REVIEW ARTICLE

Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism, A Rapid and Simple Method for Identification of Pathogenic Fungi

Robab Ebrahimi Barogh[1],
Iman Haghani[2],
Javad Javidnia[3],
Mahdi Abastabar[4,5]

[1] PhD Student, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Assistant Professor, Invasive Fungi Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] PhD in Medical Mycology, Invasive Fungi Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Associate Professor, Department of Medical Mycology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Invasive Fungi Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 12, 2023; Accepted August 29, 2023)

Abstract

In recent years, the incidence of infections caused by pathogenic fungi has increased globally, especially in immunocompromised patients, transplant patients, or patients undergoing chemotherapy in intensive care units. Due to the morbidity and rapid spread of infection to other organs, accurate, rapid diagnosis and treatment of fungal infections is essential. Molecular methods such as polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) have significant superiority in sensitivity and specificity compared to conventional methods. The aim of this study is to point out the limitations of common diagnostic methods and factors affecting the sensitivity and specificity of PCR-RFLP molecular diagnostic test.

This article is a review study for which subject-related academic papers (before 2023) were collected and studied by searching the keywords of pathogenic fungi, and RFLP molecular diagnostic methods; in Persian databases as well as Latin electronic databases including Scopus, Web of Science, and PubMed .

Reviewing numerous articles showed that PCR-RFLP is a rapid, practical, and reliable method, which can be used in laboratories to determine the genotype of specific variants of fungal species isolated from clinical samples. However, there are several limitations for PCR-RFLP method demanding for more attention. The main limitations are the need for specific restriction enzymes and the difficulty of accurately determining single nucleotide polymorphisms (SNPs) in a specific diagnostic locus.

Keywords: RFLP, molecular diagnostic technique, fungi

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (225): 244-260 (Persian).

Corresponding Author: Mahdi Abastabar - Invasive Fungi Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: mabastabar@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

مـــروری

مجـلـــه دانـشـــگاه عـلـــوم پـزشـکـــی مـــازنـــدران
دوره سی و سوم شماره ۲۲۵ مهر سال ۱۴۰۲ (۲۶۰-۲۴۴)

واکنش زنجیره ای پلیمراز- چند شکلی طول قطعه محدود [PCR-RFLP]؛ متد سریع و ساده در تشخیص قارچ‌های بیماری زا

رباب ابراهیمی باروق[۱]
ایمان حقانی[۲]
جواد جاویدنیا[۳]
مهدی عباس تبار[۴و۵]

چکیده

در سال‌های اخیر، بروز عفونت‌های ناشی از قارچ‌های بیماری‌زا در سطح جهانی افزایش یافته است، به‌ویژه در بیماران مبتلا به نقص ایمنی، بیماران پیوندی و یا بیمارانی که تحت شیمی‌درمانی در بخش‌های مراقبت‌های ویژه قرار می‌گیرند. با توجه به موربیدیتی و گسترش سریع عفونت به سایر اندام‌ها، تشخیص دقیق، سریع و درمان عفونت‌های قارچی امری ضروری است. روش‌های مولکولی از جمله polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism دارای برتری قابل توجهی در حساسیت و ویژگی نسبت به روش‌های مرسوم است. هدف از این مطالعه اشاره به محدودیت‌های روش‌های تشخیصی متداول و عوامل مؤثر بر حساسیت و ویژگی تست تشخیصی مولکولی PCR-RFLP است.

در این مطالعه مروری، مطالب علمی مرتبط با موضوع، شامل جستجوی کلید واژه‌های قارچ‌های بیماری‌زا، روش‌های تشخیصی مولکولی RFLP، در بانک‌های اطلاعاتی فارسی و هم‌چنین جستجو در سایر بانک‌های الکترونیکی لاتین مشتمل بر Scopus، Web of science و PubMed تا سال ۲۰۲۳ جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت.

با بررسی مقالات متعدد دیده شد که روش PCR–RFLP سریع، عملی و قابل اعتماد است و می‌تواند در آزمایشگاه‌ها در تعیین گونه‌های قارچی جداشده از نمونه‌های بالینی استفاده شود. از جمله معایب PCR-RFLP، تعیین دقیق پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) در یک مکان تشخیصی خاص است.

واژه های کلیدی: قارچ‌های بیماری‌زا، روش‌های تشخیصی مولکولی، PCR-RFLP

مقدمه

عفونت‌های قارچی یک مسئله جهانی است که میلیون‌ها نفر را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد. آن‌ها به عفونت‌های سطحی، جلدی/مخاطی، زیرجلدی و تهاجمی طبقه‌بندی می‌شوند(۱). عفونت‌های قارچی سطحی و جلدی معمولاً توسط گونه‌های *کاندیدا*، *مالاسزیا*، *ترایکوسپورون* و درماتوفیت‌ها ایجاد می‌شوند(۲). بیماری‌های قارچی زیرجلدی نظیر اسپورتریکوزیس، بافت‌های زیر جلدی را درگیر می‌کنند(۳) و عفونت‌های قارچی تهاجمی می‌توانند اندام‌های داخلی را بخصوص در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی، تحت تأثیر قرار دهند(۱). هر ساله حدود ۱/۵ میلیون مرگ ناشی از عفونت‌های قارچی تهاجمی در سطح جهان رخ می‌دهد(۴). به منظور کاهش

مولف مسئول: مهدی عباس تبار- ساری: ۱۷ کیلومتری جاده فرحآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، مرکز تحقیقات قارچ‌های تهاجمی E-mail: mabastabar@gmail.com
۱. دانشجوی دکترای قارچ شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مازندران، ساری، ایران
۲. استادیار، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، پژوهشکده بیماری های واگیر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دکتری تخصصی قارچ شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، پژوهشکده بیماری های واگیر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. دانشیار، گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. مرکز تحقیقات قارچ‌های تهاجمی، پژوهشکده بیماری های واگیر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۳/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۴/۴ تاریخ تصویب : ۱۴۰۲/۶/۷

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

بروز جهانی مرگ و میرناشی از عفونت‌های تهاجمی، باید به سمت توسعه ابزارهای تشخیصی حرکت کنیم. علاوه بر این پیدایش مقاومت به داروهای متداول در درمان این عفونت‌ها، حائز اهمیت می‌باشد. بنابراین شناسایی سریع ایزوله‌های مقاوم به این داروها و جهش‌های ژنی مرتبط آن‌ها برای مدیریت درمان بیمار و تحقیقات اپیدمیولوژیک بسیار مهم می‌باشد. با استفاده از روش‌های مولکولی که قادر به شناسایی مستقیم مقاومت دارویی است می‌توان درمان ایده‌آلی را برای بیماران مختلف فراهم کرد(۵). در پزشکی، شناسایی گونه میکروارگانیسم‌های جدا شده برای پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌های عفونی مهم است. از مهم‌ترین روش‌های تشخیصی در بیماری‌های قارچی آزمایش مستقیم،کشت عوامل قارچی، تست سرولوژیکی، هیستوپاتولوژی و روش مولکولی است(۵،۴). هر کدام از این روش‌ها دارای معایبی هستند از جمله خطاهای نمونه‌گیری، مثبت و منفی کاذب، آلودگی محیط زیست و هزینه بالای تشخیص و درمان که با صرف زمان بسیار طولانی به بیمار تحمیل می‌شود(۶). بنابراین این روش‌ها جوابگوی همه‌گیری عفونت‌های قارچی در بیماران مختلف به‌ویژه در بیماران با دستگاه ایمنی سرکوب شده نمی‌باشد(۸،۷). با توجه به این‌که چنین تکنیک‌های تشخیصی مرسوم برای رسیدن به تشخیص بسیار زمان‌بر هستند و دقت نتایج به تخصص پرسنل بستگی دارد. بنابراین، نیاز به تکنیک‌های تشخیصی مولکولی برای افزایش حساسیت، ویژگی وسرعت تشخیص احساس می‌شود. تشخیص سریع، مشکل ناشی از تشخیص دیرهنگام و طولانی شدن دوره درمان را برای بیمار کاهش می‌دهد(۹). نقش تست‌های تشخیصی مولکولی در ارزیابی علت عفونت قارچی به سرعت در حال تکامل است و هر ساله آزمایش‌های جدیدی در دسترس قرار می‌گیرند. سایر تکنیک‌های مولکولی مانند توالی‌یابی ژنوم جزئی یا کامل، Microarrays، تکنیک‌های مدرن PCR، مثل Real-time PCR،Multiplex PCR نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما برای آزمایشگاه‌های بالینی کوچک، به‌دلیل هزینه بالای تجهیزات و معرف‌ها قابلیت اجرایی ندارند(۱۰) با این حال روش پلی‌مورفیسم طول قطعه برش یافته با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR-RFLP) به نسبت آسان و کم هزینه است و الگوی به‌دست آمده قابل تکرار و قابل اعتماد است(۱۱). تکنیک PCR-RFLP اولین بار در سال ۱۹۸۰ معرفی شد(۱۲) وکاربرد وسیعی در ژنتیک پزشکی انسان از جمله تشخیص سرطان‌زایی با توصیف پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی(SNPs)، عفونت انگلی، گاستریت، عفونت دستگاه ادراری، پلی‌مورفیسم ژنتیکی، ناباروری و ژنوتیپ گروه خونی دارد(۱۳). اساس این تکنیک، برش دادن DNA ژنومی با استفاده از آنزیم‌های محدودالاثر و الکتروفورز قطعات تولید شده بر اساس اندازه مولکولی بر روی ژل الکتروفورز می‌باشد(۱۴). آنزیم‌های محدود الاثر، آنزیم‌هایی هستند که توالی‌های نوکلئوتیدی خاص را تشخیص و برش می‌دهند(۱۵). این آنزیم‌ها در دهه ۱۹۵۰ به‌عنوان یک سیستم Restriction و Modification کشف شدند. هر آنزیم با استفاده از یک سیستم نام گذاری بر اساس جنس، گونه و سویه باکتری، از روی باکتری که از آن جدا شده است، نامگذاری می‌شود. به عنوان مثال نام آنزیم محدود الاثر *EcoR*I، (Escherichia E) مخفف جنس باکتری، (CO(coli مخفف گونه خاص باکتری، (R(*RY*13 مخفف گونه باکتری، I نشان‌دهنده ترتیب شناسایی باکتری می‌باشد. آنزیم‌های محدودالاثر براساس ترکیب آنزیم، کوفاکتورهای موردنیاز، توالی مورد شناسایی و مشخصات هضم DNA به چهار نوع I، II، III،IV تقسیم می‌شوند(۱۶). نرم‌افزارهای کامپیوتری مختلفی برای کمک به انتخاب اندونوکلئازهای محدودالاثر از جمله Gene Runner، Genetyx، MapDraw، NEBcutter، Webcutter، BioEdit، DNA Club، برنامه Infobiogen، REBsites و SNP Cutter توسعه یافته‌اند. برای شناسایی آنزیم‌های محدودالاثر توسط این سایت‌ها توالی موردنظر خود را وارد می نماییم(۱۷). جایگاه برش (Cutting site) در نرم‌افزار در محلی مشخص می‌شود که هر آنزیم به‌طور اختصاصی شناسایی می کند و برش می‌دهد(۱۸). از مزایای

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

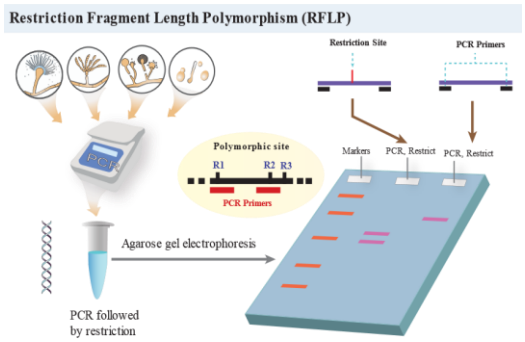
تست PCR-RFLP، حساس بودن، دقیق بودن، سریع بودن، تکرارپذیری بالا، عدم نیاز به ابزار پیشرفته و ایجاد تنوع چندشکلی و آنالیز آسان نتایج می‌باشد. با این‌حال، یکی ازمعایب این روش تشخیصی، نیاز به DNA با کیفیت و کمیت بالا است(۱۹). در جدول شماره ۱ مزایا و معایب تست PCR-RFLP بیان شده است. این مقاله مروری بر اهمیت تشخیص سریع و دقیق عفونت‌های قارچی، محدودیت‌های روش‌های تشخیصی متداول و عوامل مؤثر برحساسیت و ویژگی تست تشخیصی مولکولی PCR-RFLP تمرکز دارد. این مقاله یک مطالعه مروری است که برای انجام آن، مطالب علمی مرتبط با موضوع با جستجوی کلید واژه‌های قارچ‌های بیماری‌زا، روش‌های تشخیصی مولکولی RFLP در بانک‌های اطلاعاتی فارسی مشتمل بر منابع SID، Magiran و IranMedex همچنین جستجو در سایر بانک‌های الکترونیکی لاتین مشتمل بر PubMed، Web of science و Scopus تا ۲۰۲۳ جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت.

روش PCR-RFLP برای شناسایی قارچ‌ها

تشخیص مولکولی قارچ‌ها نیازمند استخراج DNA قارچی و به‌دنبال آن تکثیر با استفاده از PCR است. استخراج DNA از نمونه‌های بالینی را می‌توان با روش سنتی فنل-کلروفرم یا با استفاده از کیت‌های استخراج DNA تجاری کارآمدتر و راحت‌تر انجام داد(۹، ۲۰). با این‌که PCR معمولی ساده‌تر و هزینه کم‌تری دارد، اما قادر به تخمین کمیت بار قارچی وتعیین مقدار مناسب نمونه برای اطمینان از نتیجه مثبت نیست و راه را برای سایر تکنیک‌های مولکولی برای تشخیص قارچ‌ها از جمله PCR-RFLP باز می‌کند. روش انجام RFLP در تصویر شماره ۱ به صورت شماتیک آورده شده است. جدول شماره ۲ خلاصه‌ای از مطالعات انجام شده با روش PCR-RFLP برای شناسایی قارچ‌های مختلف می‌باشد.

جدول شماره ۱: مزایا و معایب روش PCR-RFLP

مزایا	معایب
سرعت بالا، اجرای ساده، کم هزینه بودن، تکرار پذیری بالا	نیاز به آنالیز دقیق سکانس به منظور انتخاب دقیق آنزیم های محدودالاثر اختصاصی
نیاز به مقدار DNA اولیه بسیار کم و در حد نانوگرم، بهینه سازی سریع	عدم توانایی در شناسایی جهش های ناشناخته
اختصاصیت فوق العاده بالا وعدم شناسایی توالی غیراختصاصی	گران بودن برخی از آنزیم ها
روش کاربردی در تعین گونه و ژنوتیپ واریانت‌ها	
قابل تشخیص بودن ژنوتیپ هتروزیگوت	
شناسایی عفونت هایی که به طورهم زمان توسط چند گونه ایجاد شده اند	



تصویر شماره ۱: پروتکل انجامPCR-RFLP شامل مراحل ذیل است: مرحله۱: استخراج DNA از قارچ. مرحله۲: انجام PCR برای افزایش مقدار DNA. مرحله ۳: استفاده از آنزیم محدودالاثر به منظور تجزیه DNA به قطعات کوچک‌تر. مرحله۴ الکتروفروز با ژل آگاروز. مرحله ۵: تعیین پلی‌مورفیسم؛ در ستون میانی، به علت تاثیر آنزیم محدودالاثر، محصولات PCR تنها دو باند ایجاد می‌کنند. در ستون سمت راست، تنها یک باند وجود دارد؛ چون DNA الگو فاقد جایگاه برش می‌باشد.

جدول شماره ۱: شناسایی قارچ‌های بیماری‌زا با ژن‌ها و آنزیم‌های محدودالاثر در تکنیک RFLP

قارچ و انواع قارچ	نام آنزیم محدود الاثر	ژن های هدف	مرجع
مخمر			
کاندیدا	*MspI, AluI*	ITS rDNA regions, *HWP*1 gene, *glycosyl phosphatidyl inositol*(*gpi*) gene	(۹۸،۹۹ ،۷۸)
قارچ های رشته ای			
درماتوفیت ها	*BsrD*1, *Dde*I, *Mva*I, *Hae*III, *Dde*I, *Hinf*I, *Mva*I, *Hinf* I, *Cfr13*I, *BstN*1	ITS rDNA regions, 18S rDNA regions, Metalloproteinase-1 (*MEP*1), *Topoisomerase* II(TOP2), *Chitin synthase* gene, *Ribosomal RNA* (rRNA) gene	(۸۶-۹۲ ،۲۵)
آسپرژیلوس	*AlwI*,*Hinc*II, *Alu*1	*Beta tubulin* gene, *cyp51A* gene, *FTR1* gene	(۹۵ ،۴۷ ،۴۳)
موکور	*BsrDI*, *Afl*III, *Eco*0109I, *Hae*II	rDNA	(۵۳)
فوزاریوم	*Msp*I, *Hha*I, *Taq*I, *Faq*I, *Hae*III, *Sma*I, *Hpa*I, *Alu*I, *Hha*I, *HinP*1I, *HpyCH*4V	rDNA, *Beta-tubulin*, *Elongation factor 1α*, *α*, *β-tubulin* genes	(۶۲،۶۶،۶۷،۹۶،۹۷)
قارچ های دوشکلی			
اسپوروتریکس	*Ase*I, *Hha*I, *Bsu*RI	*Intergenic region between ATP*9, *COX*2 genes of the *mtDNA*, *Cal*, *kDNA*	(۹۴ ،۹۳)
هیستوپلاسما کپسولاتوم، تالارومایسس مارنفئی	*Mbo*II, *Hae*III, *Hha*I	ITS rDNA regions	(۸۳)
پاراکوکسیدیوایدس براسیلینسیس	*Bcl*I, *Msp*I, *Msp*onu	*TUB*1 gene	(۸۴)
کوکسیدیوئیدس ایمیتیس	*Ava*II (*Sin*I), *Hae*III, *Hinc*II, *Hind*III, *Hinf*I, *Pst*I, *Pvu*I, *Sal*I, *Sin*I	DNA	(۸۵)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

تکنیک PCR-RFLP برای شناسایی درماتوفیت‌ها

درماتوفیتوزیس توسط قارچ‌های کراتینولیتیک بیماری‌زا به نام درماتوفیت‌ها، در حیوانات و انسان ایجاد می‌شود. با پیشرفت تکنیک‌های تشخیصی، درماتوفیت‌ها به هفت جنس *Epidermophyton*، *Trichophyton*، *Microsporum*، *Nannizzia*، *Lophophyton*، *Paraphyton* و *Arthroderma* طبقه‌بندی شدند(۲۱). در طول دو دهه گذشته، عوارض درماتوفیتوز در انسان به دلیل مشکلات اجتماعی- اقتصادی، سفرهای بین‌المللی گسترده، مهاجرت از کشورهای گرمسیری و تماس با حیوانات به ویژه حیوانات خانگی، افزایش سن و استفاده از داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی افزایش یافته است(۲۲). تکنیک‌های تشخیصی مرسوم بسیار زمان‌بر هستند و دقت نتایج به تخصص پرسنل بستگی دارد. بنابراین، نیاز به تکنیک‌های مولکولی برای افزایش حساسیت، ویژگی نتایج موردنیاز برای شناسایی درماتوفیت‌ها درسطح جنس، گونه و بررسی پلی‌مورفیسم بسیار حایز اهمیت است(۹).

مطالعه ای با اشاره بر زمان‌بر و غیرقابل اعتماد بودن روش‌های سنتی شناسایی درماتوفیت‌ها در سطح گونه، با تکیه بر ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی کلنی‌ها(۲۳)، استفاده از تکنیک‌های مبتنی بر DNA به ویژه سیستم‌های PCR-RFLP را که می‌توانند گونه‌های مختلف درماتوفیت‌ها را برای اهداف درمانی و اپیدمیولوژیک به‌طور دقیق شناسایی کنند را مورد بحث قرار می‌دهد(۲۴). محققان دریافتند که مناطق غیرکد کننده مجموعه rDNA در این قارچ‌ها به اندازه کافی متفاوت است که امکان تمایز گونه‌ها با استفاده از سیستم‌های PCR-RFLP فراهم می‌شود(۲۵). در این مطالعه ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 rDNA از سویه‌های مرجع مختلف گونه‌های درماتوفیت با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 و آنزیم محدودالاثر بنام *Mva*I تکثیر داده شد. الگوهای RFLP به‌دست‌آمده برای بسیاری از گونه‌ها از جمله *T. interdigitale*، *T. rubrum*، *T. violaceum*، *E. floccosum* و *M. nanum*، *M. audouinii*، *M. persicolor* خاص بودند، اما برای برخی از گونه‌های نزدیک به هم مانند *M. canis / M. ferrugineum*، مشابه بودند. عملاً مشخص شد که ITS-PCR و متعاقباً *Mva*I-RFLP یک روش مفید و قابل اعتماد برای شناسایی و تمایز چندین گونه بیماری‌زا است و می‌تواند برای غربال‌گری سریع حتی گونه‌های نزدیک به درماتوفیت‌ها در محیط‌های بالینی و اپیدمیولوژیک استفاده شود(۲۶).

مقاله‌ای دیگر کارایی ژن بتا-توبولین (BT2) را به عنوان یک مارکر ژنتیکی برای تمایز دقیق درماتوفیت‌های بیماری‌زا ارزیابی می‌کند. این روش شامل : بازیابی توالی‌های ژن بتا-توبولین گونه‌های درماتوفیت از GenBank، تجزیه و تحلیل توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار بیوانفورماتیک برای انتخاب آنزیم‌های محدودالاثر مناسب، تکثیر ژن BT2 از ۴۰ مجموعه کشت مرجع و ۱۰۰ ایزوله بالینی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی T1 و Bt2b، آنالیز تجربی RFLP محصولات PCR با استفاده از آنزیم‌های محدودالاثر انتخاب شده از جمله *Fat*I، *Alw21*I، *Mwo*I و *HpyCH4*V برای تایید شناسایی گونه‌های درماتوفیت، مقایسه نتایج RFLP تجربی با نتایج حاصل از آنالیز کامپیوتری برای اعتبارسنجی روش می‌باشد. بنابراین به‌ترتیب آنزیم‌های *Alw21*I، *Mwo*I، *HpyCH4*V به‌عنوان بهترین کاندید برای تمایز بین جفت گونه‌های *T. interdigitale/T. tonsurans*، *T. rubrum/T. violaceum* و *T. schoenleinii/E. floccosum* انتخاب شدند. نویسندگان این مقاله به این نتیجه رسیدند که ژن بتا-توبولین می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی قابل اعتماد برای شناسایی گونه‌های درماتوفیت استفاده شود. روش PCR-RFLP سریع‌تر و دقیق‌تر از روش‌های مرسوم یعنی شناسایی مبتنی بر ویژگی‌های فیزیکی و بیوشیمیایی است و برای شناسایی معمول گونه‌های درماتوفیت در آزمایشگاه‌های بالینی مناسب است(۲۷).

تکنیک PCR-RFLP برای شناسایی گونه‌های اسپوروتریکس

اسپوروتریکوزیس یک بیماری قارچی جلدی یا

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

زیرجلـــدی است کـــه پستانـــداران را تحت تـاثیـــر قـــرار مـی‌دهـد کـه توسـط گونـه‌های *اسـپوروتریکس (Sporothrix)* ایجاد می‌شود و معمولاً پوست و غشاهای مخـــاطی را درگیـــر می‌کنـــد(۲۸). در حـــال حاضـــر، *اسپوروتریکس* شامل ۵۳ گونـه است کـه بـه کلادهـای بالینی و محیطی تقسیم می شوند که کـلاد بـالینی شـامل *S. schenckii*، *S. brasiliensis*، *S. globosa* و *S. luriei* هستند و *S. mexicana*، *S. pallida*، *S. chilensis* و *S. humicola* به کلاد محیطی تعلق دارند(۲۹،۳۰).

کاوازاکـی و همکـاران استفـاده از جفت پرایمـر 975-8038F و 975-9194R را برای هدف قرار دادن یـک منطقه بین ژنی بین ژن‌های ATP9 و COX2 mtDNA و بـه‌دنبـال آن بـرش آنزیمـی آمپلیکون‌هـا بـا آنـزیم محـدودالاثر *Ase*I را بـرای گونـه‌های *اسـپوروتریکس* پیشنهاد نمودنـد(۳۱). بنـابراین، تفسیر مجـدد داده‌هـا(۳۳) تحت تحولات طبقه‌بندی اخیر گروه‌های کلاسیک A و B از *S. schenckii* را به ترتیـب بـا *S. schenckii* و *S. globosa* شناسـایی کـرده‌انـد(۳۲،۳۱). رودریگـز و همکـاران یـک PCR-RFLP را توصیف کردند کـه ژن *CAL* را هـدف قـرار می‌دهـد و بـا آنـزیم محـدودالاثر *Hha*I بـرش داده می‌شـود تـا گونـه‌های *S. brasiliensis*، *S. schenckii*، *S. globosa* و *S. luriei* را شناسایی کند. مونتـه نگـرو و همکـــاران(۳۳) از PCR-RFLP بـــرای شنـاسـایـــی ایزوله‌های *S. brasiliensis* به‌عنـوان عامـل ایجادکننـده اسپوروتریکوزیس در ایالت استفاده کـرد(۳۴). تکنیک‌هـای مولکولی در تشخیص اسپوروتریکوزیس کارآمد هستند ولی اکثر پروتکل‌ها می‌تواننـد تشـخیص را در بـه دلیـل صـرف زمـان طـولانی بـرای کشـت قـارچ بـه تـاخیر بیندازد(۳۶،۳۵). فقدان پروتوکل‌هـای مبتنـی بـر اسـتخراج مسـتقیم DNA از نمونـه‌های بـالینی بـرای تشـخیص اسـپورتریکس یـک شـکاف قابـل توجـه در تشـخیص مولکـولی اسـت زیـرا آن‌هـا گـران هسـتند و بـه زیرساخت‌های آزمایشگاهی نیاز دارند و آن‌ها را بـرای جوامع کم منابع نامناسب می سازد، بـا توجـه بـه ایـن‌کـه اسپوروتریکوزیس اغلـب بـر فقیرتـرین جمعیت‌هـا تـأثیر می‌گذارد(۳۷،۳۵).

تکنیک PCR-RFLP برای شناسایی پاتوژن‌های فرصت طلب (عامل عفونت های قارچی مهاجم)

تکنیک PCR-RFLP برای شناسایی گونه‌های آسپرژیلوس

سـپرژیلوس عامـل ایجـاد طیـف وسـیعی از تظاهرات بـالینی از جملـه کلونیزاسـیون، آسـپرژیلوزیس برونکوپولمونری آلرژیک درگیری پوستی، اتومایکوزیس و آسپرژیلوزیس مهاجم می‌باشد(۳۹،۳۸). در میـان گونـه‌های مختلـف *آسـپرژیلوس*، *آ. فومیگـاتوس* بـه‌عنـوان عامـل اصلی آسپرژیلوزیس در انسان و سایر حیوانـات اسـت و بـه‌دنبـال آن *آ. فـلاووس*، *آ. نـایجر*، *آ. ترئـوس* و *آ. نیدولانس* قـرار دارنـد(۴۰). شناسـایی ایزولـه‌هـای بـالینی *آسـپرژیلوس* در سـطح گونـه بسـیار مهـم اسـت، زیـرا گونه‌های مختلف ممکن است در تظاهرات بالینی، پاسخ بـه داروهـای ضـد قـارچ و عوامـل بیمـاری زا متفـاوت باشند(۴۱).

در طـول دهـه‌های گذشـته، تکنیک‌هـای مولکـولی متعـددی بـر شناسـایی گونـه‌های *آسـپرژیلوس* براسـاس توالی‌یابی ژنـوم جزئـی یـا کامـل اهـداف ژنـی متمرکـز شده‌اند(۴۲). در مطالعه ای از یک تست کم هزینه مبتنـی بر PCR-RFLP برای تمـایز ایزولـه‌های *آسـپرژیلوس* در سـطح گونـه اسـتفاده شـد و بـا اسـتفاده از پرایمرهـای قارچی Bt2a و Bt2b ژن بتا-توبولین سویه‌های مختلـف *آســپرژیلوس* تکثیـــر شـــدند. محصـــولات PCR بـــا یک آنـزیم محـدودالاثر *Alw*I بـرش داده شـدند. تسـت PCR-RFLP الگوهای منحصر بـه فـردی را بـرای شـش گونـه مهـم بـالینی *آسـپرژیلوس*، از جملـه *آ. فـلاووس*، *آ. فومیگاتوس*، *آ. نیدولانس*، *آ. ترئـوس*، *آ. کلاواتـوس* و *آ. نیدولانس* ایجاد کرد(۴۳). *آ. فلاووس* دومـین عامـل اصلی آسپرژیلوزیس مهـاجم در سراسـر جهـان اسـت و معمولاً در انسان باعث بیماری‌های گسترده‌ای می‌شـود(۴۴). برخلاف سویه‌های *آ. فلاووس* که بـا تولیـد آفلاتوکسـین‌ها

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

مرتبط هستند *آ. اوریزه آ* به‌رغم وجود تمام ژن‌های مورد نیاز برای بیوسنتز آفلاتوکسین‌ها، به عنوان یک ارگانیسم بی‌خطر برای تولید آنزیم در غذا و صنعت استفاده می‌شود(۴۶،۴۵). در یک مطالعه، از تست RFLP براساس ژن *cyp51A* برای تمایز بین *آ. فلاووس* و *آ. اوریزه آ* استفاده شد. توالی‌های ژن *cyp51A* سویه‌های مرجع *آ. فلاووس* و *آ. اوریزه آ* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی CYP51AF و CYP51AR تکثیر شدند. محصولات PCR تحت برش با آنزیم محدودالاثر *Hinc*II قرار گرفتند. این روش الگوهای خاصی را برای سویه های استاندارد و ایزوله‌های بالینی و محیطی *آ. فلاووس* و *آ. اوریزه آ* نشان داد. برخلاف اکثر روش‌های طراحی شده برای تمایز این گونه‌ها که زمان بر و بسیار گران قیمت هستند، تست تک آنزیمی PCR-RFLP روی ژن *cyp51A* در مطالعه حاضر روشی ساده، قابل اعتماد و کم‌هزینه برای تمایز دقیق و سریع *آ. فلاووس* و *آ. اوریزه آ* جدا شده از نمونه‌های بالینی و محیطی است(۴۷).

تکنیک PCR-RFLP برای شناسایی موکورال‌ها

گونه‌های *موکورال‌ها* عوامل رایجی هستند که بر سینوس‌های بینی تأثیر می‌گذارند و ممکن است تظاهرات بالینی مشابهی داشته باشند(۴۸). تشخیص موکورمایکوزیس تهاجمی به‌دلیل علائم بالینی و رادیوگرافی غیراختصاصی و کشت خون منفی چالش برانگیز است(۵۰،۴۹). روش‌های متداول مانند آزمایش مستقیم و کشت برای تشخیص حائز اهمیت هستند اما ممکن است حساس نباشند و مدت زمان زیادی طول بکشد تا نتیجه مثبت حاصل شود(۵۱). در هیستوپاتولوژی میزان جداسازی کم عامل موکورمایکوزیس از نمونه بافت به ویژگی ظریف هایف‌های بدون تیغه *موکورال‌ها* نسبت داده می‌شود که به راحتی می‌تواند در طول تهیه نمونه از بافت آسیب ببیند که به نوبه خود ممکن است منجر به کاهش رشد قارچ شود(۵۲،۵۰). تکنیک مولکولی از جمله PCR-RFLP ممکن است این کمبود را با سرعت معقولی برطرف کند. در یک مطالعه‌ای با تست مولکولی PCR-RFLP با استفاده از پرایمرهای اختصاصی موکورال‌ها ZM1 و ZM3 از ناحیه 18S rDNA ۱۷۶-۱۷۹ جفت باز را تکثیر کردند این تکنیک با استفاده از چهار آنزیم محدودالاثر قادر به شناسایی دقیق *موکورال‌ها* از ۵۰ مورد نمونه‌های بافت تازه در بیماران مبتلا به موکورمایکوزیس راینو-اوربیتو-سربرال تا سطح جنس بود(۵۳).

تکنیک PCR-RFLP برای شناسایی گونه‌های فوزاریوم

گونه *فوزاریوم* یکی از مهم‌ترین گروه‌های قارچی در زمینه‌های علوم پزشکی، کشاورزی و دامپزشکی است(۵۴) و عامل طیف وسیعی از عفونت‌ها از جمله عفونت‌های سطحی (مانند کراتیت، ضایعات جلدی و اونیکومیکوزیس)، عفونت‌های مزمن بافت زیر جلدی (مانند مایستوما) و عفونت‌های منتشره (مانند پنومونی، اندوکاردیت، پریتونیت، عفونت کاتتر و عفونت خونی) می‌شود(۵۶،۵۵). این عفونت‌ها اغلب مقاوم به درمان هستند(۵۷) و می‌توانند منجر به طولانی شدن زمان عفونت، افزایش مرگ و میر و هم‌چنین افزایش هزینه‌های مراکز بهداشتی و درمانی شود. گونه‌های *فوزاریوم* پاتوژن به هفت مجموعه گونه گروه‌بندی می‌شوند: *Fusarium solani* (FSSC)، *Fusarium oxysporum* (FOSC)، *Fusarium fujikuroi* (FFSC)، *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC)، *Fusarium chlamidosporum* (FCSC)، *Fusarium dimerum* (FDSC) و *Fusarium sportricoides* (FSAMSC). بیش‌تر پاتوژن‌های فرصت طلب *فوزاریوم* متعلق به *Fusarium solani* (FSSC)، *Fusarium oxysporum* (FOSC) و *Fusarium fujikuroi* (FFSC) هستند(۶۰-۵۸).

روش‌های مولکولی مانند Multiplex-PCR و PCR-RFLP برای تشخیص گونه‌های *فوزاریوم* حساس‌تر و سریع‌تر هستند(۶۲،۶۱).

در مطالعه‌ای با استفاده از PCR-RFLP، DNA ۱۷۲ ایزوله از ۲۳ گونه فوزاریوم استخراج و با

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

استفاده از پرایمرهای ITS و چهار اندونوکلئاز *Hha*I، *Msp*I، *Taq*I و *Faq*I به ۳۳ گروه تقسیم شدند. سه آنزیم اول توانستند گونه‌های *فوزاریوم* را به ۲۳ گروه طبقه‌بندی کنند که ۱۹ گروه شامل یک عضو، یک گروه شامل دو عضو و سه گروه شامل سه عضو از گونه *فوزاریوم* بودند. این مطالعه هم‌چنین امکان شناسایی گونه‌های *F. semitectum*، *F. solani* complex، *F.pseudograminearum*، *F. nisikadoi*، *F. coeruleum* و *F. acuminatum* توسط یک آنزیم منحصر به فرد و توانایی تمایز *F. compactum* از *F. equiseti* را نشان داد. مطالعات نشان داده‌اند که ITS1 و ITS2 اهداف مفیدی برای شناسایی گونه‌های خاص *فوزاریوم* هستند(۶۴،۶۳) زیرا وضوح طبقه‌بندی مناسبی را برای اکثر قارچ‌ها ایجاد می کند(۶۵). با این حال داده‌های بیوانفورماتیک ممکن است در برخی موارد با آزمایش‌های عملی انجام شده در آزمایشگاه مطابقت نداشته باشد، همان‌طورکه در برخی گونه‌ها مانند *F. verticellioides* دیده می‌شود(۵۴).

مطالعه‌ای دیگر از آنالیز PCR-RFLP منطقه بتا-توبولین برای تمایز ۱۰۷گونه مختلف *فوزاریوم* استفاده کرد. ابتدا ژن بتا-توبولین تمام ایزوله‌ها با پرایمر (T1 و T22) تکثیر شد، سپس با استفاده از سه آنزیم محدودالاثر *Ban*II، *Bsa*WI و *Hinc*II گونه‌های *فوزاریوم* جدا شده در ۲۴ گروه دسته‌بندی شدند. در این مطالعه با تکنیک RFLP، *F. graminearum*، *F. culmorum* و *F. cerealis* *F. oxysporum* و *F. solani* شناسایی شد. برخلاف سایر مطالعات مشابه قبلی، این مطالعه قادر به تمایز بین *F. graminearum*، *F. culmorum* و *F. cerealis* بود. ولی موفق به افتراق و *F. acuminatum* یا *F. sportrichioides* از *F. langsethiae* نشدند(۶۶). ژن‌های دیگر مانند نواحی بین ژنی از جمله نواحی فاصله بین ژنی (*IGS*)، فاکتور افزایش طول ترجمه ۱ آلفا(*EF1α*)، کالمودولین (*CaM*)، دومین زیر واحد بزرگ RNA پلیمراز (RPB2) II، ژن rRNA 28S و ژن‌های مسیر بیوسنتزی مایکوتوکسین‌ها به‌عنوان اهدافی برای شناسایی *فوزاریوم* در سطح گونه استفاده گردید(۶۷،۶۸).

تکنیک PCR-RFLP برای شناسایی گونه های کاندیدا

میکروبیولوژیست‌های بالینی در کشورهای کم‌درآمد به دلیل فقدان فناوری‌های مناسب در شناسایی گونه های مخمر با چالش‌هایی روبرو هستند. روش‌های مرسوم مبتنی بر ویژگی‌های فنوتیپی یا بیوشیمیایی ممکن است به‌طور دقیق عامل اتیولوژیک عفونت را شناسایی نکنند(۷۰،۶۹). گونه‌های جدید *کاندیدا* می‌تواند ازنظر بالینی مهم باشند، زیرا می‌توانند هم در حدت و هم در طیف مقاومت ضد قارچی متفاوت باشند(۷۱). فقدان داده‌های میکروبیولوژیکی خاص می‌تواند پزشکان را مجبور به درمان تجربی قارچ‌های تهدیدکننده حیات با داروهای ضد قارچی وسیع‌الطیف کند، که بر مشکلات موجود در مقاومت ضد قارچی تأثیر می‌گذارد. در یک مطالعه ۱۰۸ ایزوله از کمپلکس‌های *کاندیدا آلبیکنس* (*C. albicans*)، *کاندیدا گلابراتا* (*C. glabrata*)، *کاندیدا پاراپسیلوزیس* (*C.parapsilosis*) و *کاندیدا همولونی*(*C.haemulonii*) با روش‌های مولکولی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند(۷۳،۷۲). با این حال، گونه‌های cryptic موجود در این مجموعه، مانند *کاندیدا دابلینینسیس* (*C. dubliniensis*) و *کاندیدا آفریکانا* (*C. africana*)، معمولاً به اشتباه شناسایی می‌شوند یا ناشناخته باقی می‌مانند. بنابراین، این سوگیری می‌تواند تعداد *ک. آلبیکنس* گزارش شده را کمی بیش از حد برآورد کند(۷۶-۷۴). در این مطالعه ۶۶ ایزوله از کمپلکس *ک. آلبیکنس* با تکثیر ژن *hwp1* مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نشان داد که بیش از ۹۲درصد از افراد به عنوان *ک. آلبیکنس* و ۷/۶ درصد به‌عنوان *ک. دابلینینسیس* یا *ک. آفریکانا* شناسایی می‌شوند. این اولین گزارش *ک. دابلینینسیس و ک. آفریکانا* در هندوراس بود. شناسایی گونه‌ها با تکثیر خاص ژن

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

(gpi) glycosyl phosphatidyl inositol انجام شد و یک تکنیک ساده PCR-RFLP با آنزیم محدودالاثر AluI طراحی شد که به *کاندیدا اوریس* (*C. auris*) اجازه می‌دهد تا از بقیه گونه‌های کمپلکس *ک. همولونی* متمایز شود. جداسازی گونه‌های کمپلکس *ک. همولونی* از نمونه‌های بالینی نادر است(۷۷). افزایش گونه‌های غیر *ک. آلبیکنس* و مقاومت بیش‌تر این گونه‌ها به داروهای ضد قارچی منجر به افزایش میزان مرگ و میر در مبتلایان به کاندیدیازیس می‌شود که هشداری برای جامعه‌ی پزشکی است. در مطالعه دیگر DNA ژنومی ۱۸۲مخمراز کشت‌های نقاط مختلف بدن شامل ناخن، واژن، کشاله ران، خون، زخم و غیره با استفاده از فیلترهای FTA استخراج شد و ناحیه ITS1-ITS2 با PCR و آنزیم محدودالاثر *Msp*I تکثیرشد. نتایج نشان داد که ۴۷/۲ درصد مربوط به *ک. آلبیکنس* و۵۲/۸ درصد مربوط به گونه‌های غیر *ک. آلبیکنس* بود(۷۸). این نشان می‌دهد که روش‌های مولکولی برای انجام تحقیقات اپیدمیولوژیک مستمر در ایران ضروری است. به دلیل آن‌که بسیاری از مطالعات مولکولی انجام شده در ایران جنبه متدلوژی داشته و یا بررسی‌های اپیدمیولوژیک فقط با روش سنتی است(۷۹). انجام مطالعات مستمر در رابطه با بررسی‌های اپیدمیولوژیک با استفاده از روش‌های مولکولی ضروری به‌نظر رسیده و رواج این تست‌ها در آزمایشگاه‌های بالینی توصیه می‌شود.

تکنیک PCR-RFLP برای شناسایی گونه‌های دایمورفیسم

عفونت‌های قارچی دوشکلی ناشی از *هیستوپلاسما کپسولاتوم* (*Histoplasma capsulatum*)، *بلاستومایسس درماتیتیدیس* (*Blastomyces dermatitidis*) و *کوکسیدیوئیدس ایمیتیس پوساداسی* (*Coccidioides immitis/ posadasii*) تا ۳۰ درصد از موارد پنومونی اکتسابی از جامعه را در مناطق اندمیک از جمله آمریکای شمالی، مرکزی و آمریکای جنوبی تشکیل می‌دهند. تشخیص این عفونت‌ها به دلیل عدم تمایز آن‌ها از تظاهرات تنفسی که اغلب از علل شایع باکتریایی ذات‌الریه هستند به تاخیر می افتد. قارچ‌های دوشکلی علاوه بر بومی بودن در مناطق خاصی از آمریکا، به دلیل افزایش مسافرت، حمل و نقل کالاها و هم‌چنین تغییر اپیدمیولوژی به‌دلیل افزایش گرمایش جهانی در هر شش قاره گزارش شده‌اند(۸۰).

تالارومیکوزیس (Talaromycosis) یک عفونت فرصت طلب مکرر در بیماران مبتلا به ایدز ساکن در جنوب شرق آسیا یا جنوب است(۸۱). تشخیص سریع و دقیق برای مراقبت از بیمار بسیار مهم است، اما روش‌های تشخیصی مرسوم زمان بر هستند. این امر منجر به تقاضا برای روش‌های تشخیصی مولکولی جدید برای شناسایی قارچ شده است(۸۲).

در مطالعه ای با استفاده از PCR-RFLP، یک تست مولکولی سریع، حساس و اختصاصی را برای تشخیص گونه‌های مختلف با استفاده از پرایمرهای universal و آنزیم‌های محدودالاثر *Mbo*II، *Hae*III و *Hha*I طراحی کرد. در این مطالعه سی و هشت جدایه از قارچ‌های بیماری‌زای انسانی مهم از نظر پزشکی از جمله *ه. کپسولاتوم* آزمایش شد. این مطالعه نشان داد که الگوی *Mbo*II مختص گونه‌ای خاص است، در حالی که الگوهای *Hae*III و *Hha*I در جنس‌هایی مانند *آسپرژیلوس* و *کاندیدا* مشابه هستند. برای صرفه جویی در زمان و هزینه، توانستند از ۲ آنزیم محدودالاثر *Mbo*II-*Hae*III یا *Mbo*II-*Hha*I برای شناسایی گونه‌های قارچی استفاده کنند(۸۳).

پاراکوکسیدیومایکوز (Pracoccidioidomycosis) یک عفونت قارچی سیستمیک است که در آمریکای لاتین یافت می‌شود و توسط دو گروه عمده از گونه‌ها ایجاد می شود: *پاراکوکسیدیویدس براسیلینسیس* (*Paracoccidioides brasiliensis*) (شامل زیرگروه‌های S1، PS2 و PS3) و *پاراکوکسیدیویدس لوتزی* (*P. lutzii*). شناسایی این گونه‌ها براساس مورفولوژی به تنهایی امکان‌پذیر نیست.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

بنـــابراین روبرتـــو و همکـــاران یـــک روش PCR-RFLP بـــا اســـتفاده از ژن توبـــولین (*TUB*1) و آنزیم‌های محدود الاثر I *Bcl* و I *Msp* و Msponu برای شناسایی گونه‌های *پاراکوکسیدیویدس* پیشنهاد کردند. ژن α-توبولین (*TUB*1) به این دلیل انتخاب شد که پلی‌مورفیسم‌های کافی برای تمایز بین گونه‌های موجود در مجموعه پ. *براسیلینسیس* را داشت(۸۴). در سال ۱۹۹۲، مـــــــوارد کوکســـــــیدیوئیدومیکوزیس (Coccidioidomycosis) در کالیفرنیا افزایش یافت، که منجر به مطالعه ۱۵ ایزوله با استفاده از روش PCR-RFLP توسط راجر زیمرمن و همکارانش شد. در این مطالعه از آنزیم‌های (*Sin*I) *Ava*II، *Hae*III، *Hinc*II، *Hind*III، *Hinf*I، *Pst*I، *Pvu*I، *Sal*I، و *Sin*I برای شناسایی ایزوله‌ها استفاده شد. این مطالعه نشان داد که تنها دو الگوی اصلی RFLP شناسایی شد که نشان‌دهنده تنوع کمی در بین ۱۵ ایزوله است. الگوهای RFLP ایزوله‌هایی که چندین دهه پیش بازیابی شده‌اند، همانند نمونه‌های اخیر بود(۸۵). تست مولکولی RFLP به دلیل پیچیدگی و زمان بر بودن طراحی اولیه، کم بودن تعداد جایگاه برش در طول توالی DNA و گهگاهی هزینه بالای خرید آنزیم در جوامع کم درآمد مشکل‌ساز است، اما این تست مولکولی علاوه بر قابلیت تکرارپذیری بالا، تمایز و شناسایی عفونت‌هایی که ناشی از ۲ یا چند گونه قارچی هستند که حتی تکنیک توالی‌یابی ژن نیز قادر به شناسایی آن‌ها نمی‌باشد، می‌تواند بر چندین محدودیت تکنیک‌های تشخیصی متداول از جمله، تأخیر در تولید یا عدم وجود میکروکنیدی یا ماکروکنیدیای مشخص، شباهت میکرومورفولوژی یا ماکرومورفولوژی یا هر دو در سطح جنس، زمان بر بودن کشت قارچ، واکنش متقابل آنتی‌ژنی بین گونه‌ها و جنس‌های مهم، کشت‌های خطرناک برای سلامت کارکنان آزمایشگاهی، مشکلات ناشی از در دسترس بودن نمونه‌های بالینی و زنده ماندن ضعیف عناصر قارچی در اسمیر یا بافت‌ها غلبه کند. بنابراین با توجه به حساسیت و ویژگی این تست، این روش می‌تواند روش جایگزین مناسبی برای تشخیص برخی از عوامل مهم عفونت‌های قارچی در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی و بالینی باشد. تشخیص زودهنگام عفونت باعث تسریع شروع درمان ضد قارچی برای افزایش بقا و کاهش عوارض می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از مسئولان پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و داوران مقاله که ما را در انجام و ارتقا کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام نمایند.

References

1. Pathakumari B, Liang G, Liu W. Immune defence to invasive fungal infections: A comprehensive review. Biomed Pharmacother 2020; 130: 110550.
2. Sharma B, Nonzom S. Superficial mycoses, a matter of concern: Global and Indian scenario-an updated analysis. Mycoses 2021; 64(8): 890-908.
3. Guégan S, Lanternier F, Rouzaud C, Dupin N, Lortholary O. Fungal skin and soft tissue infections. Curr Opin Infect Dis 2016; 29(2): 124-130.
4. Brown GD, Denning DW, Gow NA, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden killers: human fungal infections. Sci Transl Med 2012; 4(165): 165rv13.
5. Khodavaisy S, Mahmoudi S, Agha Kuchak Afshari S, Salehi Z, Kord M. Molecular Techniques in Detection of Triazole-resistance Gene Mutations in Common Pathogenic

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

Fungi. J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(148): 187-202 (Persian).

6. Khan S, Farabi B, Navarrete-Dechent C, Rao B, Safai B. Applications of Reflectance Confocal Microscopy in the Diagnosis of Fungal Infections: A Systematic Review. J Fungi 2022; 9(1): 39.
7. Sadamoto S, Mitsui Y, Nihonyanagi Y, Amemiya K, Shinozaki M, Murayama SY, et al. Comparison approach for identifying missed invasive fungal infections in formalin-fixed, paraffin-embedded autopsy specimens. J Fungi 2022; 8(4): 337.
8. Moallemzadeh SA, Yadegari MH, Rajabi Bazl M, Kachuei R. The simple molecular method for confirming identification of the main species of fungi Candida, *Aspergillus* and Dermatophyte. Studies in Medical Sciences 2014; 25(2): 105-112.
9. Jensen RH, Arendrup MC. Molecular diagnosis of dermatophyte infections. Curr Opin Infect Dis 2012; 25(2): 126-134.
10. Lamont RF, van den Munckhof EH, Luef BM, Vinter CA, Jørgensen JS. Recent advances in cultivation-independent molecular-based techniques for the characterization of vaginal eubiosis and dysbiosis. Fac Rev 2020; 9: 21.
11. Fatahi M, Shokohi T, Sooteh H, Hedayati M, Okhovatian A, Tamadoni A, et al. Molecular identification of *Candida albicans* isolated from the oncology patients at four university hospitals in Mazandaran province (2005-6). J Mazandaran Univ Med Sci 2007; 17(61): 1-11 (Persian).
12. Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet 1980; 32(3): 314-331.
13. Hashim HO, Al-Shuhaib MBS. Exploring the potential and limitations of PCR-RFLP and PCR-SSCP for SNP detection: A review. Journal of Applied Biotechnology Reports 2019; 6(4): 137-144.
14. Wolf C, Rentsch J, Hübner P. PCR− RFLP analysis of mitochondrial DNA: A reliable method for species identification. J Agric Food Chem 1999; 47(4): 1350-1355.
15. Kisiala M, Kowalska M, Pastor M, Korza HJ, Czapinska H, Bochtler M. Restriction endonucleases that cleave RNA/DNA heteroduplexes bind dsDNA in A-like conformation. Nucleic Acids Res 2020; 48(12): 6954-6969.
16. Miljkovic M, Malesevic M, Filipic B, Vukotic G, Kojic M. LraI from *Lactococcus raffinolactis* BGTRK10-1, an Isoschizomer of EcoRI, exhibits ion concentration-dependent specific star activity. BioMed Res Int 2018; 2018: 5657085.
17. Yang ZH, Huang JX, Yao YJ. Autoscreening of restriction endonucleases for PCR-restriction fragment length polymorphism identification of fungal species, with Pleurotus spp. as an example. Appl Environ Microbiol 2007; 73(24): 7947-58.
18. Jenkins G, Suzen H, Sueiro R, Parry J. The restriction site mutation assay: a review of the methodology development and the current status of the technique. Mutagenesis 1999; 14(5): 439-348.
19. Chaudhary R, Kumar G. Restriction fragment length polymorphism. Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior. Mumbai: Vonk, J, Shackelford, TK. 2019.
20. Kupsch C, Ohst T, Pankewitz F, Nenoff P, Uhrlaß S, Winter I, et al. The agony of choice in dermatophyte diagnostics—performance of different molecular tests and culture in the detection of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale*. Clin Microbiol

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

Infect 2016; 22(8): 735. e11- e17.

21. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, et al. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. Mycopathologia 2017; 182: 5-31.
22. Gordon AK, McIver C, Kim M, Murrell DF, Taylor P. Clinical application of a molecular assay for the detection of dermatophytosis and a novel non-invasive sampling technique. Pathology 2016; 48(7): 720-726.
23. Abastabar M, Jedi A, Guillot J, Ilkit M, Eidi S, Hedayati MT, et al. In vitro activities of 15 antifungal drugs against a large collection of clinical isolates of *Microsporum canis*. Mycoses 2019; 62(11): 1069-1078.
24. Hainer BL. Dermatophyte infections. Am Fam Physician 2003; 67(1): 101-108.
25. De Baere T, Summerbell R, Theelen B, Boekhout T, Vaneechoutte M. Evaluation of internal transcribed spacer 2-RFLP analysis for the identification of dermatophytes. J Med Microbiol 2010; 59(1): 48-54.
26. Rezaei-Matehkolaei A, Makimura K, Shidfar M, Zaini F, Eshraghian M, Jalalizand N, et al. Use of single-enzyme PCR-restriction digestion barcode targeting the internal transcribed spacers (ITS rDNA) to identify dermatophyte species. Iran J Public Health 2012; 41(3): 82-94 (Persian).
27. Abastabar M, Mirhendi H, Rezaei-Matehkolaei A, Shidfar MR, Kordbacheh P, Makimura K. Restriction analysis of β-tubulin gene for differentiation of the common pathogenic dermatophytes. J Clin Lab Anal 2014; 28(2): 91-96.
28. Rodrigues AM, Della Terra PP, Gremião ID, Pereira SA, Orofino-Costa R, de Camargo ZP. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. Mycopathologia 2020; 185: 813-842.
29. Cruz Choappa RM, Vieille Oyarzo PI, Carvajal Silva LC. Isolation of *Sporothrix pallida* complex in clinical and environmental samples from Chile. Rev Argent Microbiol 2014; 46(4): 311-314.
30. Boechat JS, Oliveira MME, Gremião IDF, Almeida-Paes R, Machado ACdS, Zancopé-Oliveira RM, et al. *Sporothrix brasiliensis* and feline sporotrichosis in the metropolitan region of Rio de Janeiro, Brazil (1998–2018). J Fungi 2022; 8(7): 749.
31. Kawasaki M, Anzawa K, Mochizuki T, Ishizaki H. New strain typing method with *Sporothrix schenckii* using mitochondrial DNA and polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR–RFLP) technique. J Dermatol 2012; 39(4): 362-365.
32. Ishizaki H, Kawasaki M, Anzawa K, Mochizuki T, Chakrabarti A, Ungpakorn R, et al. Mitochondrial DNA analysis of *Sporothrix schenckii* in India, Thailand, Brazil, Colombia, Guatemala and Mexico. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 2009; 50(1): 19-26.
33. Montenegro H, Rodrigues AM, Dias MAG, da Silva EA, Bernardi F, de Camargo ZP. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. BMC Veterinary Research 2014; 10(1): 269.
34. Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP. Genotyping species of the *Sporothrix schenckii* complex by PCR-RFLP of calmodulin. Diagn Microbiol Infect Dis 2014; 78(4): 383-387.
35. Rodrigues AM, Gonçalves SS, de Carvalho JA, Borba-Santos LP, Rozental S, Camargo ZPd. Current progress on epidemiology, diagnosis, and treatment of sporotrichosis and their future trends. J Fungi 2022; 8(8): 776.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

36. Rodrigues AM, Orofino-Costa R, de Camargo ZP. Pocket guide to mycological diagnosis. 1st ed. 2019; 15.
37. Slater GSC, Birney E. Automated generation of heuristics for biological sequence comparison. BMC Bioinformatics 2005;6:31.
38. Udagawa S. Neosartorya hiratsukae, a new species of food-borne Ascomycetes. Trans Mycol Soc Japan 1991; 32: 23-29.
39. Geiser D, Klich M, Frisvad JC, Peterson S, Varga J, Samson RA. The current status of species recognition and identification in *Aspergillus*. Stud Mycol 2007; 59(1): 1-10.
40. Balajee S, Houbraken J, Verweij P, Hong S, Yaghuchi T, Varga J, et al. *Aspergillus* species identification in the clinical setting. Stud Mycol 2007; 59(1): 39-46.
41. Abastabar M, Hosseini T, Valadan R, Lagzian M, Haghani I, Aslani N, et al. Novel point mutations in cyp51A and cyp51B genes associated with itraconazole and posaconazole resistance in *Aspergillus clavatus* isolates. Microb Drug Resist 2019; 25(5): 652-662.
42. Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CH, et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. Stud Mycol 2014; 78(1): 141-173.
43. Nasri T, Hedayati MT, Abastabar M, Pasqualotto AC, Armaki MT, Hoseinnejad A, et al. PCR-RFLP on β-tubulin gene for rapid identification of the most clinically important species of *Aspergillus*. J Microbiol Methods 2015; 117: 144-147.
44. Rudramurthy SM, Paul RA, Chakrabarti A, Mouton JW, Meis JF. Invasive aspergillosis by *Aspergillus flavus*: epidemiology, diagnosis, antifungal resistance, and management. J Fungi 2019; 5(3): 55.
45. Navale V, Vamkudoth KR, Ajmera S, Dhuri V. *Aspergillus* derived mycotoxins in food and the environment: Prevalence, detection, and toxicity. Toxicol Rep 2021; 8: 1008-1030.
46. Schwetz I, Horina J, Buzina W, Roob J, Olschewski H, Krause R. *Aspergillus oryzae* peritonitis in CAPD: case report and review of the literature. Am J kidney Dis 2007; 49(5): 701-704.
47. Abastabar M, Shabanzadeh S, Valadan R, Mayahi S, Haghani I, Khojasteh S, et al. Development of RFLP method for rapid differentiation of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae*, two species with high importance in clinical and food microbiology. J Mycol Med 2022; 32(3): 101274.
48. Chakrabarti A, Das A, Mandal J, Shivaprakash M, George VK, Tarai B, et al. The rising trend of invasive zygomycosis in patients with uncontrolled diabetes mellitus. Med Mycol 2006; 44(4): 335-342.
49. Lackner M, Caramalho R, Lass-Flörl C. Laboratory diagnosis of mucormycosis: current status and future perspectives. Future Microbiol 2014; 9(5): 683-695.
50. Cornely OA, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D, Chen SC, Dannaoui E, Hochhegger B, et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. Lancet Infect Dis 2019; 19(12): e405-e421.
51. Skiada A, Lass-Floerl C, Klimko N, Ibrahim A, Roilides E, Petrikkos G. Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. Med Mycol 2018; 56(suppl_1): S93-S101.
52. Lass-Flörl C, Mayr A. Diagnosing invasive fungal diseases–limitations of microbiological diagnostic methods. Expert Opin Med Diagn 2009; 3(4): 461-470.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

53. Zaman K, Rudramurthy SM, Das A, Panda N, Honnavar P, Kaur H, et al. Molecular diagnosis of rhino-orbito-cerebral mucormycosis from fresh tissue samples. J Med Microbiol 2017; 66(8): 1124-1129.
54. Kachuei R, Yadegari MH, Safaie N, Ghiasian A, Noorbakhsh F, Piranfar V, et al. PCR-RFLP patterns for the differentiation of the *Fusarium* species in virtue of ITS rDNA. Curr Med Mycol 2015; 1(1): 4-11.
55. Nucci M, Anaissie E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. Clin Microbiol Rev 2007; 20(4): 695-704.
56. Amadasi S, Pelliccioli GF, Colombini P, Bonomini A, Farina C, Pietrantonio F, et al. Contact lens-related *Fusarium* keratitis: a case report. Infez Med 2017; 25(2): 166-168.
57. Abastabar M, Haghani I, Shokohi T, Hedayati MT, Aghili SR, Jedi A, et al. Low in vitro antifungal activity of tavaborole against yeasts and molds from onychomycosis. Antimicrob Agents Chemother 2018; 62(12): e01632-18.
58. Van Diepeningen AD, Al-Hatmi AM, Brankovics B, de Hoog GS. Taxonomy and clinical spectra of *Fusarium* species: where do we stand in 2014? Current Clinical Microbiology Reports 2014; 1: 10-18.
59. Salah H, Al-Hatmi AM, Theelen B, Abukamar M, Hashim S, Van Diepeningen AD, et al. Phylogenetic diversity of human pathogenic *Fusarium* and emergence of uncommon virulent species. J Infect 2015; 71(6): 658-666.
60. Nucci M, Barreiros G, Akiti T, Anaissie E, Nouér SA. Invasive fusariosis in patients with hematologic diseases. Journal of Fungi 2021; 7(10): 815.
61. Van Diepeningen AD, Brankovics B, Iltes J, Van der Lee TA, Waalwijk C. Diagnosis of *Fusarium* infections: approaches to identification by the clinical mycology laboratory. Curr Fungal Infect Rep 2015; 9(3): 135-143.
62. Zarrin M, Ganj F, Faramarzi S. Analysis of the rDNA internal transcribed spacer region of the *Fusarium* species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. Biomedical Reports 2016; 4(4): 471-474.
63. Mirete S, Patiño B, Jurado M, Vázquez C, González-Jaén MT. Structural variation and dynamics of the nuclear ribosomal intergenic spacer region in key members of the *Gibberella fujikuroi* species complex. Genome 2013; 56(4): 205-213.
64. O'Donnell K, Sutton DA, Fothergill A, McCarthy D, Rinaldi MG, Brandt ME, et al. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. J Clin Microbiol 2008; 46(8): 2477-2490.
65. Balajee S, Borman A, Brandt M, Cano J, Cuenca-Estrella M, Dannaoui E, et al. Sequence-based identification of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Mucorales* species in the clinical mycology laboratory: where are we and where should we go from here? J Clin Microbiol 2009; 47(4): 877-884.
66. Nosratabadi M, Kachuei R, Rezaie S, Harchegani AB. Beta-tubulin gene in the differentiation of *Fusarium* species by PCR-RFLP analysis. Infez Med 2018; 26(1): 52-60.
67. Mirhendi H, Ghiasian A, Vismer H, ASGARI M, Jalalizand N, Arendrup M, et al. Preliminary identification and typing of pathogenic and toxigenic *Fusarium* species using restriction digestion of ITS1-5.8 S rDNA-ITS2 region. Iranian Journal of Public Health 2010; 39(4).
68. Hennequin C, Abachin E, Symoens F, Lavarde V, Reboux G, Nolard N, et al.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

Identification of *Fusarium* species involved in human infections by 28S rRNA gene sequencing. J Clin Microbiol 1999; 37(11): 3586-3589.

69. Sadrossadati SZ, Ghahri M, Fooladi AAI, Sayyahfar S, Beyraghi S, Baseri Z. Phenotypic and genotypic characterization of *Candida* species isolated from candideamia in Iran. Curr Med Mycol 2018; 4(2): 14-20.
70. Ambaraghassi G, Dufresne PJ, Dufresne SF, Vallières É, Muñoz JF, Cuomo CA, et al. Identification of *Candida auris* by use of the updated Vitek 2 yeast identification system, version 8.01: a multilaboratory evaluation study. J Clin Microbiol 2019; 57(11): e00884-19.
71. Brilhante RSN, Sales JA, da Silva MLQ, de Oliveira JS, Pereira LdA, Pereira-Neto WA, et al. Antifungal susceptibility and virulence of *Candida parapsilosis* species complex: an overview of their pathogenic potential. J Med Microbiol 2018; 67(7): 903-914.
72. Ortiz B, Pérez-Alemán E, Galo C, Fontecha G. Molecular identification of *Candida* species from urinary infections in Honduras. Revista Iberoamericana de Micologia. 2018; 35(2): 73-77.
73. Bineshian F, Yadegari MH, Sharifi Z, Eidgahi MA, Nasr R. Identification of *Candida* species using MP65 gene and evaluation of the *Candida albicans* MP65 gene expression in BALB/C Mice. Jundishapur Journal of Microbiology 2015; 8(5): e18984.
74. Hazirolan G, Altun H, Gumral R, Gursoy N, Otlu B, Sancak B. Prevalence of *Candida africana* and *Candida dubliniensis*, in vulvovaginal candidiasis: First Turkish *Candida africana* isolates from vulvovaginal candidiasis. J Mycol Med 2017; 27(3): 376-381.
75. Hu Y, Yu A, Chen X, Wang G, Feng X. Molecular characterization of *Candida africana* in genital specimens in Shanghai, China. BioMed Res Int 2015; 2015: 185387.
76. Romeo O, Criseo G. Molecular epidemiology of *Candida albicans* and its closely related yeasts *Candida dubliniensis* and *Candida* africana. J Clin Microbiol 2009; 47(1): 212-214.
77. Fontecha G, Montes K, Ortiz B, Galindo C, Braham S. Identification of cryptic species of four *Candida* complexes in a culture collection. J Fungi 2019; 5(4): 117.
78. Sasani E, Rafat Z, Ashrafi K, Salimi Y, Zandi M, Soltani S, et al. Vulvovaginal candidiasis in Iran: A systematic review and meta-analysis on the epidemiology, clinical manifestations, demographic characteristics, risk factors, etiologic agents and laboratory diagnosis. Microb Pathog 2021; 154: 104802.
79. Pakshir K, Yazdani M, Kimiaghalam R. Etiology of vaginal candidiasis in Shiraz, Southern Iran. Research Journal of Microbiology 2007; 2(9): 696-700.
80. Azar MM, Malo J, Hage CA. Endemic fungi presenting as community-acquired pneumonia: a review. Semin Respir Crit Care Med 2020; 41(4): 522-537.
81. Rautemaa-Richardson R, Richardson MD. Systemic fungal infections. Medicine 2017; 45(12): 757-762.
82. Wickes BL, Wiederhold NP. Molecular diagnostics in medical mycology. Nature Communications 2018; 9(1): 5135.
83. Szekely J, Chelae S, Ingviya N, Rukchang W, Auepemkiate S, Aiempanakit K. Universal Multiplex Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (UMPCR-RFLP) for rapid detection and species identification of fungal

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

and mycobacterial pathogens. Walailak Journal of Science and Technology 2020; 17(10): 1113-1125.

84. Roberto TN, Rodrigues AM, Hahn RC, de Camargo ZP. Identifying *Paracoccidioides* phylogenetic species by PCR-RFLP of the alpha-tubulin gene. Med Mycol 2015; 54(3): 240-247.
85. Zimmermann CR, Snedker CJ, Pappagianis D. Characterization of *Coccidioides immitis* isolates by restriction fragment length polymorphisms. J Clin Microbiol 1994; 32(12): 3040-3042.
86. Jung HJ, Kim SY, Jung JW, Park HJ, Lee YW, Choe YB, et al. Identification of dermatophytes by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of metalloproteinase-1. Ann Dermatol 2014; 26(3): 338-342.
87. Villanueva da Fonseca LA, Santos Araújo MA, Wanderlei Silva DM, De Albuquerque Maranhão FC. ITS-RFLP optimization for dermatophyte identification from clinical sources in Alagoas (Brazil) versus phenotypic methods. J Infect Dev Ctries 2022; 16(11): 1773-1777.
88. Elavarashi E, Kindo AJ, Kalyani J. Optimization of PCR—RFLP directly from the skin and nails in cases of dermatophytosis, targeting the ITS and the 18S ribosomal DNA regions. J Clin Diagn Res 2013; 7(4): 646-651.
89. Endrawati D, Kusumaningtyas E. Molecular profile of *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporum canis* based on PCR-RFLP of internal transcribed spacer. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner 2021; 26(1): 10-21.
90. Salehi Z, Shams-Ghahfarokhi M, Razzaghi-Abyaneh M. Internal Transcribed Spacer rDNA and TEF-1α Gene Sequencing of Pathogenic Dermatophyte Species and Differentiation of Closely Related Species Using PCR-RFLP of The Topoisomerase II. Cell J 2020; 22(1): 85-91.
91. Batvandi A, Pchelin IM, Kiasat N, Kharazi M, Mohammadi R, Zomorodian K, et al. Time and cost-efficient identification of *Trichophyton indotineae*. Mycoses 2023; 66(1): 75-81.
92. Ahmad AM. Identification of Dermatophyte Species by PCR Restriction Fragment Length Polymorphism in Ramallah region, Palestine. Al-Quds Journal for Natural Sciences 2022; 1(2).
93. Mochizuki H, Anzawa K, Mochizuki T. Genotyping of intraspecies polymorphisms of *Sporothrix globosa* using partial sequence of mitochondrial DNA. J Dermatol 2022; 49(2): 263-271.
94. Çulha G, DoĞramaci AÇ, Hakverdi S, SeÇİntİ İE, AslantaŞ Ö, Çelİk E, et al. The investigation of the association of cutaneous leishmaniasis in biopsy specimens of the patients with granulomatous disease and skin cancer using the molecular method. Iran J Parasitol 2020; 15(3): 307-314.
95. Moudgal S, Rao SO, Pai MO. Mucormycosis: A comparative update between conventional and molecular diagnosis strategies. Curr Med Mycol 2022; 8(1): 44-53.
96. Hafez M, Abdelmagid A, Adam LR, Daayf F. Specific detection and identification of *Fusarium graminearum* sensu stricto using a PCR-RFLP tool and specific primers targeting the translational elongation factor 1α gene. Plant Dis 2020; 104(4): 1076-1086.
97. Kim JS, Kang NJ, Kwak YS, Lee C. Investigation of genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. fragariae using PCR-RFLP. Plant Pathol J 2017; 33(2): 140-147.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

98. Moazeni M, Nabili M. Identification of *Candida* Species Isolated from Hospitalized Patients with Candiduria. Medical Laboratory Journal 2022; 16(2): 13-20.

99. Shirvani F, Fattahi M. Molecular identification of *Candida* species isolated from candiduria and its risk factors in neonates and children. Curr Med Mycol 2021; 7(3): 9-12.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]