجزیهٔ خوشه‌ای با برنامهٔ SPSS، به روش UPGMA و بر اساس الگوی چندشکلی DNA محصولات RAPD به‌طور جداگانه

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

برای هر آغازگر و نیز حالت ترکیبی آن‌ها انجام گرفت و دوری و نزدیکی سویه‌ها بررسی شد (۷).

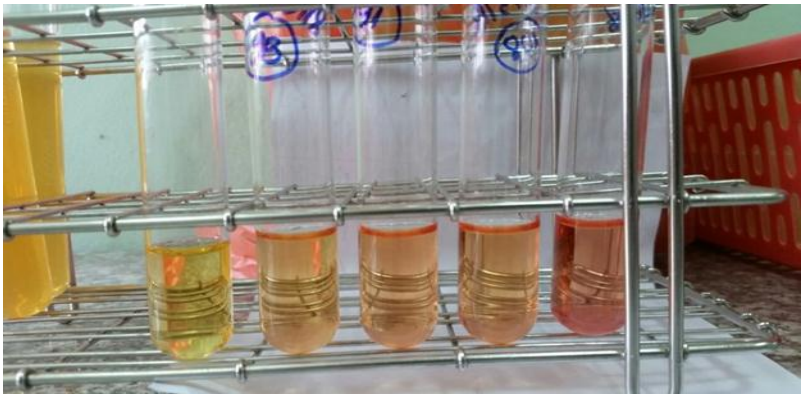
پس از تهیهٔ تصاویر ژل با استفاده از دستگاه Gel documentation و اسکن تصاویر آن‌ها، الگوی باندی همهٔ جمعیت‌ها، برای هر پرایمر به‌صورت جداگانه رسم گردید؛ بدین ترتیب که در هر جمعیت در صورت حضور باند، امتیاز یک و در صورت حضور نداشتن باند، امتیاز صفر داده شد و ماتریس صفر و یک تشکیل گردید. پس از تشکیل ماتریس صفر و یک در نرم‌افزار Excel، داده به نرم‌افزار genAlex vol.6.4 و PoPGene vol.1.32 منتقل شد و تجزیهٔ خوشه‌ای به روش WARD به‌دست آمد (۱۹).

یافته‌های پژوهش

نتایج جداسازی نمونه‌های بالینی قارچی: نمونه‌های بالینی گرفته‌شده از بیماران مبتلا به درماتوفیتوزیس در دو استان تهران و مرکزی به آزمایشگاه منتقل شدند و بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک، میکروسکوپی و تست‌های بیوشیمیایی (جدول شمارهٔ ۳) غربالگری گردیدند (شکل شمارهٔ ۱) که درمجموع، از ۳۰ جدایهٔ تریکوفیتون روبروم، ۱۵ ایزوله مربوط به استان تهران و ۱۵ ایزوله مربوط به استان مرکزی بودند.

جدول شمارهٔ ۳. بررسی نتایج تست‌های بیوشیمیایی جدایه‌های Trichophyton rubrum

قارچ	رشد کلنی نسبتاً کند	پشت کلنی قرمز یاقوتی‌رنگ	تست اوره	کلنی دانه‌ای تعداد فراوان میکرو و ماکرو کونیدی	تست سوراخ کردن مو
تریکوفیتون روبروم	+	+	−	+	+



شکل شمارهٔ ۱. تست اوره آز در Trichophyton rubrum

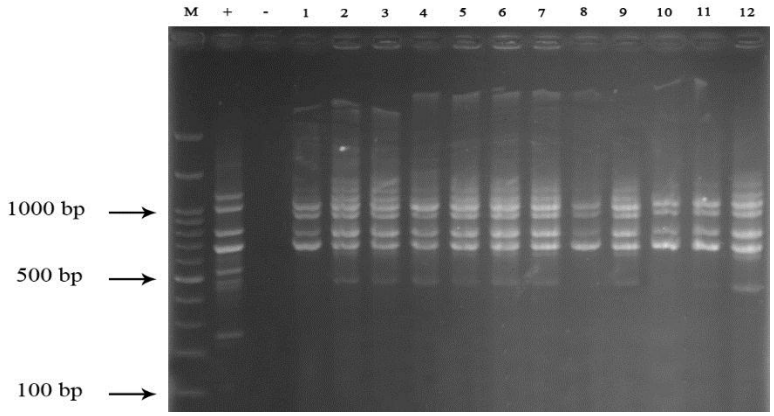
داده‌های باینری به‌دست‌آمده از ژل الکتروفورزیس: باندها و الگوهای به‌دست‌آمده از انگشت‌نگاری مولکولی واکنش‌های RAPD-PCR، در ابتدا با چشم و به‌صورت بصری تحلیل شدند. با تهیهٔ جدول برنامه (Notepad)، وجود باند با یک سایز مشخص از ۵۰ تا ۳۰۰۰ کیلو باز با عدد ۱ و وجود نداشتن باند با عدد صفر مشخص گردید؛ سپس این اعداد در جداول برنامهٔ Notepad قرار گرفت و توسط برنامهٔ نرم‌افزاری NTSYS vol.12 بر اساس شباهت دندوگرام تهیه شد. برای تجزیه‌وتحلیل آماری محصولات RAPD، از میزان حرکت نسبی نوارها استفاده گردید. میزان حرکت هر یک از نوارها با دقت ۱/۲۰ میلی‌متر سنجیده شد. بر اساس وجود داشتن یا نداشتن هر نوار از محصولات PCR، به ترتیب عدد یک یا صفر به آن نسبت داده و به این ترتیب، جدول ماتریس صفر و یک رسم شد. بر اساس ماتریس صفر و یک تعداد کل الگوهای چندشکلی DNA محصولات RAPD حاصل از آغازگر برای ۳۰ ایزوله تریکوفیتون روبروم، درمجموع تعدادی نوار به دست آمد. با استفاده از جدول ماتریس صفر و یک تجزیهٔ خوشه‌ای با برنامهٔ SPSS، به روش‌های گوناگون تجزیهٔ خوشه‌ای بر اساس الگوی چندشکلی DNA محصولات RAPD، به‌طور جداگانه برای هر آغازگر و نیز حالت ترکیبی آن‌ها انجام گرفت.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

بررسی‌ها نشان داد که روش UPGMA نتایج منطقی و مطمئن‌تری را به دست می‌دهد و بنابراین، بر اساس آن دوری و نزدیکی ژنتیکی سویه‌ها بررسی شد.

نتایج تأیید استخراج DNA: برای بررسی الگوی پلی‌مورفیسم ژنومی میان ۳۰ سویهٔ جداشدهٔ قارچ تریکوفیتون روبروم، ایزوله‌های قارچ در محیط کشت CSDA به مدت ۷ روز کشت شدند که در ادامه، محیط‌های کشت صاف گردیدند و برای استخراج DNA، به روش دلاپورتا، کیفیت و کمیت DNA استخراجی تعیین شد. بررسی‌ها نشان داد که DNA استخراجی نسبتاً خالص است و به پروتئیناز در جریان استخراج DNA نیازی ندارد.

نتایج آنالیز مولکولی: برای بهینه‌سازی شرایط RAPD، پارامترهای مؤثر بررسی شد و با توجه به آزمون‌های گوناگون، شرایط برای انجام واکنش در حجم‌های ۵۰ میکرولیتری بهینه‌سازی گردید؛ سپس واکنش‌گرهای RAPD، دما، زمان و برنامهٔ لازم برای انجام PCR در دستگاه ترموسایکلر تنظیم شد. پس از پایان واکنش، به‌منظور بررسی الگوی پلی‌مورفیسم DNA میان سویه‌ها، همهٔ محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروهید و رنگ‌زدایی از ژل با آب مقطر، در زیر نور ماوراءبنفش توسط دوربین پلوراید عکس‌برداری شد که تصاویر به‌دست‌آمده در ادامه قابل‌مشاهده است (تصویر شمارهٔ ۲).



شکل شمارهٔ ۲. الگوی باندی حاصل از RAPD_PCR سویه‌های ۱ تا ۱۲ تریکوفیتون روبروم، با استفاده از پرایمر RAPD بر روی ژل آگارز و رنگ‌آمیزی‌شده با اتیدیوم بروماید

آنالیز دندوگرام در روش RAPD-PCR: کلاستر یا رایانش خوشه‌ای از پردازش موازی و توزیع داده‌ها در کامپیوترهای مستقل دیده می‌شود. کلاسترها دو دستهٔ اصلی دارند که گروه اول با کارایی بالا و گروه دوم، کلاسترهایی با دسترسی بالا هستند. نتایج آزمایش در ۹ کلاستر به‌صورت زیر قابل‌مشاهده و بررسی است (جدول شمارهٔ ۴). (کلاستر ۱ تنها شامل نمونه‌های ۲۴، ۲۳، ۲۲، ۲۱) و (کلاستر ۲ شامل نمونه‌های ۲۰، ۱۹) و (کلاستر ۳ شامل نمونهٔ ۱۶) و (کلاستر ۴ شامل نمونهٔ ۱۴) و (کلاستر ۵ شامل نمونه‌های ۱۸، ۱۷) و (کلاستر ۶ شامل نمونه‌های ۳۰،۲۹، ۲۸،۲۶) و (کلاستر ۷ شامل نمونه‌های ۲۵، ۱۳) و (کلاستر ۸ شامل نمونه‌های ۲۷، ۱۵) و (کلاستر ۹ شامل نمونه‌های ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۸، ۶، ۵، ۴، ۹، ۳، ۲، ۱).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

جدول شمارهٔ ۴. مشخصات ایزوله‌های Trichophyton rubrum و گروه‌بندی آن‌ها بر اساس روش RAPD_PCR

شمارهٔ سویه	شمارهٔ کلاستر	شمارهٔ سویه	شمارهٔ کلاستر	شمارهٔ سویه	شمارهٔ کلاستر
۱	۹	۱۱	۹	۲۱	۱
۲	۹	۱۲	۹	۲۲	۱
۳	۹	۱۳	۷	۲۳	۱
۴	۹	۱۴	۴	۲۴	۱
۵	۹	۱۵	۸	۲۵	۷
۶	۹	۱۶	۳	۲۶	۶
۷	۹	۱۷	۵	۲۷	۸
۸	۹	۱۸	۵	۲۸	۶
۹	۹	۱۹	۲	۲۹	۶
۱۰	۹	۲۰	۲	۳۰	۶

در جدول شمارهٔ ۴، ۳۰ جدایه Trichophyton rubrum در ۹ گروه مجزا ملاحظه می‌شود که در هرکدام، تعدادی از سویه‌ها (با صفات فنوتیپی و ژنوتیپی مشترک) جای می‌گیرد و نشان‌دهندهٔ تنوع پلی‌مورفیسم ژنومی در میان زیرگونه‌های این قارچ‌هاست. در میان کلاسترهای مشخص‌شده، بیشترین فراوانی مربوط به کلاستر ۹ است که ۱۲ ایزوله با ویژگی‌های خویشاوندی مشترک را در بر می‌گیرد.

با بررسی نمونه‌های داخل کلاستر، ارتباط معناداری میان نمونه‌های استان مرکزی و تهران یافت نشد؛ زیرا در بعضی از کلاسترها همهٔ نمونه‌ها مربوط به تهران و در بعضی دیگر، همهٔ نمونه‌ها مربوط به مرکزی بود و در سایر کلاسترها، نسبت مشخصی میان نمونه‌های مرکزی و تهران یافت نشد؛ همچنین در این پژوهش، simpons diversity عدد ۰/۹۳۵۵۹۳۲۲ محاسبه گردید که نشان می‌دهد روش RAPD قدرت تمایز مناسبی داشته است.

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت‌های قارچی به‌عنوان مسئلهٔ مهم بهداشتی در دنیا مطرح هستند. بیماری‌های پوستی ناشی از قارچ‌ها در زمان حاضر، در جمعیت دنیا در حال افزایش است و بیش از ۲۵–۲۰ درصد جمعیت دنیا به آن مبتلا شده‌اند. درماتوفیتوزیس از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی است که درماتوفیت‌ها عامل آن هستند. انتقال بیماری به‌طور مستقیم و غیرمستقیم، با تماس با موها و پوسته‌های آلوده به عوامل درماتوفیتی صورت می‌گیرد (۱).

اختلاف‌ها در بعضی از ویژگی‌های فنوتیپی مانند ویژگی‌های ریخت‌شناسی شدت بیماری‌زایی، انواع توکسین‌های تولیدشده و فعالیت آن‌ها و سایر ویژگی‌هاست. ازآنجاکه صفات فنوتیپی در سطح مواد ژنتیکی و بازهای DNA رمزدهی می‌شوند، انتظار می‌رود که هرگونه تنوع در ویژگی‌های ظاهری میان دو موجود، در سطح DNA آن‌ها انعکاس یابد، به‌طوری‌که این اختلاف‌ها مستقیماً و با بررسی DNA آن‌ها، با روش‌های مناسب قابل‌پیشگیری است. برای بررسی تنوع در سطح DNA، روش‌های گوناگونی ارائه‌شده است که همه‌روزه بر تعدادشان افزوده می‌شود (۱). در پژوهش حاضر، ۳۰ جدایهٔ تریکوفیتون روبروم در ۹ گروه مجزا ملاحظه شده است که در هرکدام، تعدادی از سویه‌ها (با صفات فنوتیپی و ژنوتیپی مشترک) جای می‌گیرد و نشان‌دهندهٔ تنوع پلی‌مورفیسم ژنومی در میان زیرگونه‌های این قارچ‌هاست. در میان کلاسترهای مشخص‌شده، بیشترین فراوانی مربوط به کلاستر ۹ است که ۱۲ ایزوله با ویژگی‌های خویشاوندی مشترک را در بر می‌گیرد.

پژوهش‌های گوناگون، روش RAPD را روش مناسبی برای تشخیص گونه‌های قارچی معرفی کرده‌اند؛ اما امروزه، این روش برای تشخیص گونه با سایر روش‌های مولکولی اغلب با روش‌های مبتنی بر تعیین توالی نوکلئوتیدی یک یا چند ژن، کمتر انجام می‌شود. ازآنجاکه دربارهٔ توالی بازهای DNA تریکوفیتون روبروم اطلاعات بسیاری در دست نیست، این روش برای بررسی پلی‌مورفیسم DNA می‌تواند سودمند باشد. الگوی الکتروفورتیک حاصل از هضم اندونوکلئازی محصول‌های PCR با آنزیم EcoRII، شناسایی و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

افتراق درماتوفیت‌های بیماری‌زای شایع شامل Trichophyton rubrum را امکان‌پذیر کرد. در پژوهش حاضر، با استفاده از تکنیک RAPD PCR، به بررسی تنوع ژنومی تریکوفیتون روبروم پرداخته شد. ۳۰ جدایهٔ تریکوفیتون روبروم در ۹ گروه مجزا گروه بندی که در هرکدام تعدادی از سویه‌ها (با صفات فنوتیپی و ژنوتیپی مشترک) جای می‌گیرد و نشان‌دهندهٔ تنوع پلی مورفیسم ژنومی در میان زیرگونه‌های این قارچ‌هاست. در میان کلاسترهای مشخص‌شده، بیشترین فراوانی مربوط به کلاستر ۹ است که۱۲ ایزوله با ویژگی‌های خویشاوندی مشترک را در بر می‌گیرد.

یادگاری و همکاران هدف از مطالعهٔ خود را شناسایی جدایه‌های کاندیدایی جداشده از بیماران مبتلا به انواع گوناگون کاندیدیازیس در سطح گونه، به روش PCR-RFLP و بررسی تنوع ژنتیکی سویه‌های آلبیکنس، با استفاده از روش RAPD-PCR بیان کرده‌اند. برای این هدف، در طول ۲۷ ماه، به جمع‌آوری ۸۴۶ نمونه از نواحی آناتومیک گوناگون اقدام گردید. سویه‌های مخمری جداشده، با روش‌های فنوتیپیک مورد شناسایی اولیه قرار گرفت. برای افتراق زیرگونه‌ها و مطالعهٔ ارتباط احتمالی استرین‌های خاص با اشکال بالینی، به تایپینگ جدایه‌های آلبیکنس با استفاده از روش RAPD-PCR با کمک آغازگرهای تصادفی AP3 و OPA-18 اقدام شد و نتایج مربوط به هریک از نواحی آناتومیک به‌صورت مجزا تجزیه‌وتحلیل گردیدند. آزمایش RAPD نشان داد که می‌توان آن‌ها را در ۴ یا ۵ گروه ژنوتیپی تقسیم‌بندی کرد. سویه‌های جداشده از موارد کاندیدمی از ۲ ژنوتیپ و جدایه‌های ناخن و پوست و مخاط‌ها از ۳ یا ۴ ژنوتیپ تشکیل‌شده‌اند.

شکوهی‌فر و همکاران در پژوهشی، تنوع ژنتیکی جمعیت قارچ Aspergillus را در ایران بررسی کردند. بدین منظور، ۲۶ جدایه از ۱۶ استان کشور انتخاب و تنوع ژنومی آن‌ها را با استفاده از روش RAPD ارزیابی نمودند. با به‌کارگیری ۱۲ آغازگر تصادفی، الگوی باندی DNAجدایه‌ها تهیه شد و بر اساس این، تنوع ژنتیکی و فاصلهٔ ژنتیکی میان جدایه‌ها محاسبه و روابط خویشاوندی آن‌ها با استفاده از تجزیهٔ خوشه‌ای تعیین گردید. نتایج نشان داد که روش RAPD، ابزار نیرومندی برای تجزیهٔ ژنومی جمعیت Aspergillus rabiei است. بر اساس داده‌های به‌دست‌آمده، شاخص تنوع ژنتیکی جدایه‌ها ۹۸ درصد برآورد شد که نشان‌دهندهٔ تنوع ژنتیکی فراوان این پاتوژن در ایران است. فاصلهٔ ژنتیکی میان جفت جدایه‌ها از ۱۶/۰ تا ۶۱/۰ متغیر بود. بیشترین فاصلهٔ ژنتیکی میان جدایه‌های ۲۰ و ۲۲ (از استان‌های قزوین و گلستان) و کمترین فاصله میان جدایه‌های ۱۲ و ۲۶ (از استان‌های مرکزی و مازندران) دیده شد. در سطح شباهت ۹۰ درصد، همهٔ جدایه‌ها در ۲۲ گروه ژنوتیپی جداسازی و از حرف A تا V نام‌گذاری گردیدند (۲۱،۲۰).

هرینسویز و همکاران در سال ۲۰۱۲، از روش‌های اثر انگشت DNA برای شناسایی و کشف جدایه‌های بالینی Trichophyton rubrum استفاده کردند. ۵۷ جدایه از بیماران مبتلای فراوانی که شناسایی‌شده، با استفاده از تجزیه پلی‌مورفیسم طولی قطعهٔ پلیمراز (PCR-RFLP)و با استفاده از روشRAPD ، به‌طور تصادفی چندمنظوره تقویت‌شده با دو پرایمر ۱ و ۶ تعیین شدند. با استفاده از PCR-RFLP ، تعداد ۵۵ مورد جدایهٔ موردمطالعه تأیید گردید. در میان آن‌ها، درمجموع ۴۰ و ۵ پروفیل متمایز توسط RAPD با پرایمرهای ۱ و ۶ به دست آمد. ترکیب پروفیل‌ها از هر دو روشRAPD ، ۴۷ ژنوتیپ به دست آمد و میزان تنوع ژنوتیپ‌ها ۸۵/۴ درصد بود. تجزیه‌وتحلیل دندروگرام بر روی پروفیل‌های تولیدشده توسط RAPD با پرایمر ۱ نشان داد که بیشتر جدایه‌ها (۸۷/۳ درصد) به‌طور ژنتیکی با همدیگر مرتبط هستند (۲۳، ۲۲)؛ همچنین ۳۰ جدایهٔ تریکوفیتون روبروم در ۹ گروه مجزا ملاحظه می‌شود که در هرکدام، تعدادی از سویه‌ها (با صفات فنوتیپی و ژنوتیپی مشترک) جای می‌گیرد و نشان‌دهندهٔ تنوع پلی‌مورفیسم ژنومی در میان زیرگونه‌های این قارچ‌هاست. در میان کلاسترهای مشخص‌شده، بیشترین فراوانی مربوط به کلاستر ۹ است که ۱۲ ایزوله با ویژگی‌های خویشاوندی مشترک را در بر می‌گیرد.

علی‌پور و همکاران در سال ۱۳۹۰، حساسیت ضدقارچی آنتی‌بیوتیکی ۲۹ جدایه از سویه‌های T. mentagrophytes در برابر تربینافین را با روش رقیق‌سازی اصلاح آگار، برای تعیین حداقل غلظت

مهاری (MIC) ارزیابی کردند. ۲۱ جدایه حساس و ۸ جدایه مقاوم به تربینافین بود. جدایهٔ مقاوم با استفاده از ۴ آغازگر RAPD-PCR، با هدف نشان دادن حساسیت ژنتیکی و مقاومت به تربینوفین مواجه شدند. همهٔ تکثیرها نشان دادند که باندهای پلی‌مورفیک متمایز و درمجموع، ۳۴ موقعیت باند برای ۴ آغازگر آزمایش شدند و فاصلهٔ ژنتیکی میان هریک از جدایه‌ها محاسبه گردید و از تجزیهٔ خوشه‌ای برای تولید یک دندروگرام استفاده شد که نشان‌دهندهٔ روابط میان آن‌ها بود. دندروگرام ترکیبی با میانگین تقریبی ۶۵ درصد، همهٔ سویه‌ها را به گروه‌های مربوط به واکنش حساسیت به تربینافین طبقه‌بندی کرد. این مطالعه، اثربخشی استفاده از روش مولکولی RAPD را برای تکمیل تست‌های میکروسکوپی سنتی و آزمایش حساسیت دارویی، به‌منظور تشخیص دقیق درماتوفیتوزیس را دوباره نشان داد (۲۴). در مقایسه، ۳۰ جدایهٔ تریکوفیتون روبروم در ۹ گروه مجزا ملاحظه می‌شود که در هرکدام تعدادی از سویه‌ها (با صفات فنوتیپی و ژنوتیپی مشترک) جای می‌گیرد و نشان‌دهندهٔ تنوع پلی‌مورفیسم ژنومی در میان زیرگونه‌های این قارچ‌هاست. در میان کلاسترهای مشخص‌شده، بیشترین فراوانی مربوط به کلاستر ۹ است که۱۲ ایزوله با ویژگی‌های خویشاوندی مشترک را در بر می‌گیرد.

در نتیجه، پژوهش حاضر که به بررسی پلی‌مورفیسم ژنومی قارچ Trichophyton rubrum جداشده از نمونه‌های بالینی افراد مبتلا به درماتوفیتوزیس در بیمارستان‌های دو استان تهران و مرکزی، با تکنیک RAPD-PCR به‌وسیلهٔ پرایمر اختصاصی پرداخته شد، درمجموع، تعداد ۳۰ ایزولهٔ تریکوفیتون روبروم در ۹ گروه ژنومی قرار گرفت که هرکدام مربوط به یک منطقه و یک محدودهٔ سنی بود و این تنوع ژنتیکی ناشی از مسافت و طیف سنی گوناگون است. این تنوع ژنتیکی در انتقال و بیماری‌زایی این میکروارگانیسم نقش ویژه‌ای دارد؛ بنابراین، بررسی پلی‌مورفیسم ژنومی، شاخص ژنتیکی ارزشمندی در ارزیابی ساختار و بیماری‌زایی سویهٔ Trichophyton rubrum است و با توجه به سنجش متغیرهای اساسی، مطالعات ژنومی بیشتر، ضروری به نظر می‌رسد.

سپاس‌گزاری

این مقاله از پایان‌نامه کارشناسی ارشد با کد ۹۷۰۰۱۵۰۰۲۳۶ استخراج‌شده است. بدین‌وسیله از آقای مهندس مجید صادق‌پور و همهٔ عزیزانی قدردانی و تشکر می‌گردد که در انجام این فعالیت علمی راهنمایی سودمند و ارزنده داشتند.

References

1.Komoto TT, Bitencourt TA, Silva G, Beleboni RO, Marins M, Fachin AL. Gene expression response of Trichophyton rubrum during coculture on keratinocytes exposed to antifungal agents. J Evid Based Comple Alt Med2015;2015. doi.10.1155/2015/180535

2.Nakaune R, Hamamoto H, Imada J, Akutsu K, Hibi T. A novel ABC transporter gene and PMR5 is involved in multidrug resistance in the phytopathogenic fungus Penicillium digitatum. Mol Genet Genom 2002;267:179-85. doi.10.1007/s00438-002-0649-6

3.Mugge C, Haustein UF, Nenoff P. Causative agents of onychomycosis a retrospective study. J Dtsch Dermatol Ges 2006;4:218-28. doi.10.1111/j.1610-0387.2006.05877.x

4.Walker JE, Saraste M, Runswick MJ, Gay NJ. Distantly related sequences in the alpha and beta subunits of ATP synthase myosin and kinases and other ATP requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. EMBO J 1982;1:945-51. doi.10.1002/j.1460-2075.1982.tb01276.x

5.Pouillot R, Gerbier G, Gardner IA. TAGS a program for the evaluation of test accuracy in the absence of a gold standard. Prev Vet Med 2002;53:67-81. doi.10.1016/S0167-5877(01)00272-0

6.Cordeiro R, Evangelista AJ, Serpa R, Marques FJ, Melo CVS, Oliveira JS, et al. Inhibition of heat shock protein 90 enhances the susceptibility to antifungals and reduces the virulence of Cryptococcus neoformans Cryptococcus gattii species complex. Microbiology 2016;162:309-17 doi.10.1099/mic.0.000222.

7. Liu ZL. Molecular mechanisms of yeast tolerance and in situ detoxification of lignocellulose hydrolysates. Appl Microbiol

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

Biotechnol 2011;90:809-25. doi.10.1007/s00253-011-3167-9
8. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Prot Guide Meth Appl 1990;18:315-22.doi.10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1.
9.Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1977:159-74.doi.10.2307/2529310.
10.Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 1 th ed. Elsevier Health Sci Publication. 2018;P. 425-89.
11.Paiao FG, Segato F, Cursino JR, Peres NT, Martinezrossi NM. Analysis of Trichophyton rubrum gene expression in response to cytotoxic drugs. FEMS Microbiol let 2007;271:180-6. doi.10.1111/j.1574-6968.2007.00710.x
12. Kondori N, Tehrani PA, Strombeck L, Faergemann J. Comparison of dermatophyte PCR kit with conventional methods for detection of dermatophytes in skin specimens. Mycopathology 2013;176:237-41. doi.10.1007/s11046-013-9691-7
13.Weinstein S, Obuchowski NA, Lieber ML. Clinical evaluation of diagnostic tests. AJR Am J Roentgenol2005;184:14-9.doi.10.2214/ajr.184.1.01840014.
14.Mehlig L, Garve C, Ritschel A, Zeiler A, Brabetz W, Weber C, et al. Clinical evaluation of a novel commercial multiplex based PCR diagnostic test for differential diagnosis of dermatomycoses. Mycoses2014;57:27-34. doi.10.1111/myc.12097
15. Zhang W, Yu L, Yang J, Wang L, Peng J, Jin Q. Transcriptional profiles of response to terbinafine in Trichophyton rubrum. Appl Microbiol Biotechnol2009;82:1123-30. doi.10.1007/s00253-009-1908-9
16.Leng W, Liu T, Wang J, Li R, Jin Q. Expression dynamics of secreted protease genes in Trichophyton rubrum induced by key hosts proteinaceous components. Sabouraudia 2009;47:759-65. doi.10.3109/13693780802524522
17.Makimura K, Tamura Y, Mochizuki T, Hasegawa A, Tajiri Y, Hanazawa R, et al. Phylogenetic classification and species identification of dermatophyte strains based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. J Clin Microbiol 1999;37:920-4. doi.10.1128/JCM.37.4.920-924.1999
18.Weinberg JM, Koestenblatt EK, Tutrone WD, Tishler HR, Najarian L. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. J Am Acad Dermatol2003;49:193-7. doi.10.1067/S0190-9622(03)01480-4
19. Alshawa K, Beretti JL, Lacroix C, Feuilhade M, Dauphin B, Quesne G, et al. Successful identification of clinical dermatophyte and Neoscytalidium species by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry. J Clin Microbiol 2012;50:2277-81.doi.10.1128/JCM.06634-11.
20.Pande S, Siddique K, Kishore G, Bayaa B, Gaur P, Gowda C, et al. Ascochyta blight of chickpea Cicer arietinum L. a review of biology, pathogenicity and disease management. Aus J Agr Res2005;56:317-32.doi.10.1071/AR04143
21.Shaf F, Abdolreza B, Mahrokhfar. Determination of genetic diversity of fungi causing Chickpea Iran using RAPD molecular markers. J Plant Pathol 2011;89:128-95. doi.10.1007/s11557-010-0689-y
22.Hryncewicz A ,Jagielski T, Kalinowska K, Baczynska D, Plomer E, Bielecki J. Stability of tandemly repetitive subelement PCR patterns in Trichophyton rubrum over serial passaging and with respect to drug pressure. Mycopathologia 2012;174:383-8.doi.10.1128/JCM.06634-11.
23.Hryncewicz G, Lamber M. Intercultural difference in the formation of spaces of the courtroom. Adv Soc Organ Fac 2012;2:52-61.
24.Alipour M, Mozafari N. Terbinafine susceptibility and genotypic heterogeneity in clinical isolates of Trichophyton mentagrophytes by random amplified polymorphic DNA. J Mycol Med2015;25:1-9. doi.10.1016/j.mycmed.2014.09.001.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]

Genomic Polymorphism of Trichophyton Rubrum Isolated from Keratinized Clinical Sources using the RAPD-PCR Method

*Amini K[1], Chehreii S[*2], Malekabadi P[2]*

(Received: March 20, 2020 Accepted: January 6, 2021)

Abstract

Introduction: Dermatophytosis is a fungal complication of keratinized skin, hair, and nail tissues, which is caused by the establishment of dermatophytosis in the tissues. Attempts for tapping and discriminating the subtypes, as well as studying the possible association of specific species with clinical forms of trichophyton isolates using RAPD-PCR with random primers is a useful tool for typing and differentiating the fungal species. This study aimed to investigate the genomic polymorphism of Trichophyton rubrum isolated from keratinized sources using the RAPD-PCR method.

Materials & Methods: In this study, 60 dermatophytosis specimens were isolated from dermatophilic patients aged 12 to 45 years referred to Khatam-al-Anbia Hospital in Tehran province and Qods Hospital in Markazi province, Iran. The samples were inoculated in Sabourodextrose agar or microbial agar medium. A total of 30 positive samples were obtained, and specific kits were used to extract trichophyton rubrum DNA. The PCR was performed using specific primers, and the RAPD-PCR method was employed for genomic analysis. Investigation of genomic polymorphism is a valuable genetic marker in the evaluation of genome structure of Trichophyton rubrum.

Findings: A total of 30 isolates of Trichophyton rubrum were isolated after screening the clinical specimens that were identified based on morphological, microscopic, and biochemical tests. These strains were divided into nine genomic groups, some of which were found in several groups, indicating the genotypic similarity of the fungi of the same species at different locations. Among the identified clusters, cluster nine obtained the highest frequency, which included 12 isolates with common kinship characteristics.

Discussions & Conclusions: This study investigated the genomic polymorphism of Trichophyton rubrum isolated from dermatophytes specimens of patients with dermatophytosis in Tehran, Iran, using the RAPD-PCR technique with a primer. According to the results, distance and age group had a significant effect. Furthermore, genetic diversity can play a special role in the transmission and pathogenicity of this microorganism.

Keywords: Dermatophytosis, Genomic polymorphism, Trichophyton rubrum, RAPD-PCR

1. Dept of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
2. Dept of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
**Corresponding author Email: Sh-chehreii@iau-arak.ac.ir*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-06]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.1.3.5]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.1.5]