

## شناسایی الگوی مولکولی دوگونه آسپرژیلوس (فومیگاتوس و فلاووس) در فضای داخل و خارج بیمارستان

ندا سادات حسینی<sup>1</sup>، منصور بیات<sup>2</sup>، شهلا رودبار محمدی<sup>3</sup>

1. دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
  2. دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
  3. دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- نویسنده مسؤول: دکتر منصور بیات. دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

دریافت: 90/7/12 پذیرش: 90/9/20

### چکیده

زمینه و هدف: جنس آسپرژیلوس می تواند بیماری های مختلفی را موجب شود، از جمله آسپرژیلوز مهاجم (IA)، آسپرژیلوس مزمن نکروز دهنده، آسپرژیلوما و آسپرژیلوز آلرژیک برونکوپولمونری که رایج ترین نمونه آنها می باشد. آسپرژیلوز مهاجم تهدید آمیزترین بیماری است که نه تنها در بیماران مبتلا به سرطان خون ممکن است ایجاد شود، بلکه در سطح وسیع تر در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی و بیمارانی که برای درمان از داروهای کورتیکواستروئید استفاده می کنند، قابل مشاهده است. عامل اصلی ایجاد کننده آسپرژیلوز مهاجم، آسپرژیلوس فومیگاتوس می باشد. آسپرژیلوس فلاووس به عنوان گونه دوم مطرح است. عفونت های بیمارستانی توزیع جهانی دارند که باعث افزایش میزان مرگ و میر می شوند. در این میان جنس آسپرژیلوس رایج ترین جنس در بین عوامل ایجاد کننده این عفونت ها می باشد.

روش بررسی: با استفاده از پلیت کشت حاوی سابورو دکستروز آگار که در ارتفاع یک متری از سطح زمین در بخش های مختلف بیمارستان قرار داده می شود، نمونه ها جمع آوری می شوند. گونه های فارچی مختلف شناسایی شده و آسپرژیلوس ها در محیط پتیتو دکستروز براث رشد یافتند. استخراج DNA به کمک روش فنل کلروفرم انجام شد و تکنیک PCR با استفاده از پنج پرایمر مختلف صورت گرفت.

یافته ها: یک روش ساده و سریع با تشخیص دقیق برای شناسایی الگوی مولکولی این جنس مورد نیاز است. در بین روش ها تکنیک RAPD-PCR به نظر می رسد که سریع، ساده و کم هزینه بوده، اطلاعات تشخیصی مناسبی را ارائه می دهد.

نتیجه گیری: چندین پرایمر و پروتکل برای این منظور استفاده شده است که در میان آنها R108 الگوی مناسب تری را برای فومیگاتوس و فلاووس نشان داده است.

واژه های کلیدی: الگوی مولکولی، آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس، عفونت بیمارستانی، RAPD-PCR

مقدمه

185 گونه از جنس آسپرژیلوس تشخیص داده شده است که فقط 20 مورد از آنها در انسان ایجاد بیماری می‌کند. بیشتر عفونت‌های انسانی به طور اولیه به علت آسپرژیلوس فومیگاتوس و فلاووس می‌باشد(1و2). آسپرژیلوس فومیگاتوس عامل 90% موارد از عفونت‌های آسپرژیلوسی به شمار می‌رود (3و1). کنیدی های آسپرژیلوس فومیگاتوس با ظرفیت اسپورزایی بالا در حد 1-100 اسپور در متر مکعب به قطر  $4\mu\text{m} - 2$  از طریق استنشاق وارد مناطق آلوئولی ریه شده و چنانچه از طریق حرکت مژک‌های راههای تنفسی به بیرون دفع نشود، توانایی اتصال به فیبرونکتین و کلاژن تیپ I و IV پارانشیم ریوی را پیدا می‌کند(4). نوع عفونت‌های آسپرژیلوسی در حال افزایش می‌باشد و با مرگ و میر قابل توجهی همراه است. آسپرژیلوس فومیگاتوس طیف وسیعی از بیماریها را شامل می‌شود (5). خاصیت بیماری زایی بستگی به وضعیت ایمنی بیمار و گونه قارچی دارد. یک فاکتور ضروری و منحصر به فرد برای گسترش این قارچ‌ها در بیمار و وجود ندارد و ویروانس آنها به نظر می‌رسد که تحت کنترل چندین ژن می‌باشد. دسته‌ای از مولکول‌ها و ژن‌ها که مربوط به ویروانس این قارچ‌ها هستند شامل تعداد زیادی از اجزا دیواره سلولی مثل  $\beta 1-3$  دی گلوکان، گالاکتومانان، پروتئین گالاکتومانان (Cat1 p and Afmp3, Afmp1) و سازنده کاتالازها (Cat2p) و سوپراکسید دیسموتاز (MnSOD & Cu, ZnSOD) برای ویروانس ضروری است. به علاوه این قارچ‌ها موادی را مانند توکسین‌ها، عوامل آلرژی زا، پیش‌آزمی مثل آلکالین سرین پروتئاز، متالوپروتئاز، آسپارتیک پروتئاز، دی‌پپتیدیل پپتیداز، فسفولیپاز C، فسفولیپاز B می‌سازند. این مواد و آنزیم‌ها به نظر می‌رسد نقش افزاینده و یا همکاری کننده دارند به این صورت که باعث کاهش میزان زنده ماندن حیوان آلوده به علت عملکرد مستقیم آنها بر روی سلولها و یا حمایت از تهاجم میکروبی در طول آلوده سازی می‌شوند(6).

عفونت فرصت طلب آسپرژیلوسی را می‌توان به 4 دسته مهم تقسیم کرد: آسپرژیلوز مهاجم، آسپرژیلوز آلرژیک برونکوپولمونری، آسپرژیلوما، آسپرژیلوز ریوی مزمن نکروز دهنده(7و8). گونه‌های آسپرژیلوس اهمیت زیادی به عنوان پاتوژن‌های فرصت طلب پیدا کرده‌اند (بیشتر به علت افزایش در تعداد بیمارانی که نقص ایمنی دارند). در بین این گروه از بیمار آسپرژیلوس فومیگاتوس شایع‌ترین قارچ است که به

طور وسیع باعث عفونت‌های تهاجمی می‌شود. واژه Nosocomial از دو کلمه یونانی Nosos به معنی بیماری و komeion به معنی مراقبت، مشتق شده و به عفونت‌های کسب شده در بیمارستان یا سایر مراکز مراقبتی اطلاق می‌گردد که ممکن است در داخل بیمارستان یا بعد از ترخیص از بیمارستان اتفاق افتد.

عفونت‌های بیمارستانی از زمان شروع استفاده از مراقبت‌های پزشکی، بیماران بستری فراوانی را مبتلا کرده است. هرچند پیشرفت‌های زیادی در کنترل عفونت بیمارستانی از زمان این مشاهدات در بیش از یک قرن قبل صورت گرفته است، اما عفونت‌های بیمارستانی به عنوان یک منبع مهم بیماریزایی و مرگ و میر به سیر خود ادامه داده اند. به طوری که تقریباً 10-5% بیماران بستری شده در آمریکا در طی زمان بستری، عفونت را تجربه می‌کنند ولی این رقم در کشور های در حال توسعه بالاتر می‌باشد و سالانه 4-2 میلیون مورد عفونت بیمارستانی در این کشورها اتفاق می‌افتد، تا آنجا که یازدهمین علت مرگ و میر در این کشورها می‌باشد. عوامل بیماریزای بیمارستانی اصولاً باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها هستند. دسته‌ای از عفونت‌های بیمارستانی عبارتند از: عفونت دستگاه ادراری، عفونت محل عمل جراحی، پنومونی، عفونت دستگاه گردش خون (باکتری، سپسیس بالینی(9و10)

به علت اسپورزایی زیاد آسپرژیلوس و حضور ناگزیر اسپور آنها در محیط زیست احتمال در معرض قرار گرفتن بیماران بستری در بیمارستان‌ها با انواع اسپوره‌های آسپرژیلوس همواره وجود دارد. در معرض قرار گرفتن افراد به خصوص زمانی که دچار ضعف سیستم ایمنی باشند، میتواند موجب پدید آوردن طیف وسیعی از بیماریهای آسپرژیلوسی از جمله آسپرژیلوس آلرژیک و آسپرژیلوس مهاجم گردد. در نتیجه یافتن روش‌هایی که ما را از منبع آلوده کننده ی قارچی در بیمارستان آگاه سازد یکی از ضروریات مهم برای جامعه پزشکی می‌باشد(11). بدین ترتیب هدف از این تحقیق، شناسایی الگوی مولکولی آسپرژیلوس‌های موجود در فضای بیمارستان می‌باشد که می‌توان با الگوی مولکولی آسپرژیلوس‌های آلوده کننده در نمونه های بالینی از بیماران مبتلا به عفونت‌های آسپرژیلوسی بستری در بیمارستان مقایسه شده و بدین صورت به منبع آلوده کننده ی بیمار پی برد. در قدم بعدی می‌توان برای مهار کردن، کنترل و حذف منبع اقدام کرد.

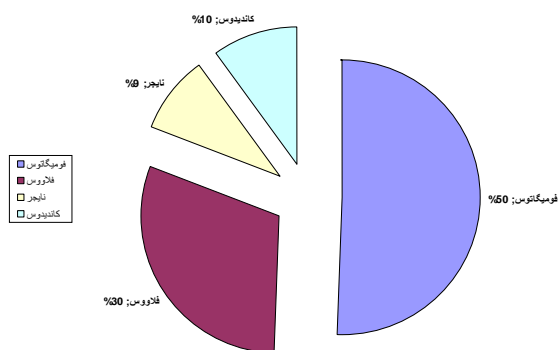
## روش بررسی

## یافته ها

بیشترین قارچ های به دست آمده در طی این بررسی عبارتند از: آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس کاندیدوس. در این میان آسپرژیلوس فومیگاتوس فراوان ترین گونه بود که میزان آن در فصل تابستان بیشتر بوده است.

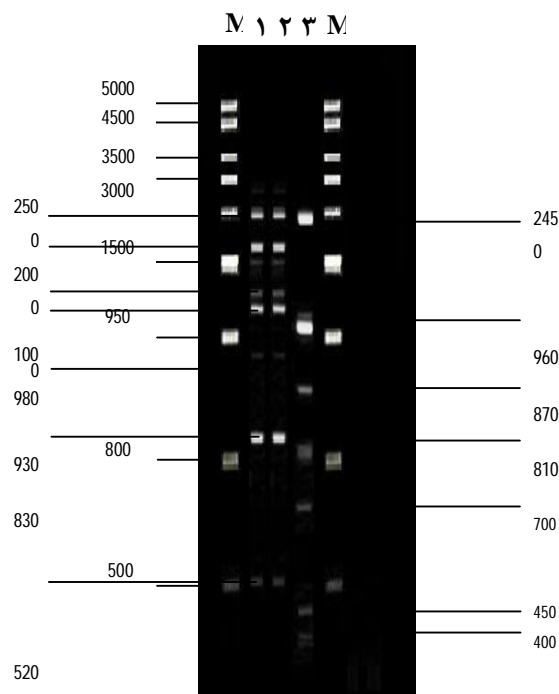
جدول 1. توزیع فصلی جنس های آسپرژیلوس در نمونه گیری از فضای Outdoor و Indoor بیمارستان

فصل ها	تعداد آسپرژیلوس فومیگاتوس	تعداد آسپرژیلوس فلاووس	تعداد آسپرژیلوس نایجر	تعداد آسپرژیلوس کاندیدوس	تعداد کل آسپرژیلوس ها	تعداد کل قارچها
پاییز	45	53	19	2	119	324
تابستان	62	37	12	13	124	238



شکل 1. نحوه پراکندگی گونه های آسپرژیلوسی در نمونه گیری فصل تابستان

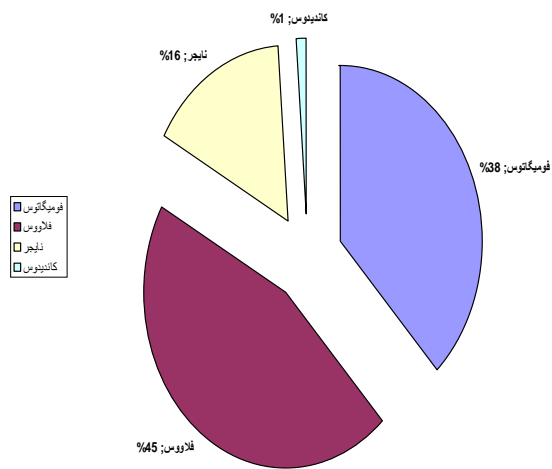
با استفاده از پلیت کشت 10 سانتیمتری حاوی سابورو دکستروز آگار که در ارتفاع یک متری از سطح زمین در بخش های مختلف بیمارستان قرار داده شد، نمونه ها جمع آوری گردیدند. نمونه گیری در دو فصل تابستان و پاییز انجام شد. نمونه گیری از هوا در بخش های مختلف بیمارستان که در تماس مستقیم با بیمار و یا فضای indoor و بخش هایی که به طور غیر مستقیم با بیمار در ارتباط بود و یا فضای Outdoor صورت گرفت. پلیت ها به مدت 3 روز در دمای  $27-32^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند. کلنی های قارچی ایجاد شده در سطح پلیت کنترل و شمارش شدند و قارچ های آسپرژیلوس از محیط کشت جدا گردید و در محیط اختصاصی چاپکس رشد داده شدند. کلونی های قارچ های رشته ای از طریق تست اسلاید کالچر ساختمان اسپورزایی آنها مورد بررسی قرار گرفت. استخراج DNA به کمک روش فنل کلروفرم انجام شد. با استفاده از تکنیک RAPD PCR و استفاده از پرایمرهای R108، NS7، R151، OPZ19 و  $(GATA)_4$  الگوی مولکولی دو گونه آسپرژیلوسی شناسایی گردید. مقادیر مورد استفاده برای انجام واکنش PCR عبارت است از  $1\ \mu\text{l}$  بافر،  $1/5$   $\mu\text{l}$   $H_2O$ ،  $1/2$   $\mu\text{l}$   $dNTP$ ،  $1\ \mu\text{l}$   $MgCl_2$ ،  $1\ \mu\text{l}$  آسپرژیلوس فومیگاتوس،  $4\ \mu\text{l}$  DNA آسپرژیلوس فلاووس،  $2\ \mu\text{l}$  پرایمر و  $0/3\ \mu\text{l}$  DNA Taq Polymerase پنج پرایمر برای بررسی میزان قدرت تفکیک و باند دهی مناسب طبق دستور العمل ها مورد بررسی قرار گرفته اند: انجام PCR برای پرایمرهای  $(GATA)_4$ ، R108، R151، OPZ19، به این صورت انجام گرفت: مرحله واسرشت ابتدایی به مدت 5 دقیقه و در دمای  $95^{\circ}\text{C}$ ، 35 سیکل برای دستگاه PCR با این مشخصات تعریف شد: مرحله واسرشت به مدت 1 دقیقه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$ ، مرحله اتصال 1 دقیقه و در دمای  $35^{\circ}\text{C}$ ، مرحله بسط 1 دقیقه و در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  و در نهایت مرحله بسط نهایی به مدت 10 دقیقه و در دمای  $72^{\circ}\text{C}$ . این برنامه برای پرایمر NS7 مشابه است به جز دمای مرحله اتصال که برای این پرایمر  $40^{\circ}\text{C}$  اعمال شد. رنگ آمیزی DNA توسط اتیدیوم برامید انجام گرفت و آنالیز محصولات PCR توسط الکتروفورز با آگارز 2%، در ولتاژ 80-70 به مدت 45-60 دقیقه بررسی شد.



M : Marker  
 ۱،۲ : *Aspergillus fumigatus*  
 ۳، ۴ : *Aspergillus nidulans*

شکل 3. الگوی مولکولی حاصل شده برای آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس با استفاده از پرایمر R108

توالی پرایمر R151 از سمت 3' → 5' به صورت GCT GTA GTG T طراحی شد. الگوی به دست آمده با استفاده از این پرایمر عبارت بود از : 3 باند برای آسپرژیلوس فومیگاتوس که به ترتیب در مناطق 400، 520 و 1800 قرار گرفته بودند و برای آسپرژیلوس فلاووس 6 باند مشاهده شد که به ترتیب در مناطق 400، 450، 700، 810، 870، 960 و 2450 نسبت به Ladder قرار گرفته بودند.



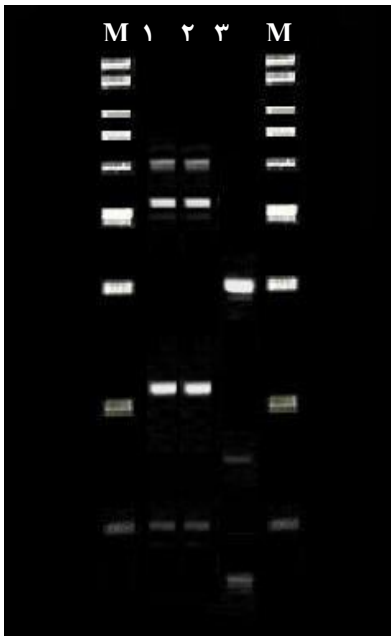
شکل 2. نحوه پراکندگی گونه های آسپرژیلوسی در نمونه گیری فصل پاییز

نتایج حاصل از تکنیک RAPD-PCR : در آنالیز RAPD توالی هدف ناشناخته است و پرایمر بر اساس توالی تصادفی طراحی شده است. بنابراین PCR منجر به ازدیاد قطعات متفاوتی از DNA می شود. قطعاتی که دارای طول های متفاوت هستند و نسبت به نشان گر ویژه در جایگاه خاصی قرار می گیرند. توالی تصادفی پرایمر R108 از سمت 3' → 5' به این صورت طراحی شد. GTA TTG CCC T که الگوی بدست آمده از پرایمر R108 مطابق شکل می باشد. در این تکنیک از نشان گر 5000 bp استفاده شد. بر این اساس قطعات متفاوتی حاصل شد. برای جنس آسپرژیلوس فومیگاتوس تعداد 7 باند مشخص شد که طول تقریبی آنها به ترتیب 520، 830، 930، 980، 1000، 2000 و 2500 (base pair) بود و برای آسپرژیلوس فلاووس الگو به صورت 7 باند بود که به ترتیب در نواحی 400، 450، 700، 810، 870، 960 و 2450 نسبت به Ladder قرار گرفته بودند.

شکل 5. الگوی مولکولی حاصل شده برای آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس با استفاده از پرایمر (GATA)4.

M: Marker, 1و2: *Aspergillus fumigates*, 3 : *Aspergillus flavus*

توالی تعریف شده برای پرایمر OPZ19 بدین شکل می باشد. GTG CGA GCA A با استفاده از این پرایمر الگوی مولکولی مطابق شکل حاصل شد. قطعات DNA حاصل شده برای آسپرژیلوس فومیگاتوس عبارتست از 4 باند با طولهای 510، 860، 1800 و 2500 bp و برای گونه آسپرژیلوس فلاووس 3 باند در جایگاههای 670، 400 و 960 bp.

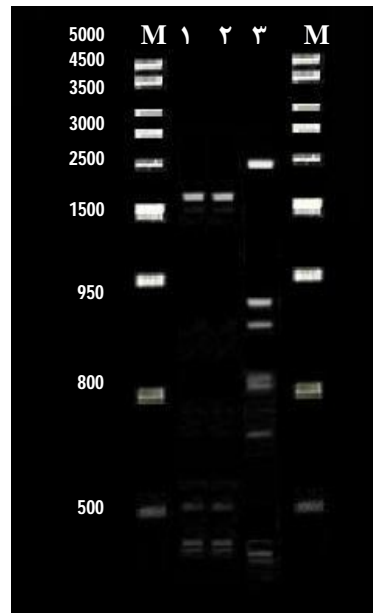


شکل 6. الگوی مولکولی حاصل شده برای آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس با استفاده از پرایمر OPZ19.

M: Marker, 1و2: *Aspergillus fumigates*, 3 : *Aspergillus flavus*

توالی پرایمر NS7 به صورت GAG GCA ATA ACA و در نهایت الگوی حاصله برای پرایمر NS7 برای آسپرژیلوس فومیگاتوس عبارت بود از : 7 باند در مکانهای 1100، 820، 540، 500، 450، 500 و 1800 bp و برای آسپرژیلوس فلاووس 5 باند با طولهای 2500 bp و 900، 840، 700، 430 و 2500 bp.

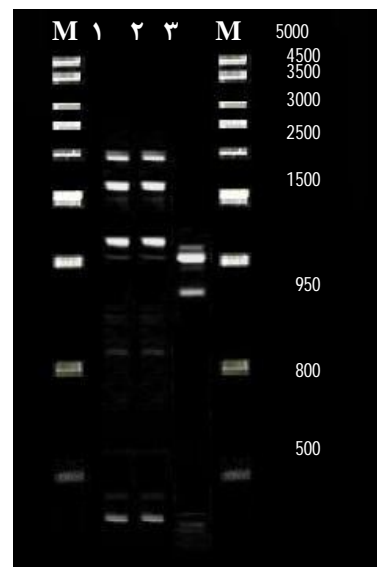
پاییز 90، دوره سوم، شماره دهم



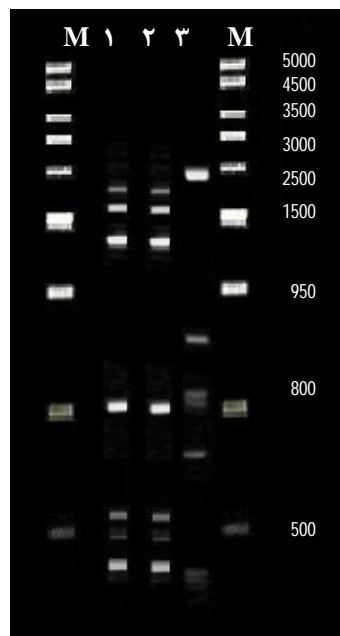
شکل 4. الگوی مولکولی حاصل شده برای آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس با استفاده از پرایمر R151

M: Marker, 1و2: *Aspergillus fumigates*, 3 : *Aspergillus flavus*

توالی پرایمر (GATA)4 به صورت GAT AGA TAG و طراحی شد. برای پرایمر (GATA)4 این نتایج حاصل شده است: 6 باند برای گونه آسپرژیلوس فومیگاتوس در مکانهای 1300، 990، 840، 450، 400 و 2500 bp و برای گونه آسپرژیلوس فلاووس 3 باند در جایگاه های 960 و 910، 380 bp مشاهده شد.



طبق تحقیقات به عمل آمده می توان گفت که آسپرژیلوس یک قارچ حاضر در همه جا است که بیشتر در محیط شهری و نزدیک به زیستگاه انسانها یافت می شود. از آنجایی که میزان آنها در شهر بیشتر است، خطرات بیشتری بیماران شهری را تهدید می کند. پاییز و تابستان فصل هایی هستند که سطح کنیدی بیشتر است و استنشاق آنها توسط بیماران و خطر ابتلا به آسپرژیلوس مهاجم نسبت به سایر فصل ها بیشتر است (14). بر اساس این واقعیت که آسپرژیلوس فومیگاتوس فراوانترین گونه جدا شده است میتوان توضیح داد بیشترین نمونه کلینیکی جمع آوری شده نیز می باشد. طبق مطالعه انجام شده در بیمارستان تراکم بیشتر آسپرژیلوس ها در فضای داخل بیمارستان در مقایسه با فضای خارج بیمارستان به اثبات رسیده است. تراکم بیشتر آسپرژیلوس در محیط داخل پیشنهاد میدهد که منابع متعددی از آسپرژیلوس در داخل بیمارستان (مانند گرد و غبار حاصل از تمیز کردن، تعمیرات، آب آلوده و تراکم بخار آب) وجود دارد. قابل ذکر است که فعالیت های ساختمانی و افزایش میزان گرد و غبار با افزایش میزان آسپرژیلوس موجود در هوا و آسپرژیلوس بیمارستانی ارتباط دارد و وقوع عفونت های آسپرژیلوسی با افزایش تعداد بیماران دارای نقص سیستم ایمنی و پیوند اعضا و بیماران دارای لوکمیا در حال افزایش است (15). بنابراین عفونت های قارچی منتقله از بیمارستان جایگاه ویژه تحقیقاتی خود را یافته است. آسپرژیلوس فومیگاتوس رایج ترین گونه یافت شده در عفونت ها می باشد. علی رغم درمان های پزشکی گسترده و دارویی ضد قارچی عفونت های آسپرژیلوسی گاهی کشنده هستند. طبق بررسی های انجام گرفته توسط Latge، به علت اسپورزایی زیاد آسپرژیلوس ها و حضور ناگزیر اسپور آنها در اکثر محیط های زیستی، احتمال در معرض قرار گرفتن بیماران بستری در بیمارستان ها با انواع اسپورهای آسپرژیلوسها همواره وجود دارد (16). در معرض قرار گرفتن افراد به خصوص زمانی که دچار ضعف سیستم ایمنی باشند، میتواند موجب پدید آوردن طیف وسیعی از بیماریهای آسپرژیلوسی از جمله آسپرژیلوس آلرژیک و آسپرژیلوس مهاجم گردد. در نتیجه یافتن روش هایی که ما را از منبع آلوده کننده ی قارچی در بیمارستان آگاه سازد یکی از ضروریات مهم برای جامعه پزشکی می باشد (16). بدین ترتیب در این تحقیق تعداد آسپرژیلوس ها و انواع آنها در داخل و خارج بیمارستان طی دو فصل تابستان و پاییز مورد بررسی قرار گرفت. و با توجه به اهمیت این قارچ در رابطه با عفونت های بیمارستانی الگوی



شکل 7. الگوی مولکولی حاصل شده برای آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس فلاووس با استفاده از پرایمر NS7. M: Marker, 1و2: *Aspergillus fumigatus*, 3 : *Aspergillus flavus*

## بحث

قارچ ها به عنوان جز بیولوژیک غالب در سراسر دنیا به حساب می آیند. قارچ ها در ابتدا توسط سیستم تولید اسپور شناسایی شدند. اگر چه اسپورهای قارچی قطری حدود  $50 \mu\text{m}$  تا  $20 \mu\text{m}$  می توانند داشته باشند ولی اکثرا در دامنه قطر  $10 \mu\text{m}$  هستند و بنابراین به آسانی در راه های هوایی مختلف نفوذ می کنند. بیش از 80 جنس قارچی با علائم آلرژی تنفسی ارتباط دارند. اگر چه تعداد کمی از آلرژن های قارچی مانند آسپرژیلوس فومیگاتوس مشخص شده اند (12). مهمترین بیماری که توسط میکروارگانیسم های جنس آسپرژیلوس ایجاد می شود، آسپرژیلوس مهاجم است که آسپرژیلوس فومیگاتوس اصلی ترین گونه آن می باشد که ابتدا توسط استنشاق کونیدی موجود در هوا حاصل می شود. کونیدی اصولا در فضای بیرون و درون میتواند یافت شود و میتوانند تحت شرایط حاد جوی نیز مقاومت کرده و اندازه بسیار کوچک آنها ( $3-5 \mu\text{m}$ ) به آنها اجازه می دهد که به عمیق ترین قسمت های شش دست یابند (13).

## References

1. Goldma GH, Osmani SA. *Clinical aspect of the Genus Aspergillus, and Mammalian Models of Aspergillosis In Aspergilli*, New Brunswick, New Jersey 2008; 363-366: 424-430
2. Latge Jp. *Aspergillus fumigates and aspergillosis*. Clin Microbial Rev 1999; 12: 310- 350
3. Denning D. *Invasive aspergillosis*. Clin Infect Dis 2001;26:781-805
4. "Marr KA", "Caster RA", "Crippa F", "Wald A". *Epidemimology And out come of mould infections in hematopoietic stem ceu trans plant recipients*. Clin Infect Dis 2002; 34: 909- 917
5. "Baddley Jw", "stroud Tp", "Salzman D", "Pappas PG".
6. *Invasive mold infections in allogenic bone marrow transplant recipients*. Clin Infect Dis 2001; 32: 1319- 1324
7. "Rementeria A", "Ludwin, L", "Molina N". *Genes and molecules in Aspergillus fumigates virulence*. Rev Iberoam Micol 2005; 22: 1- 23
8. "Lins p", "Schranz J", "Teutschs A". *Aspergillosis case Fatalityrate: Systematic review of literature*. Clin infect Dis 2007; 32: 358-366.
9. "Stevens A", et al. *practice guidelines for diseases caused by Aspergillus*. CID 2000;30:696-709.
10. Ponce-de - leons. *The needs of developing countries and the resources required*. J Hosp Infect, 1991, 18 ( Supplement ) : 376- 381.
11. Wenzel RP. *The economics of nosocomial infections*. J Hosp Infect 1995; 31: 79- 87
12. "Wright MS", "Clausen HK", "Abrahamsen TG". *Liver cells respond to Asoergillus fumigates with an increase in C3 secretion and C3 gene expression as well as an expression increase an TLR2 and TLR4*. Immunol Lett 2004; 95: 25- 30
13. "Harriet A", "Burge A", "Rogers J". *Outdoor allergens*. Environmental Health Perspectives 2000;108:320-330
14. "Parta M", "Chang Y", "Rulong S", "Dasilva P". *HYP1, a hydrophobin gene from Aspergillus fumigatus, complements the rodletless phenotype in Aspergillus nidulans*. Infect Immun 1994;62:4389-4395
15. "Jesus G", "Teresa P", "Bouza E". *Outdoor environmental levels of Aspergillus spp. Conidia over a wide geographical area*. Medical Mycology 2006;44:349-356.
16. "Curtis L", "Cali S", "Baker K", "Scheff P". *Aspergillus surveillance at a large tertiary-care hospital*. Jornal of Hospital Infection 2005;59:188-196
17. "Guinea J", "Pelaez T", "Alcala L". *Outdoor environmental levels of Aspergillus spp. Conidia over a wide geographical area*. Medical Mycology 2006; 44: 349-356

مولکولی آن بررسی شد. با شناسایی الگوی مولکولی آسپرژیلوس های موجود در فضای بیمارستان و با تعیین الگوی مولکولی آسپرژیلوس های آلوده کننده در نمونه های بالینی از بیماران مبتلا به عفونت های آسپرژیلوسی بستری در بیمارستان و مقایسه الگوهای به دست آمده با هم میتوان به منبع آلوده کننده ی بیماران پی برد.

## نتیجه گیری

در نمونه برداری از بیمارستان 4 تا از شایع ترین گونه های آسپرژیلوس در داخل بیمارستان عبارت بودند از: آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس کاندیدوس. نتایج این بررسی نشان میدهد که پرایمرهای NS7 و (GATA)4 الگوی مناسب تری برای جنس آسپرژیلوس فومیگاتوس و پرایمر R151 الگوی مناسب تری را برای آسپرژیلوس فلاووس ارائه داده است. پرایمر R108 هم الگوی شناسایی مناسبی را هم برای آسپرژیلوس فومیگاتوس و هم فلاووس نشان داده است. تکنیک RAPD-PCR یک روش ساده و قدرتمند برای توصیف الگوی مولکولی گونه های پاتوژن آسپرژیلوس می باشد.