Multiplex PCR

شناختی گونه‌های کاندیدا جدا شده از موارد ولوواژینت کاندیدایی به روش multiplex PCR

چکیده

قلمه مقدمه

ولوواژینت کاندیدایی vulvovaginal candidiasis قارچی است که با علائمی نظیر خارش و ترشحات غلاف سفید رنگ مشخص می‌شود. این بیماری در توده کاندیدایی با چاپریل (220-700 عنصری) باید به طور کلی دانسته شود. باید توجه داشت که ثبت گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata در این بیماری با روشنایی که در این بیماری از آن‌ها باعث شده که این گونه‌ها قادر باشند رشد آلبیکس و سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس را تا حدی کاهش دهند. در علاوه به اینکه Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غیر آلبیکس نسبت به Candida krusei و Candida glabrata به سایر گونه‌های کاندیدایی غ
واکنش‌های پیوسته‌ای و زیستروپترکی‌ی صورت می‌گرفت. این روش‌های کلاسیک، بسیار پر رحمت و وقت‌گیر هستند و چندین روز طول می‌کشد تا این‌گونه یک کشت شناسایی گردد. در ضمن گاهی، نتایج پیوسته‌ای این‌گونه را اشباه تشخیص می‌دهد. در مقایسه، روش‌های مولکولی که در سال‌های اخیر جایگزین روش‌های قبلی شده‌اند، بهترین روش از یک ژن توالی‌دار PCR که مولکولی تنظیم‌های مولکولی نشان‌دهنده باشد، شناسایی گونه‌های کادانی‌سی یافت. 

Randomly Amplified Polymorphic DNA analysis (RAPD) آسان و مطمئن برای شناسایی جنس این ژن اورشله و مواد غذایی و نمونه‌های باینی نظر گونه‌های Candida به کار رفته است. و این روش که برای تشخیص و تشخیص ژن سازی شده است، با PCR و Multiplex PCR و یک روش سه‌فازه، سریع و تکرارشونده استفاده می‌شود.

شناختن گونه‌های کادانی‌سی و مقایسه آنها در موارد و لولوپاتی‌های کادانی‌سی را داشته باشیم که جزئی از که ادبیات بیشتر نیست در بخش‌های مربوط به استفاده، در این روش به ترتیب برای تشخیص گونه‌های کادانی‌سی آن‌که در شناسایی و تشخیص گونه‌های کادانی‌سی استفاده می‌شود، از ITS1 و ITS2 استفاده می‌شود. این طرح در این روش با PCR و ITS1 و ITS2 و کادانی‌سی CA4 و CA3، به همراه PCR و ITS1 استفاده می‌شود که در این حالت دان برای تشخیص گونه کادانی‌سی آلیانس و نهایتاً یک چهار گونه کادانی‌سی برپایه می‌شود. سپس PCR و ITS1 و ITS2 و کادانی‌سی CA4 و CA3 استفاده می‌شود که در این حالت دان برای تشخیص گونه کادانی‌سی آلیانس و نهایتاً یک چهار گونه کادانی‌سی برپایه می‌شود.
میکرویولت از هر بیمار با آب مفرط به حجم 50 میکرویولت رسانده شد که در هر میزان چهار میکرویولت از این ترکیب به مخلوط واکنش اضافه کردید. حجم مخلوط واکنشی بعد از افزودن بیمارها و DNA و نمونه‌ها با آب دیزیکس به 20 میکرویولت رسانده و Eppendorf میکرویولتهای برای تکثیر در داخل دستگاه DNA Multiplex PCR QIAquick PCR purification kit می‌باشد. نمونههای با دمای جایگزین‌هایی با دمای 94C به متریکرتیشن داناتواسیون اولیه، 35 سیکل شامل: یک دقیقه با دمای 94C برای داناتواسیون، یک دقیقه در دمای 60C برای اتصال بیمارها و یک دقیقه در دمای 72C پلیمریژاسیون توسط Taq پلیمراز و در نهایت یک سیکل پنج دقیقه با دمای 72C برای پلیمریژاسیون نهایی صورت گرفت. محصولات کروتو و آندیرومتری UV روند آزموری شدند. سپس با کاهش روزه زنل، تحت اشعه UV (UVdoc, GAS9000, England) داده‌گیری شد.

عکس برداری شد. واندیده با نرم‌افزار انتداره‌گیری شد.

### یافته‌ها

نمونه‌های استخراج شده DNA با استفاده از multiplex PCR و پس از اکتیفیو جدا شدند و به دست آمده: از این مطالعه 175 نمونه می‌باشد که وانیده با ویروس وایولتزاین کاندیدایی

| نوع قطعه | تعداد در مجموع | تعداد غیر راجع | تعداد راجع | تعداد نمونه‌های ویروس وایولتزاین کاندیدایی |
|----------|-----------------|--------------|------------|-----------------------------------|
| Candida albicans | 509 (60%) | 259 | 250 | 250 |
| Candida glabrata | 127 (15%) | 63 | 64 | 64 |
| Candida tropicalis | 82 (10%) | 41 | 41 | 41 |
| C. krusei | 82 (10%) | 41 | 41 | 41 |
| C. parapsilosis | 82 (10%) | 41 | 41 | 41 |
| C. glabrata C. tropicalis | 82 (10%) | 41 | 41 | 41 |
| C. albicans C. parapsilosis | 82 (10%) | 41 | 41 | 41 |

در این مطالعه از 254 بیمار دارای علائم ولولواژن کاندیدایی نمونه‌گیری شد. عددهای از بیماران با علت آلودگی شدید نمونه کشت

### بیان

در این مطالعه از 254 بیمار دارای علائم ولولواژن کاندیدایی نمونه‌گیری شد. عددهای از بیماران با علت آلودگی شدید نمونه کشت.
بهشتیان و شاکری (2011) گزارش کردند که از انواع مختلفی از کاندیدا از جمله C. glabrata، C. albicans و C. parapsilosis بهره بندی می‌کنند.

با توجه به متغیرهای این مطالعه، این مطالعه نشان می‌دهد که در مورد بیماری کاندیداسی، شایعترین ادویه درمانی بودن می‌باشد.

با توجه به این نتایج، بهتر است که پزشکان و بیماران به خاطر این احتمالات به پاسخگویی به آن‌ها بپردازند و به‌طوری که در مورد بیماری‌های جلیقه‌ای، بهتر است که به پاسخگویی به آن‌ها بپردازند. در این مقاله، قواعد جدیدی برای تشخیص این بیماری‌ها و درمان آن‌ها مطرح شده است.

References

1. MacNeill C, Carey J. Recurrent vulvovaginal candidiasis. Curr Women's Health Rep 2001;1(1):31-5.
2. Nyirjesy P. Chronic vulvovaginal candidiasis. Am Fam Physician 2001;63(4):97-7.92.
3. Kunzelmann V, Tietz HJ, Rossner D, Czaika V, Hopp M, Schmalreck A, et al. Prerequisites for effective therapy of chronic recurrent vaginal candidiasis. Mycoses 1996;39 Suppl 1:65-72.
4. Handa VL, Stice CW. Fungal culture findings in cyelic vulvitis. Obstet Gynecol 2000;96(2):301-3.

5. Pfäffer MA, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN, Doern GV, Brandt ME, et al. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of Candida species in the United States. Diag Microbiol Infect Dis 1999;34(4):217-22.
6. Warren NG, Hazen KC. Candida, Cryptococcus, and other yeasts of medical importance. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, editors. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology (ASM) Press; 1999. p. 1184-99.

مجله ناشی‌کننده: پژوهشکده محیط زیست پزشکی، شماره ۶۷، شماره ۴، ۱۳۹۴.
Multiplex PCR method in identification of Candida species of vulvovaginal candidiasis

7. Dooley DP, Beckius ML, Jeffrey BS. Misidentification of yeast species in positive blood cultures by using internal transcribed spacer 1 and 2 regions for rapid detection and identification of yeast strains. J Clin Microbiol 2001;39(10):3617-22.

8. Fan SR, Liu XP, Li JW. Clinical characteristics of vulvovaginal candidiasis and antifungal susceptibilities of Candida species isolated among patients in southern China from 2003 to 2006. J Obstet Gynaecol Res 2008;34(4):561-6.

9. Richter SS, Galask RP, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaffer MA. Antifungal susceptibilities of Candida species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbiol 2005;43(5):2155-62.

10. Willinger B, Manafi M. Evaluation of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for Candida species. Mycoses 1999;42(1-2):61-5.

11. Kunzelmann V, Tietz HJ, Rossner D, Czaika V, Hopp M, Schmalruck A, et al. Prerequisites for effective therapy of chronic recurrent vaginal candidiasis. Mycoses 1996;39 Suppl:1597-72.

12. Abu-Elsein KH. Increased incidence of vulvovaginal candidiasis caused by Candida glabrata in Jordan. Jpn J Infect Dis 2001;54(3):103-7.

13. Fleury FJ. Adult vaginitis. Clin Obstet Gynecol 1981;24(2):407-38.

14. Goldacre MJ, Watt B, Loudon N, Milne LJ, Loudon JD, Vessey MP. Vaginal microbial flora in normal young women. Br Med J 1979;1(6176):1450-3.

15. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. J Clin Microbiol 1994;32(8):1923-9.

16. Padua RAF, Guiltneretti E, Svizdinski TIE. In vitro activity of antifungal agents on yeasts isolated from vaginal secretion. Maringa 2003;25(1):51-4.

17. Pfaffer MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. In vitro susceptibilities of clinical isolates of Candida species, Cryptococcus neoformans, and Aspergillus species to itraconazole: global survey of 3,359 isolates tested by clinical and laboratory standards institute broth microdilution methods. J Clin Microbiol 2005;43(8):3807-10.

18. Arzini D, Del Poeta M, Simonetti O, Offidani AM, Lamara L, Baldacci M, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of vaginal yeasts in outpatients attending a gynecological center in Ancona, Italy. Eur J Epidemiol 1997;13(4):447-50.

19. Houang ET, Chu KC, Koehler AP, Cheng AF. Use of CHROMagar Candida for genital specimens in the diagnostic laboratory. J Clin Pathol 1997;50(7):563-5.

20. Ahmad A, Khan AU. Prevalence of Candida species and potential risk factors for vulvovaginal candidiasis in Aligarh, India. Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol 2009;144(1):68-71.

21. Vermitsky JP, Self MJ, Chadwick SG, Trama JP, Adelson ME, Ahmad A, et al. Survey of vaginal flora Candida species in women from different age groups by use of species-specific PCR detection. J Clin Microbiol 2008;46(4):1501-3.

22. Thanos M, Schönian G, Meyer W, Schwynen C, Graser Y, Mitchell TG, et al. Rapid identification of Candida species by DNA fingerprinting with PCR. J Clin Microbiol 1996;34(3):615-21.

23. Tietz HJ, Küssner A, Thanos M, De Andrade MP, Pispers W, Schönian G. Phenotypic and genotypic characterization of unusual vaginal isolates of Candida albicans from Africa. J Clin Microbiol 1995;33(9):2462-5.

24. Chang HC, Leaw SN, Huang AH, Wu TL, Chang TC. Rapid identification of yeasts in positive blood cultures by a multiplex PCR method. J Clin Microbiol 2001;39(10):3466-71.
Identification of Candida species associated with vulvovaginal candidiasis by Multiplex PCR method

Mahmoudi Rad M.1*
Zafarghandi AS.2
Amel Zabihi M.2
Mirdamadi Y.3
Rahbarian N.1
Abbasabadi B.2
Shivaei M.2
Amiri Z.4
1- Cellular and Molecular Biology Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences
2- Department of Gynecology, Obstetrics and Infertility, Mahdieh Hospital, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences
3- Department of Biology, Khatam University
4- Department of Basic Sciences, Nutrition School, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences

Abstract

Background: Vulvovaginal candidiasis is a fungal disease with itching, and vaginal thick white discharge. Most of non-albicans species have less sensitivity to azoles. So, definition of candida species which lead to vulvovaginal candidiasis is very important to perfect usage of drugs. In the present study 191 Candida isolates from 175 patients who admitted in Gynecology department of Mahdieh Hospital during the period 1385-1387 were identified by multiplex PCR.

Methods: One hundred seventy five vaginal swab specimens from patients were cultured on Sabouraud Dextrose Agar (SDA). The internal transcribed spacer 1 (ITS1) region between the 18S and 5.8S rRNA genes and a specific DNA fragment within the ITS2 region of Candida albicans were amplified and the multiplex PCR products were separated by electrophoresis in 2% agarose gel (200 mA, 140V), visualized by staining with ethidium bromide, and photographed.

Results: One hundred ninety one Candida isolates were identified in vaginal swab specimens from 175 patients. In 89.7% of cases, single candida species and in 10.3% cases, multiple candida species were isolated. C. albicans (65.1%), C. glabrata (13.1%), C. tropicalis (6.2%), C. krusei (4%), C. guilliermondii (0.6%), C. parapsilosis (0.6%), C. glabrata and C. albicans (5.7%), C. albicans and C. parapsilosis (1.1%), C. glabrata and C. tropicalis (0.6%), C. krusei and C. tropicalis (0.6%), C. albicans and C. tropicalis (0.6%), C. krusei and C. albicans (0.6%), C. glabrata and C. krusei (0.6%), and C. glabrata and C. krusei and C. albicans (0.6%) were the cause of disease.

Conclusion: Our findings suggest that, the common cause of both recurrent and non-recurrent vulvovaginal candidiasis was C. albicans, and then C. glabrata. Also the most common mixtures of Candida species were combination of them.

Keywords: Candida, vulvovaginal candidiasis, polymerase chain reaction.