

شناسایی الگوی پروتئینی ترایکوفایتون متاگروفایتیس‌های جدا شده از

انسان و حیوان در تهران

دکتر منصور بیات^{۱*}، دکتر علیرضا خسروی^۲، دکتر سید جمال هاشمی^۲، دکتر علیرضا باهنر^۳

چکیده

ترایکوفایتون متاگروفایتیس درماتوفیتی با گسترش جهانی می‌باشد که عموماً از انسانها و حیوانها جدا می‌گردد و موجب عفونت حاد یا مزمن می‌شود. این گونه دارای وارته‌های مختلفی بوده که از وارته‌های حیوانی و انسانی بسیار مهم بالینی آن می‌توان وارته اینتردیجیتال (وارته انسان دوست) و وارته‌های متاگروفایتیس، اریناسی، کوئین کیانوم (وارته حیوان دوست) را نام برد. در این تحقیق الگوهای پروتئینی ایزوله‌های این قارچ مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در این بررسی ۱۵ ایزوله ترایکوفایتون متاگروفایتیس جدا شده از انسان و حیوان ایزوله‌ها پس از کشت اولیه، کشت انبوه، صاف کردن و شستشو، خرد گردیده و پس از افزودن آنتی پروتاز جداسازی پروتئین‌ها بر روی آنها انجام پذیرفت.

برای تعیین الگوی پروتئینی از مایع رویی نمونه‌ها استفاده شد که با روش SDS-PAGE و رنگ آمیزی کوماسی بریلیانت بلو باند‌های پروتئینی با اوزان مولکولی (۱۰۰/۲۰، ۱۰۰/۲۴، ۱۰۰/۲۶، ۱۰۰/۲۷، ۱۰۰/۲۸، ۱۰۰/۳۶، ۱۰۰/۳۹، ۱۰۰/۴۵، ۱۰۰/۴۸، ۱۰۰/۵۰، ۱۰۰/۵۱، ۱۰۰/۵۳، ۱۰۰/۵۵، ۱۰۰/۵۷، ۱۰۰/۶۳، ۱۰۰/۶۵، ۱۰۰/۶۷، ۱۰۰/۸۴، ۱۰۰/۸۸، ۱۰۰/۹۰، ۱۰۰/۹۲، ۱۰۰/۹۴، ۱۰۰/۹۷، ۱۰۰/۱۰۷، ۱۰۰/۱۰۸، ۱۰۰/۱۱۶) کیلو دالتون بدست آمد. در این مطالعه حداقل باندهای بدست آمده از ایزوله‌ها ۱۴ باند و حداکثر ۱۹ باند بودند.

واژگان کلیدی: ترایکوفایتون متاگروفایتیس، الگوی پروتئینی، الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید سدیم دودسیل سولفات، تهران

مقدمه

درماتوفیتها گروه وسیعی از قارچها هستند که به طبقه کراتین دار پوست، مو، ناخن حمله کرده و باعث ضایعات التهابی یا مزمن می‌گردند درماتوفیتها دارای ۳ جنس میکروسپوروم، ترایکوفایتون و اپیدرموفایتون هستند (۲۸) که در میان این ۳ جنس ترایکوفایتون‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. ترایکوفایتون متاگروفایتیس از گونه‌های بسیار شایع ترایکوفایتون‌هاست که دارای انتشار جهانی بوده

Identification of protein pattern of different Trichophyton mentagrophytes isolated from humans and animals in Tehran

Bayat.M¹, khosravi. A², Hashemi.j², Bahonar.A³

1-Department of mycology, Faculty of Specialised Veterinary Sciences, Islamic Azad university, Science & Research Branch, Tehran, Iran

2-Department of Mycology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran, Iran

3-Department of Epidemiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran

Trichophyton mentagrophytes is a wide dermatophyte: These fungi is one of the major causative agents of chronic and acute dermatophytoses in humans and animals. The species have different varieties, such as interdigitale (Anthrophilic), mentagrophytes, erinacei and quinckeanum (Zoophilic).

In this study, the protein pattern of different varieties, which isolated from humans & animals. 15 Trichophyton mentagrophytes isolates, were chosen. Then, the isolates were cultured on selective media and disrupted with ultrasound and the fungal mass were separated by washing on PBS. The protein of each fungus was isolated by standard methods. Protein pattern of the fungi were evaluated by SDS-PAGE method. The frequency of protein bands obtained, were as follows: 20(100%), 24(100%), 26(73/3%), 27(40%), 28/5(100%), 36(53/3%), 39(46/6%), 45(100%), 48(26/6%), 50(80%), 51/5(100%), 53(13/3%), 55(73/3%), 57/5(100%), 63(26/6%), 65(46/6%), 67(60%), 68(26/6%), 84(100%), 88(100%), 90(20%), 92(40%), 94(46/6%), 97(100%), 107(33/3%), 108(100%), 116(46/6%), kD. Based on number of protein bands, the most and the least of them were 19 and 14.

Key words : Trichophyton mentagrophytes, Protein pattern, SDS- PAGE, Tehran

و در انسان و حیوانات ضایعات مختلفی را ایجاد می‌کند.

۱- گروه قارچ شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران * ایران

۲- گروه قارچ شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران * ایران

محتوی کلرامفنیکل و سیکلو هگزاماید به مدت ۱۰ روز، توده میسلیمی و اسپوری از این محیط به محیط سابورو دکستروز برات محتوی کلرامفنیکل و سیکلو هگزاماید انتقال داده شد، نمونه‌ها در داخل ارلن زیر هود تکان داده شد، سپس نمونه‌ها را از کاغذ صافی با منافذ ۰/۴۵ میکرون عبور داده و توده میسلیمی ۳ بار با PBS شسته شد، و توده میسلیمی قارچی توسط روش انجماد و ذوب خرد گردید، سپس با استفاده از دستگاه اولترا سونیکاتور به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰۰ خرد شد و حدود ۳-۲ میلی لیتر PBS به آنها اضافه کرده تا به صورت سوسپانسیون در آید، سپس برای اطمینان از خرد شدن حدود ۹۰٪ میسلیم‌ها از سوسپانسیون‌ها لام گرفته با عدسی ۴۰ بررسی گردید، در این مرحله آنتی پروتئاز PMSF (*PHenyl methyl sulfonyl fluride*) اضافه گردید تا از شکسته شدن پروتئین‌ها جلوگیری شود. سوسپانسیون تهیه شده به لوله های مخصوص سانتیفریژ منتقل شده و طی ۲ مرحله سانتیفریژ شدند، مرحله اول در ۲۰۰۰۰xg به مدت ۲۰ دقیقه، سپس مایع رویی به آرامی برداشته شد و مجدداً در ۲۵۰۰۰xg به مدت ۳۰ دقیقه سانتیفریژ انجام شد، در نهایت مایع رویی شفاف توسط سمپلر برداشته شد و به میکروتیوب های استریل منتقل گردید، سپس از این محلول آزمایش سنجش پروتئین به عمل آمد. برای اندازه گیری مقدار پروتئین نمونه از روش برادفورد استفاده گردید، سپس بررسی محتوای پروتئینی عصاره به روش الکتروفورز ژل پلی اکریل امید صورت گرفت، برای این منظور ابتدا آماده کردن نمونه‌ها و پروتئین‌ها و سپس نمونه گذاری و انجام الکتروفورز و رنگ آمیزی پروتئین‌ها و رنگ زدایی ژل استفاده گردید، در این تحقیق رنگ آمیزی کوماسی بریلیانت بلو مورد استفاده قرار گرفت و در نهایت وزن مولکولی پروتئین های مجهول و الگوی پروتئینی ایزوله‌ها تعیین گردید.

این قارچ دارای وارته‌های متنوع انسانی و حیوانی می‌باشد که از وارته‌های بسیار مهم بالینی آن می‌توان *ایتتردیجیتال* م *نتاگروفایتیس*، *کوئین کیانوم* و *اریناسئی* را نام برد (۷،۵،۲،۱). لیکن اکثراً فقط ۲ وارته از ضایعات انسانی جدا می‌گردند که عبارتند از *ترایکوفایتون* *متاگروفایتیس* و *وارته ایتتردیجیتال* (شکل انساندوست) و *ترایکوفایتون* *متاگروفایتیس* (شکل حیوان دوست). عموماً *ترایکوفایتون* *متاگروفایتیس* ضایعات التهابی تینه *آکپیتیس* (کچلی سر)، تینه *آکورپوریس* (کچلی بدن) و تینه *آونگویوم* (کچلی ناخن) را ایجاد می‌کند در حالیکه وارته انساندوست آن در بیشتر موارد باعث تینه *آپدیس* (کچلی مژمن پا)، تینه *آونگویوم* (کچلی ناخن) و تینه *آکورپوریس* (کچلی کشاله ران) می‌گردد (۱،۲،۵،۷). هدف از انجام این تحقیق شناسایی الگوی پروتئینی ایزوله‌های *ترایکوفایتون* *متاگروفایتیس*های جدا شده از انسان و حیوان و مقایسه بین الگوی پروتئینی ایزوله‌های حیوانی و انسانی و همچنین مقایسه بین سوشهای حاد و مزمن در بین موارد حیوانی و انسانی و در درون حیوانات با هم و در انسانها با هم میباشد.

مواد و روش کار

در این بررسی ۱۵ ایزوله *ترایکوفایتون* *متاگروفایتیس* جدا شده از انسان از ضایعات (ناخن، شکم، پا، کشاله ران) و حیوان (سگ، خرگوش، گوسفند، سنجاب، جوجه تیغی) از ضایعات (پشت، سر، پا، گوش، زیر شکم) انتخاب گردید، که ۶ مورد انسانی (۲ مورد ناخن ۱ مورد بدن، ۲ مورد پا، ۱ مورد کشاله ران) و ۹ مورد حیوانی (۳ مورد سگ، ۱ مورد خرگوش ۲ مورد گوسفند، ۲ مورد سنجاب، ۱ مورد جوجه تیغی) بود، وارته‌ها از قبل توسط مراکز معتبر قارچ شناسی تعیین گردیده بودند که ۹ وارته *متاگروفایتیس*، ۵ وارته *ایتتردیجیتال* و ۱ ایزوله دارای وارته *اریناسئی* بود، پس از کشت اولیه ایزوله‌ها روی محیط سابورو دکستروز آگار

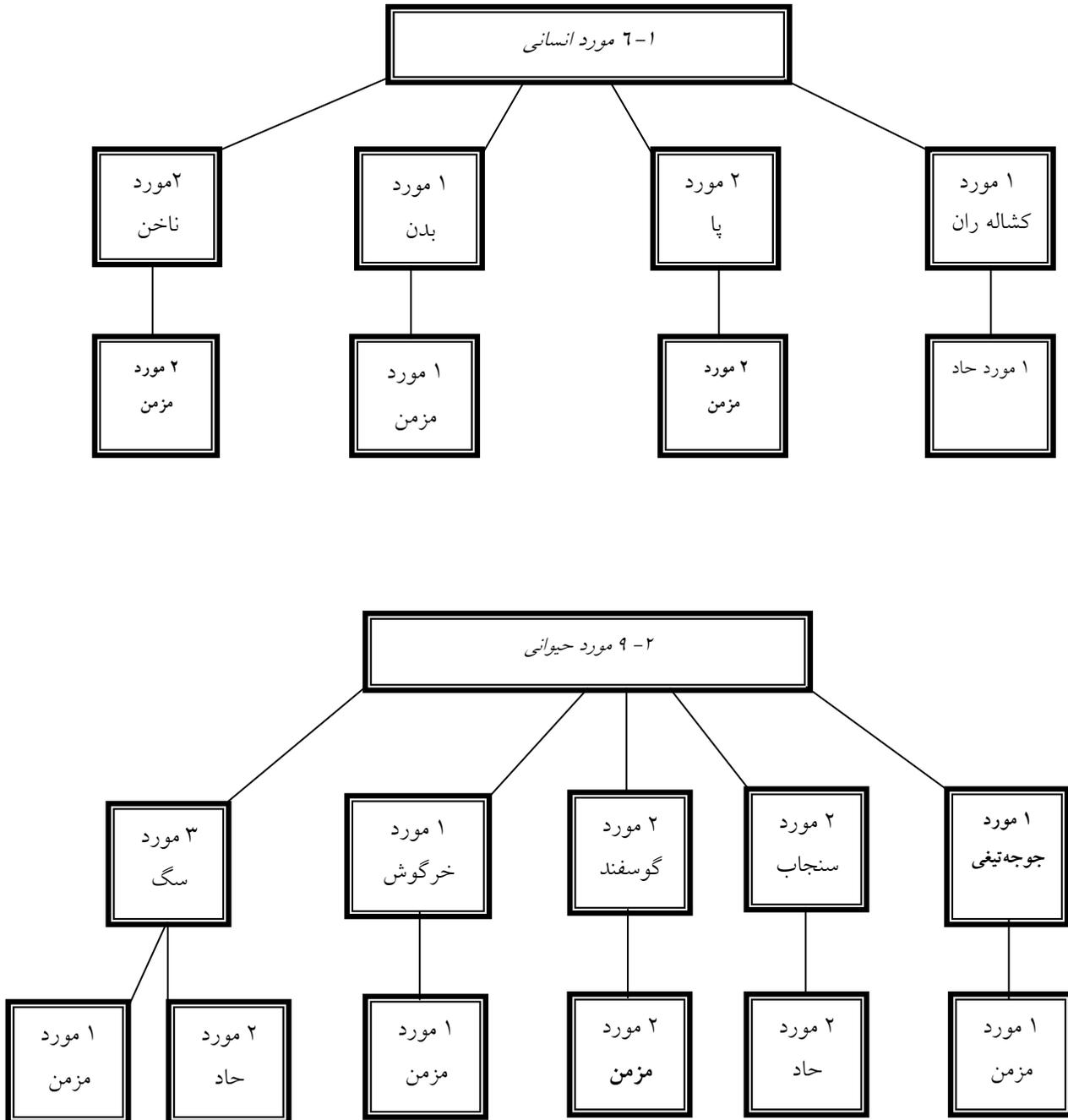
باند پروتئینی ۱۰۷ کیلو دالتون در ایزوله مربوط به جوجه تیغی و انسان موجود بود ولی در سایر موجودات مورد بررسی در مطالعه وجود نداشت. در سگ شماره ۲ با فرم مزمن بیماری نسبت به ۲ سگ دیگر با فرم حاد بیماری باند پروتئینی ۴۸ کیلو دالتون وجود داشت در حالیکه در بقیه سگهای تحت مطالعه این باند وجود نداشت (به عبارتی باند پروتئینی ۴۸ کیلو دالتون اختصاص به فرم مزمن دارد). باند پروتئینی ۱۱۶ کیلو دالتون در ایزوله ناخن وجود نداشت. باندهای پروتئینی ۵۳ و ۹۰ کیلو دالتون در ایزوله مربوط به انسان وجود باند پروتئینی ۹۲ کیلو دالتون اختصاص به فرم مزمن بیماری در انسانها و حیوانات تحت مطالعه داشت.

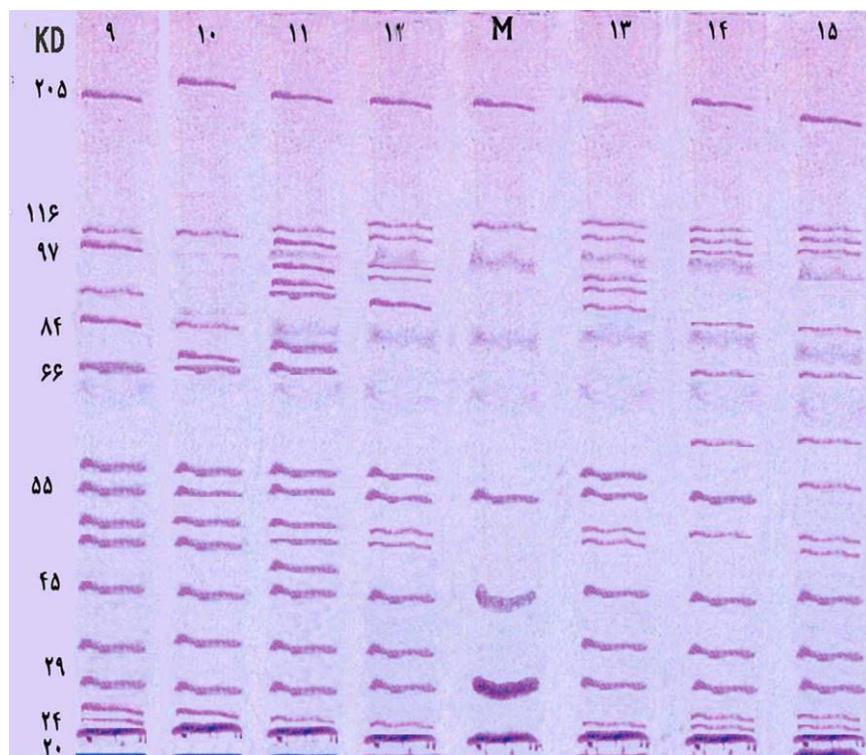
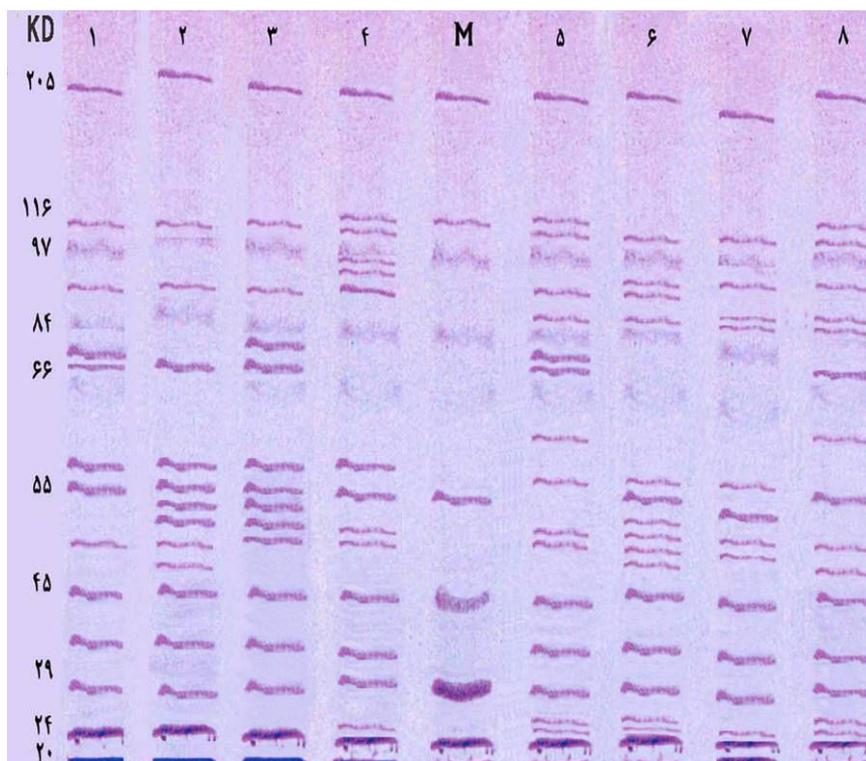
فراوانی نسبی باندهای پروتئینی در ایزوله های ترایکوفایتون متاگروفتیس تحت مطالعه، (باندهای پروتئینی ۱۰۸، ۹۷، ۸۸، ۸۴، ۵۷/۵، ۵۱/۵، ۴۵، ۲۸/۵، ۲۴، ۲۰ کیلو دالتون) مشترک در تمام ایزوله ها بودند. در حالیکه باند ۵۳ کیلو دالتونی با ۱۳/۳٪ کمترین فراوانی را در بین ایزوله ها دارا بود، بیشترین تعداد باند مربوط به ایزوله های شماره ۵، ۸، ۹، ۱۱ با تعداد ۱۹ باند و کمترین تعداد باند مربوط به ایزوله شماره ۱ با ۱۴ باند بود. باند پروتئینی ۲۶ و ۶۵ کیلو دالتون در سگها وجود نداشت در حالیکه در نمونه های انسان یا حیوان بود. باند پروتئینی ۵۳ کیلو دالتون اختصاص به ایزوله مربوط به سگ داشت و در سایر موجودات نبود.

جدول ۱: وضعیت ایزوله های تحت مطالعه ترایکوفایتون متاگروفتیس بر اساس نوع وارته و محل ضایعه و وضعیت کلنی

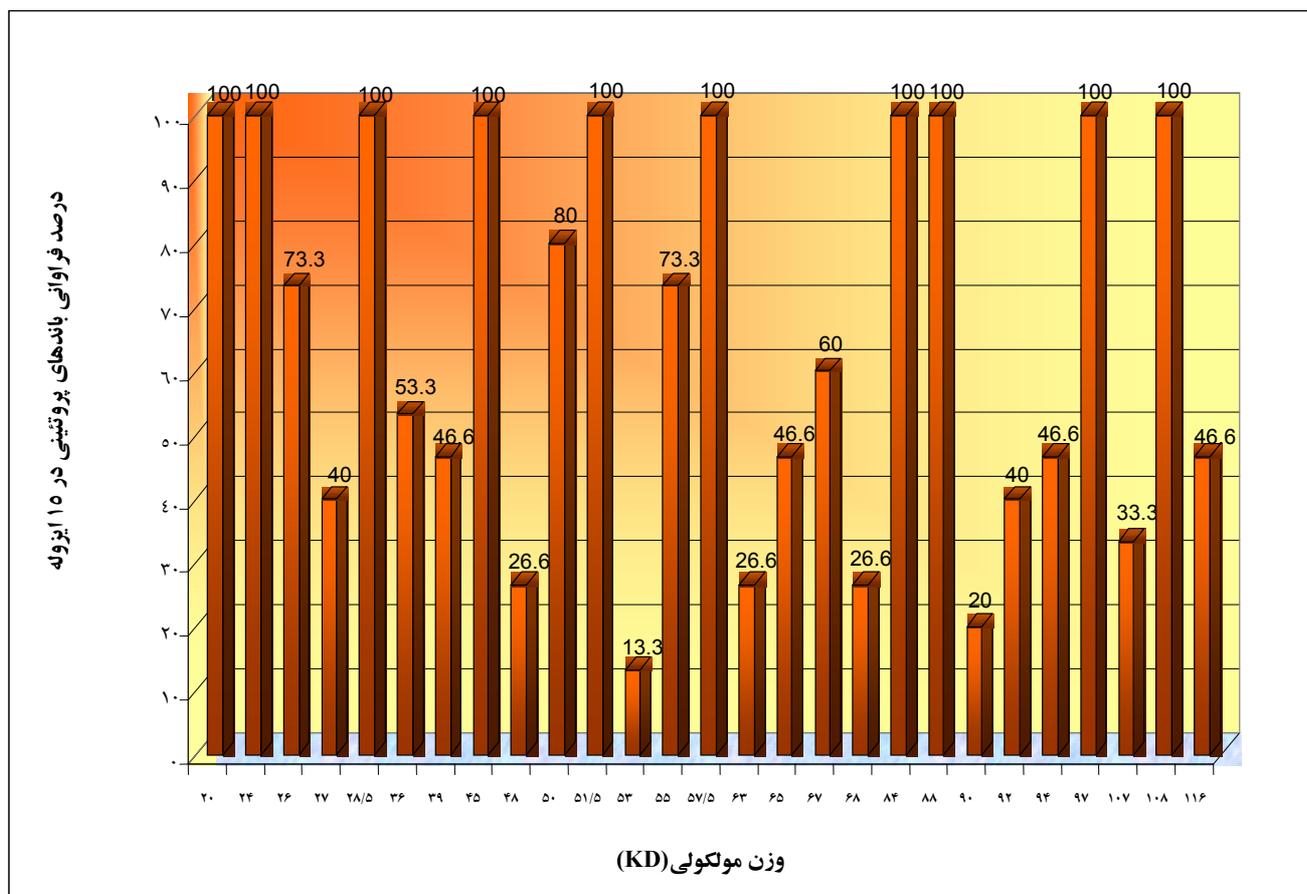
شماره جدایه	نام موجود	محل ضایعه	حالت کلنی	رنگ سطح کلنی	رنگ پشت کلنی	نوع وارته
A۱	سگ	پشت	گرانولار	صورتی	قهوه ای کمرنگ	متاگروفتیس
A۲	سگ	پشت	گرانولار	صورتی	قهوه ای کمرنگ	متاگروفتیس
A۳	سگ	پشت	گرانولار	سفید	خرمایی	متاگروفتیس
A۴	خرگوش	سر	گرانولار	سفید	خرمایی	متاگروفتیس
A۵	گوسفند	سر	گرانولار	سفید	زرد (صورتی مایل به قهوه ای)	متاگروفتیس
A۶	گوسفند	سر	گرانولار	سفید	زرد (صورتی مایل به قهوه ای)	متاگروفتیس
A۷	سنجاب	پا	گرانولار	خاکستری	بیرنگ	متاگروفتیس
A۸	سنجاب	گوش	گرانولار	خاکستری	بیرنگ	متاگروفتیس
A۹	جوجه تیغی	زیر شکم	گرانولار	سفید	زرد لیمویی	اریناسی
A۱۰	انسان	ناخن	کرکی_ پنبه ای	سفید	خرمایی	اینتردیجیتال
A۱۱	انسان	ناخن	کرکی_ پنبه ای	سفید	خرمایی	اینتردیجیتال
A۱۲	انسان	شکم	کرکی_ پنبه ای	وسط قهوه ای_ اطراف سفید	زرد	اینتردیجیتال
A۱۳	انسان	پا	کرکی_ پنبه ای	وسط قهوه ای_ اطراف سفید	زرد	اینتردیجیتال
A۱۴	انسان	پا	پنبه ای	قهوه ای تیره	خرمایی	اینتردیجیتال
A۱۵	انسان	کشاله ران	پودری	صورتی	زرد	متاگروفتیس

جدول ۲: وضعیت ایزوله‌های تحت مطالعه ترایکوفایتون منتاگروفایتیس بر اساس نوع میزبان و فرم بیماری





نگاره ۱: الگوی پروتئینی عصاره ترایکوفایتون متناگروفایتیس با استفاده از SDS-PAGE (در ژل ۱۰٪) رنگ آمیزی کوماسی بلو



نمودار ۱: فراوانی نسبی باندهای مختلف پروتئینی در ایزوله‌های تریکوفایتون متتاگروفایتیس‌های تحت مطالعه

بحث

در بین گونه‌های مختلف درماتوفیتی، تریکوفایتون متتاگروفایتیس از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. این گونه دارای وارپته‌های مختلفی می‌باشد که از وارپته‌های حیوانی و انسانی بسیار مهم کلینیکی آن می‌توان وارپته اینتر دیجیتال (وارپته انسان دوست) و وارپته‌های متتاگروفایتیس، اریناسی، کوئین کیانوم (وارپته حیوان دوست) را نام برد. تریکوفایتون متتاگروفایتیس یکی از شایعترین عوامل کچلی در انسان و حیوانات مختلف می‌باشد (۳، ۱۷، ۱۸، ۱۹). درماتوفیتها دارای آنتی ژنهای متنوعی می‌باشند که بر اساس ساختار آنتی ژنیکیشان آنها پاسخ‌های اختصاصی میزبان را برمی‌انگیزند، تا به حال ساختار آنتی ژنی

درماتوفیت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است. این مطالعات گویای آن است که آنتی ژنهای مشترک بین گونه‌های در حد وسیعی در این دسته از فارچها دیده می‌شود (۳، ۲۰). اجزای اصلی تشکیل دهنده جدار سلولی درماتوفیتها کیتین و گلوگان همراه با گلیکو پپتیدها می‌باشد. Chitstisunsen و همکاران با روش الکتروفورز ساختمان آنتی ژنی تریکوفایتون روبروم و متتاگروفایتیس را مشخص کردند با این روش ۳۵ آنتی ژن برای تریکوفایتون روبروم و حداکثر تا ۲۶ آنتی ژن برای تریکوفایتون متتاگروفایتیس تعیین گردید (۴). در بررسی ما که بر روی ۱۵ نمونه تریکوفایتون متتاگروفایتیس (اینتر دیجیتال ۵ مورد، اریناسی ۱ مورد، متتاگروفایتیس ۹ مورد) صورت

روی ایزوله های متنوع بتوان به یافته های جدیدی در این ارتباط رسید. اگر این ۲ باند برای ایزوله های حیوانی اختصاصی باشند، می توان با تولید پلی کلونال یا مونو کلونال آنتی بادی ها در تشخیص و درمان حیوانات اقدام نمود.

فهرست منابع

- ۱- آخوندی م.م (به راهنمایی: امامی مسعود)، (۱۳۶۸)، بررسی و مطالعه عوامل درماتوفیتی در گوسفند و بز، میزان شیوع و تعیین هویت عوامل آن در دامداریهای منطقه ساوه، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران
- ۲- آقامیریان م.ر (به راهنمایی: مقدمی مهین)، (۱۳۶۷)، بررسی و مطالعه عوامل درماتوفیتی و تعیین هویت آنها در دامداریهای تهران و حومه، پایان نامه کارشناسی ارشد، شماره ۱۱۷۹، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران - ایران
- ۳- خسروی ع (۱۳۷۱)، آنتی ژنهای درماتوفیتی و پیگیری ایمنی در درماتوفیتوز، پایان نامه دکترای تخصصی قارچ شناسی پزشکی، تهران، دانشکده بهداشت دانشگاه تهران
- ۴- خسروی علیرضا، ۱۳۸۵، بیماریهای قارچی و پاسخهای ایمنی، انتشارات دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران (در دست چاپ)، ۱۶۶
- ۵- خسروی ع (۱۳۸۴)، قارچ شناسی دامپزشکی، سازمان انتشارات جهاد دانشگاهی شعبه واحد تهران، ۱۷۵-۱۷۰
- ۶- ربانی ع، (۱۳۷۷)، کارگاه آموزش عملی الکتروفورز، جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران (معاونت پژوهشی)، ۱-۱۰
- ۷- رزاقی ایبانه م، (۱۳۸۴)، قارچ شناسی عمومی دامپزشکی، انتشارات موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، ۲۷۲-۲۶۵
- ۸- علامه ع، یادگاری م.ح، (۱۳۸۰)، کارگاه تکنیکهای پیشرفته در قارچ شناسی پزشکی، بخش قارچ شناسی با

گرفت، با روش SDS-PAGE تلاش گردید تا ساختار پروتئینی این وارپته ها تفکیک و با یکدیگر مقایسه شوند. بالاترین تعداد باندهای ایجاد شده ۱۹ باند در ۴ مورد (۳ مورد حیوانی و ۱ مورد انسانی) و کمترین آنها ۱۴ باند مربوط به نمونه حیوانی (سگ) می باشد. دامنه های این باند از ۲۰ تا ۱۱۶ کیلو دالتون تعیین گردید. بر اساس تحقیقات برخی از محققین باندهای ۴۵، ۶۸، ۹۲ کیلو دالتون به شدت ایمن زا می باشند (۲۰)، که در این مطالعه نیز فراوانی این باندها به ترتیب ۴۵ (۱۰۰٪)، ۶۸ (۲۶/۶٪) و ۹۲ (۴۰٪) تعیین گردید. به نظرمی رسد که با توجه به حضور باند پروتئینی ۴۵ کیلو دالتون در تمام ایزوله های بومی تحت مطالعه، در آینده از این آنتی ژن بتوان در مقاصد ایمونولوژیکی در حیوانات بهره برد. از بین ۱۹ باند جدا شده ۱۰ باند (۵۲/۶٪) در بین همه ایزوله ها مشترک بود، باند ۵۳ کیلو دالتون نیز کمترین باند پروتئینی تکرار شده در بین ایزوله ها بود (۱۳/۳٪)، گرچه در این بررسی تفاوت های آشکاری در بین برخی ایزوله ها از نظر حضور و یا عدم حضور باندها دیده شد ولی به نظر نمی رسد که با این روش بتوان الگوی مناسبی برای تفکیک داخل گونه ای ایزوله های ترایکوفایتون متناگروفایتیس ارائه داد. یکی از نکاتی که در این تحقیق مورد نظر بود مقایسه ایزوله های مربوط به درماتوفیتوزیس مزمن و حاد بود. یافته قابل توجه اینکه باند ۹۲ کیلو دالتون در ۶ ایزوله از ۱۰ مورد فرم مزمن مشاهده گردید (۶۰٪). ایزوله های جدا شده از موارد حاد، به هیچ وجه واجد این باند نبودند. با توجه به این مطلب در آینده می توان بررسی نمود که آیا این باند در روند مزمن شدن ضایعه دخالت دارد و همچنین آیا این باند دارای تشابهاتی با آنتی ژنهای سطحی انسانی می باشد که موجب روند مزمن و عدم پاسخ مناسب ایمنی می شود. یکی دیگر از نتایج جالب بدست آمده، وجود باند های ۵۳ و ۹۰ کیلو دالتون در ایزوله های حیوانی (۲۲/۲٪ و ۳۳/۳٪) و عدم وجود آن در موارد انسانی بود، شاید با مطالعات وسیع تر و بررسی بر

dermatophytes for immunization of animals, *Mycologia*, 7, 8: 113

21. Richardson Malcom D (1997): The pocket guide to fungal infections, Blackwell Science ltd: 2-12

22. Schuller I; Finckh U; Weber-Rolfs I; eds: Clinical diagnostics and research, Berlin, Springer Verlag: 51-60

23. Shechter Y; Landau J.W; Dabrowa N; Newcomer V.D (1966): Comparative disc electroPHoretic studies of proteins from dermatophytes, *Sabouraudia* 5: 144-149

24. St-Germain G; Summerbell R (1996): Identifying filamentous fungi, A clinical laboratory handbook, Ist Ed, Star Publishing Company, Belmont, California

25. Takashio M (1977): The trichophyton mentagrophytes complex, In K. Iwata (ed), Recent advances in medical and veterinary mycology university of tokyo press, Tokyo, Japan: 271-276

26. Towbin H; Steahelin T; Gordon J (1979): ElectroPHoresis transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets, procedure and some applications. *Proc, Natl. Acad. Sci. USA*, 76:9 (4350-4354)

27. Van custem J and Rochette F(1991): Mycoses in domestic animals, Janssen Research Foundation: 196-197

28. Weitzman L; R.C Summerbell (1995): The dermatophytes, *Clin Microbiol Rev*: 8(240-259)

29. Wilson Walter A (2001): Current, Diagnosis and treatment in infectious diseases: 777-784

همکاری معاونت پژوهشی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه

تربیت مدرس، ۳۱-۲۰

۹- لطفی. ع، (۱۳۸۱)، کارگاه بازآموزی و آموزش عملی

روشهای بیوشیمی عمومی و بالینی، بخش بیوشیمی بالینی

دانشگاه تربیت مدرس

۱۰- مصطفایی. ع، (۱۳۷۸)، راهنمای نظری و عملی

الکتروفورز پروتئین در ژل، انتشارات تزکیه، چاپ اول.

11. Bradford M.M (1976): Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein_ dye binding, *Analytical Biochem*: 72, 248, 252

12. Chalupova Viastimila (1998): Mutants of *Trichophyton mentagrophytes* with changed optimum cultivation temperature vol 141: 17-19

13. Cooper G.T (1977): ElectroPHoresis in the tools of biochemistry, John Willey & sons, New York, pp: 194-232

14. Habif T.P (2000) : Clinical Dermatology, 3rd ed, Mosby: 100-140

15. Hames B.D; Rickwood D (1994): Gel electroPHoresis of proteins, a practical approach, information press ltd, Eynsham, Oxford: 139

16. Hames B.D and Rickwood D(1994): One dimensional polyacrylamide gel electroPHoresis in: gel electroPHoresis of proteins, Oxford University, pp: 22-49

17. Khosravi A.R and Mahmoudi M (2002): Dermatophytes isolated from domestic animals in Iran. *Mycoses*, 46: 222-225

18. Khosravi A.R; Aghamirian M.R; Mahmoudi M (1994): Dermatophytoses in Iran, *Mycoses*, 314: 12-17

19. Khosravi A.R; Kordbacheh P; Bokae S (1994): An epidemiological approach to the zooPHilic dermatophytoses in Iran, *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 7(4): 253-257

20. Khosravi A.R, Tadjbakhsh H(2003): Isolation of specific antigen from some