



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته قارچ شناسی پزشکی

عنوان:

شناسایی مولکولی گونه های کاندیدای جدا شده از افراد HIV / ایدز و
افراد HIV منفی با روش Real time PCR - High Resolution Melting Analysis

توسط:

اسماعیل اقتدارنژاد

اساتید راهنما:

دکتر سمیرا سالاری | دکتر پویا قاسمی نژاد

سال تحصیلی (مهر ۹۸)

شماره پایان نامه : (۵۶۰)



بسمه تعالی

تاریخ: ۹۸.۷.۳۰

شماره: ۹۸۳۰۵۶

کد اخلاق: ۱۳۹۹۲۱

صور تجلسه دفاع از پایان نامه

دانشگاه علوم پزشکی کرمان
تحصیلات تکمیلی دانشگاه

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی آقای اسماعیل اقتدار نژاد دانشجوی کارشناسی ارشد رشته قارچ شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " شناسایی ملکولی گونه های کاندیدای جدا شده از افراد متاثر از اج آی وی و افراد سالم با روش Real time PCR _High Resolution Melting Analysis " در ساعت ۹ روز چهارشنبه مورخ ۹۸/۷/۳ حضور اعضای محترم هیات داوران
مشکل از:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضا
الف: استادان راهنما	سرکار خانم دکتر سمیرا سلاری جناب آقای دکتر پویا قاسمی	
ب: استادان مشاور	
ج: عضو هیات داوران (داخلی)	جناب آقای دکتر ناصر ضیا علی	
د: عضو هیات داوران (خارجی)	جناب آقای دکتر محمد هادی نعمت الهی	
ه: نماینده تحصیلات تکمیلی	سرکار خانم دکتر ستاره آقا کوچک افشاری	

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه عالی و نمره ۱۹.۵ مورد تأیید قرار گرفت.

دانشگاه علوم پزشکی کرمان
دانشکده پزشکی افضلی پور

چکیده فارسی

مقدمه: گونه های کانیدها مهمترین علت قارچ های فرصت طلب هستند. با توجه به الگوهای مختلف مقاومت آنتی بیوتیکی در گونه های مختلف کانیدها، روش های معتبر و سریع برای شناسایی و اندازه گیری آنها مورد نیاز است. High resolution melting Analysis (HRMA) یک روش جدید برای تشخیص سریع عفونتهای قارچی است. فیلوژنی مولکولی برای شناخت بهتر گونه کانیدها و تشخیص گونه های کانیدها ضروری است. هدف از این مطالعه شناسایی مولکولی کانیدها جدا شده از بیماران HIV / AIDS و افراد HIV منفی با استفاده از روش HRM و بررسی تنوع ژنتیکی گونه های کانیدها بود.

روش کار: در این مطالعه، ۱۱۱ ایزوله کانیدها جدا شده از بیماران HIV/AIDS و ۱۲۱ ایزوله کانیدها جدا شده از افراد HIV منفی با استفاده از روش Real-Time PCR و آنالیز منحنی High resolution melting شناسایی شدند. علاوه بر این، از ۹ نمونه برای تعیین تنوع ژنتیکی استفاده شد.

نتایج: در بیماران AIDS/HIV شش گونه از گونه های کانیدها شناسایی شدند که شامل ۶۴ کانیدها آلبیکنس (۷/۵۷٪)، ۱ کفیر (۹/۰٪)، ۳۱ ک. گلابراتا (۲۷/۹۲٪)، ۲ ک. کروزه ای (۱/۸٪)، ۴ ک. تروپیکالیس (۳/۶٪) و ۹ ک. پاراپسیلوزیس (۸/۱٪). در افراد HIV منفی، هشت گونه کانیدها مختلف شامل ۴۶ کانیدها آلبیکنس (۳۸/۳۳٪) و ۱۸ کانیدها گلابراتا (۱۵٪)، ۱۷ ک. کروزه ای (۱۴/۱۶٪)، ۱۳ ک. تروپیکالیس (۱۰/۸۳٪)، ۱۲ ک. لوزیتانیا (۱٪)، ۱۰ ک. پاراپسیلوزیس (۸/۳٪) و ۲ ک. کفیر و ۲ کانیدها گیلرموندی (۱/۶۶٪) شناسایی شد. نتایج فیلوژنی نشان داد که دو Clade اصلی و شش Subclade مجزا وجود دارد. ۸۸/۹٪ از جدایه ها در Clade 1 و ۱۱/۱۱٪ از جدایه های مورد مطالعه در Clade 2 بودند.

نتیجه گیری: روش HRM روشی قابل اعتماد و ساده برای تعیین گونه های مهم کانیدها می باشد و باید به عنوان یک روش تشخیصی در نظر گرفته شود.

کلمات کلیدی: گونه های کانیدها، High resolution melting، افراد HIV/AIDS، افراد HIV منفی،

فیلوژنی

Abstract

Background and objective: *Candida* species are the most important cause of opportunistic mycoses. Due to different antimycotic resistance patterns in various *Candida* spp, reliable and fast techniques for their identification and quantification are needed. Real-time PCR followed by high resolution melting analysis (HRMA) is a novel approach for rapid diagnosis of fungal infections. Molecular phylogeny is essential to better recognition the evolution of the genus *Candida* and detection of the relative degree of *Candida* species. The purpose of this study was molecular identification of *Candida* isolates obtained from HIV/AIDS patients and HIV negative persons by Real time PCR- High Resolution Melting Analysis and investigation of the genetic diversity of *Candida* species.

Materials and Methods: In this study, 111 *Candida* isolates from HIV/AIDS patients and 121 *Candida* isolates obtained HIV-negative persons were identified by Real-Time PCR and high resolution melting curve analysis. In addition, 9 samples were used for the determination of genetic diversity.

Results: In HIV/AIDS patients identified Six species of *Candida* spp included 64 *C. albicans* (57.7%), 1 *C. kefyr* (0.90%), 31 *C. glabrata* (27.92%), 2 *C. krusei* (1.8%), 4 *C. tropicalis* (3.6%), and 9 *C. parapsilosis* (8.1%). In HIV-negative persons, identified *Candida* were eight different species included 46 *C. albicans* (38.33%) followed by 18 *C. glabrata* (15%), 17 *C. krusei* (14.16%) , 13 *C. tropicalis* (10.83%), 12 *C. lusitaniae* (1%), 10 *C. parapsilosis* (8.3%) and 2 *C. kefyr* and 2 *C. guilliermondi* (1.66%). The results of phylogenetic analysis showed that

there were two main clades and six separate subclades. About 88.9% of the isolates were located in clade I and 11.10% of the studied isolates was in clade II.

Conclusion: HRM is a reliable and simple approach for identifying important *Candida* species. It should be considered as a diagnostic method.

Keyword: *Candida* spp, High resolution melting, HIV/AIDS, HIV-negative persons, phylogeny



**Kerman University
of Medical Sciences**

Faculty of Medicine

Master's Degree in Medical Mycology

Title:

**Molecular identification of *Candida* species isolated From affected by HIV and HIV-
negative persons using Real time PCR - High Resolution Melting Analysis**

By:

Esmail Eghtedar Nejad

Supervisors:

1-Dr. Samira Salari | 2- Dr. Pooya Ghasemi Nejad Almani

Thesis No: (560)

Year (September, 2019)