

Searching for *Penicillium marneffe* in the soil of Qazvin city

MR Aghamirian*

M Nassiri-Asl**

*Associate professor of medical mycology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

**Assistant professor of pharmacology, Metabolic Diseases Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Abstract

Background: *Penicillium marneffe* is a dimorphic fungus that produces disseminated infections in immune-deficient people and AIDS patients. This fungus is endemic to Southeastern Asia with its reservoir in Southeast Asian bamboo rats. Also, it has been isolated from rats of a region in India.

Objective: This study was conducted to search for *Penicillium marneffe* fungus in the soil of Qazvin city from the spring of 2007 to spring of 2008.

Methods: Samples were taken from different locations of the city and cultured on Sabouraud dextrose agar after preliminary processing in laboratory. A suspension from colonies suspected of *penicillium marneffe* species was prepared and injected into peritoneum of rats.

Findings: *Penicillium marneffe* fungus was not found in soil of the city however, other fungi including *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp., *Mucor* spp., *Chrysosporium* spp., *Acremonium* spp., *Fusarium* spp., *Ulocladium* spp., *Drechselera* spp., *Scopulariopsis* spp., and yeasts were cultured from the soil specimens. No *Penicillium marneffe* positive cultures were obtained from lung cultures of rats inhabiting the city.

Conclusion: Although *Penicillium marneffe* fungus was not isolated from the city soil yet further researches on other locations of Iran are required to determine the presence or absence of this fungus.

Keywords: *Penicillium Marneffe*, Fungi, Infection, Wounds and Injuries, Soil, Qazvin

Corresponding Address: Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Shahid Bahonar Blvd., Qazvin, Iran

Email: aghamirian2001@yahoo.com

Tel: +98 281 3336001-5

Received: 2008/09/22

Accepted: 2009/06/07

جستجوی پنی سیلیوم مارنفتی در خاک شهر قزوین

دکتر محمدرضا آقامیریان* دکتر مرجان نصیری اصل**

*دانشیار انگل شناسی و قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
**استادیار فارماکولوژی مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس مکاتبه: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، تلفن ۰۲۸۱-۳۳۳۶۰۰۱-۲۸۱ Email: aghamirian2001@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۲ تاریخ پذیرش: ۸۸/۳/۱۷

*چکیده

زمینه: پنی سیلیوم مارنفتی قارچی دو شکلی است که در افراد با ایمنی ضعیف و مبتلایان به ایدز عفونت منتشره ایجاد می‌کند. این قارچ در نواحی جنوب شرقی آسیا بومی است و مخزن آن رت‌های بامبو هستند. این قارچ از رت‌های منطقه‌ای از هند نیز جدا شده است.
هدف: مطالعه به منظور جستجوی قارچ پنی سیلیوم مارنفتی در خاک قزوین انجام شد.
مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی نمونه برداری از خاک نقاط مختلف شهر قزوین از بهار ۱۳۸۶ تا بهار ۱۳۸۷ انجام شد. نمونه‌ها بعد از آماده‌سازی در آزمایشگاه در محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت داده شدند. همچنین سوسپانسیون‌های کلنی‌های مشکوک به گونه پنی سیلیوم مارنفتی تهیه و به صفاق ۵۰ رت تزریق شد. داده‌ها با آمار توصیفی تحلیل شدند.
یافته‌ها: قارچ پنی سیلیوم مارنفتی از کشت خاک شهر به دست نیامد، اما قارچ‌های دیگری از گونه‌های کلادوسپوریوم، اسپرژیلوس، پنی سیلیوم، رایزوپوس، آلترناریا، موکور، کرایزوسپوریوم، آکرومونوم، فوزاریوم، اولوکلادیوم، درکسلرا، اسکوپولاریوپسیس و مخمر از کشت خاک به دست آمدند. از کشت ریه رت‌ها نیز قارچ پنی سیلیوم مارنفتی به دست نیامد.
نتیجه‌گیری: اگرچه قارچ پنی سیلیوم مارنفتی از خاک شهر قزوین به دست نیامد، ولی باید تحقیق‌های بیشتر در سایر نقاط ایران جهت اثبات وجود یا عدم وجود این قارچ انجام شود.

کلید واژه‌ها: پنی سیلیوم مارنفتی، قارچ‌ها، عفونت، زخم‌ها و آسیب‌ها، خاک

*مقدمه

قطر ۲/۵ تا ۴/۵ میکرون و در مواردی هم با درازای ۳ تا ۶ میکرون و پهنای ۱ تا ۲ میکرون با دیواره بین سلولی مشاهده می‌شود. علائم عفونت با پنی سیلیوم مارنفتی شامل تب، آنمی، کاهش وزن، تورم غدد لنفاوی، بزرگی کبد و ضایعه‌های پوستی است.^(۴)
چارلیالرساک در سال ۱۹۹۶ ذکر کرد که بروز عفونت با پنی سیلیوم مارنفتی در افراد HIV مثبت رو به ازدیاد و در فصول بارانی نسبت به فصول خشک بیش‌تر است. رطوبت کافی، عامل مؤثری در رشد قارچ پنی سیلیوم مارنفتی است.^(۵) این قارچ از طریق شیزوگونی تکثیر می‌یابد.^(۴) یوستیانوسکی در سال ۲۰۰۸ داروی ایتراکونازول به عنوان پیشگیری از ابتلا به پنی سیلیوزیس مارنفتی در مبتلایان به ایدز را پیشنهاد

پنی سیلیوم مارنفتی تنها قارچ دو شکلی در جنس پنی سیلیوم است که در دمای ۸ تا ۳۹/۵ درجه سانتی‌گراد، در سایه و دور از نور بهتر رشد می‌کند. این قارچ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محیط سابورو دکستروز آگار رشد می‌نماید و پیگمان قرمز رنگ در اطراف کلنی ایجاد می‌کند. دو شکلی بودن این قارچ در قدرت بیماری‌زایی آن مؤثر است.^(۳) این قارچ از طریق استنشاق وارد ریه‌ها شده، ابتدا عفونت ریوی ایجاد نموده و سپس منتشر می‌شود. اولین بار در سال ۱۹۵۶ این قارچ از ضایعه‌های کبد رت بامبو در ویتنام جدا شد. این قارچ در ناحیه جنوب شرق آسیا بومی است و عفونت با این قارچ اغلب در افراد با ایمنی ضعیف و مبتلایان به ایدز گزارش شده است.^(۳) سلول‌های مخمری این قارچ، بیضوی شکل و به

۱۰ درصد در زیر میکروسکوپ جهت دید مستقیم و جستجوی سلول مخمری بررسی شد. ذراتی از نسج ریز شده ریه نیز در محیط سابورو دکستروز کشت داده شدند. با استفاده از آمار توصیفی تحلیل شدند.

* یافته ها:

قارچ پنی سیلیوم مار نفتی از پلیت‌های کشت داده شده از خاک به دست نیامد، ولی قارچ‌های دیگری مانند کلادوسپوریوم، اسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم جدا شدند (جدول شماره ۱).

جدول ۱- فراوانی کلنی انواع قارچ‌های جدا شده از خاک شهر

درصد	تعداد کلنی	قارچ‌های رشد یافته
۲۸/۱۵	۱۹۲۸	کلادوسپوریوم
۲۴/۸۷	۱۷۰۴	اسپرژیلوس
۲۲/۳۳	۱۵۳۰	پنی سیلیوم
۹/ ۶۶	۶۶۲	رایزوپوس
۸/۲۶	۵۶۶	آلترناریا
۲/۰۷	۱۳۷	موکور
۱/۲۱	۸۳	کرایزوسپوریوم
۰/۸۴	۵۸	آکرومونوم
۰/ ۷۷	۵۳	مخمر
۰/ ۶۱	۴۲	فوزاریوم
۰/۴۲	۲۹	مسیلیوم استریل
۰/۳۷	۲۶	اولوکلادیوم
۰/۲۴	۱۷	درکسلا
۰/۲۰	۱۴	اسکوپولاریوپسیس
۱۰۰	۶۸۴۹	جمع

در نمونه‌های بررسی شده از ریه رت به دنبال تزریق سوسپانسیون به داخل صفاق رت سلول‌های مخمری دیده نشد و در کشت نسج ریه رت‌ها نیز کلنی پنی‌سیلیوم با هاله‌ای از پیگمان قرمز رشد نکرد و در هیچ یک از کلنی‌هایی که از دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ۳۷ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند، پدیده مخمری شدن انجام نشد. همچنین در ریه ۵۰ رت به دست آمده از شهر هیچ

کرد. (۶) آنتی‌ژن ۵۴ و ۵۰ کیلو دالتونی فاز مخمری قارچ پنی‌سیلیوم مارنفتی با روش وسترن بلاتینگ مورد استفاده قرار می‌گیرد. (۷) با توجه به اهمیت این قارچ و بیماری حاصل از آن، این مطالعه به منظور جستجوی پنی‌سیلیوم مارنفتی در خاک شهر قزوین انجام شد.

* مواد و روش‌ها:

این مطالعه مقطعی از بهار ۱۳۸۶ تا بهار ۱۳۸۷ در شهر قزوین انجام شد. ابتدا شهر بر اساس نقشه پستی به ۲۵ ناحیه تقسیم شد که در برگیرنده تمام نقاط مرکزی و حاشیه‌ای شهر بود. هر ماه دو بار از هر کدام از نواحی ۲۵ گانه به فاصله ۱۵ روز نمونه برداری انجام و نمونه برداری به طور معمول در ساعت ۹ صبح انجام می‌شد. خاک از عمق ۱ تا ۱۰ سانتی‌متری سطح به مقدار حدود ۲۰ گرم برداشت شد. نمونه‌ها در کیسه نایلونی تمیزی به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه ۵ گرم خاک در ۲۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل در لوله آزمایش استریل ریخته شد. خاک و سرم فیزیولوژی به مدت ۵ دقیقه به خوبی با هم مخلوط شدند و این لوله یک ساعت در آزمایشگاه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به حالت ساکن قرار گرفت تا خاک ته نشین شود. سپس ۰/۲ میلی‌لیتر از قسمت رویی لوله در محیط سابورو دکستروز آگار (محتوی ۵۰ میلی‌گرم کلرامفنیکل در لیتر) کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت دو هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس کلنی‌های پنی‌سیلیوم رشد یافته جهت بررسی دو شکلی بودن به مدت دو هفته به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. همچنین از پنی‌سیلیوم‌های رشد یافته مشکوک به پنی‌سیلیوم مارنفتی، سوسپانسیونی به غلظت 10^5 آماده شد و ۱/۵ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به داخل صفاق رت تزریق شد. بعد از گذشت ۴ هفته رت‌ها کشته شدند و از کبد و طحال حیوان بر محیط سابورو دکستروز کشت داده شد. همچنین ریه ۵۰ رت به دست آمده از شهر در زیر هود بیولوژیک به قطعه‌های ریز تقسیم شد و با پتاس

سلول مخمری دیده نشد و از کشت ریه آنها هم پنی سیلیوم مارنفتی به دست نیامد.

*بحث و نتیجه گیری:

طی یک سال جستجو در خاک شهر قزوین، پنی سیلیوم مارنفتی به دست نیامد. ایم وی تایا در سال ۱۹۹۴ این قارچ را بومی جنوب شرق آسیا معرفی کرد.^(۸) دانگ در سال ۱۹۹۶ بیان داشت که پنی سیلیوزیس مارنفتی، سومین عفونت فرصت طلب در افراد HIV مثبت در جنوب شرق آسیا و جنوب چین است که با قارچ پنی سیلیوم مارنفتی بومی این نواحی انجام می شود.^(۹) موری در سال ۲۰۰۰ پنی سیلیوزیس مارنفتی را یک فرد ۳۸ ساله ژاپنی مبتلا به بیماری ایدز گزارش کرد که علی رغم درمان فوت نمود و در معاینه جسد از کبد، طحال، مغز استخوان، غدد لنفاوی و پوست او مخمرهای پنی سیلیوم مارنفتی جدا شد.^(۱۰) کلیتی در سال ۲۰۰۶ وجود پنی سیلیوزیس مارنفتی را در افراد HIV مثبت در لائوس گزارش نمود.^(۱۱) هیت در سال ۱۹۹۵ پنی سیلیوزیس مارنفتی را در فردی اهل برمه و مبتلا به ایدز گزارش کرد.^(۱۲) یک بررسی در سال ۱۹۹۸ بر روی ۲۰۰ فرد مبتلا به ایدز در هنگ کنگ نشان داد که موارد ابتلا به پنی سیلیوزیس مارنفتی در این افراد در حال افزایش است.^(۱۳) کانگ در سال ۱۹۹۲ با انجام معاینه جسد بر روی ۲۹ مورد پنی سیلیوزیس مارنفتی در جنوب چین گزارش کرد که بیش تر این بیماران مبتلا به ایدز یا دریافت کننده عضو پیوندی بودند.^(۱۴) لیائو در سال ۲۰۰۲ گزارش کرد که پنی سیلیوزیس مارنفتی منتشره یکی از مهم ترین عفونت های فرصت طلب در جنوب چین است و برای درمان آن آمفوتریسین ب و ایتراکونازول را معرفی نمود.^(۱۵) لیان در سال ۲۰۰۴، ۱۵ مورد پنی سیلیوزیس مارنفتی را در افراد با ایدز، پیوند کلیه یا آنمی آپلاستیک در استان کوانگ دانگ چین گزارش نمود.^(۱۶) ران جانا در سال ۲۰۰۲ با بررسی ۱۹۸ بیمار HIV مثبت مراجعه کننده به بیمارستان ایمفال هند نشان داد که ۴۶

نفر آنها پنی سیلیوزیس مارنفتی منتشره داشتند. برای تشخیص بیماری آنها اسمیری از ضایعه های پوستی و پونکسیون غدد لنفاوی تهیه و با رنگ رایت رنگ آمیزی شدند. زیر میکروسکپ سلول های متعدد داخل و خارج سلولی بیضی شکل، کشیده و مخمری با تقسیم دوتایی در این اسمیرها دیده شد. در مواردی که اقدام به کشت شد. نیز پنی سیلیوم مارنفتی از محیط کشت جدا شد. این موارد مؤید اندمیک بودن قارچ پنی سیلیوم مارنفتی در ایالت مانی پور هند بود.^(۱۷) دیوی در سال ۲۰۰۷ همچنین ارائه گزارشی از پنی سیلیوزیس مارنفتی در افراد مبتلا به ایدز در هند، بیان داشت این قارچ در رت های بامبو منطقه وجود داشته و از رت به انسان های مبتلا به ایدز منتقل می شود.^(۱۸) آیلو در سال ۱۹۹۵ از وقوع پنی سیلیوزیس مارنفتی در رت های بامبوی تایلند خبر داد. وی با به دام انداختن رت بامبوی منطقه و کشت دادن ریه رت ها، وجود قارچ پنی سیلیوم مارنفتی را در ۸۳ درصد آنها ثابت نمود.^(۱۹) دنگ در سال ۱۹۸۶ با بررسی ۱۹ رت بامبوی ناحیه گوانگ زی چین مشخص نمود که ۱۸ عدد آنها دارای پنی سیلیوم مارنفتی بودند.^(۲۰)

در این تحقیق از کشت ریه رت های ساکن منطقه قزوین نیز قارچ پنی سیلیوم مارنفتی به دست نیامد، نبود این قارچ در خاک قزوین می تواند به اقلیم سرد و خشک این شهر در مقایسه با اقلیم گرم و مرطوب مناطق بومی باشد. جولاندر در سال ۱۹۹۷ گزارشی از پنی سیلیوزیس مارنفتی در یک فرد سوئدی مبتلا به ایدز که به تایلند مسافرت کرده بود، ارائه نمود که اولین مورد این عفونت در فردی سوئدی بود.^(۲۱) آنتینوری در سال ۲۰۰۶ گزارشی از پنی سیلیوزیس مارنفتی منتشره را در فردی ایتالیایی و دارای HIV که ۴ سال در شمال تایلند اقامت داشتند ارائه کرد.^(۲۲) نیتایاناتا در سال ۱۹۹۹ عود پنی سیلیوزیس مارنفتی بعد از درمان را گزارش کرد و متذکر شد که باید به درمان نگه دارنده توجه نمود پروفیلاکسی جهت بیماران ایدزی ممکن است به ایجاد استرین هایی از پنی سیلیوم مارنفتی مقاوم به درمان منجر شود.^(۲۳) کانتیپونگ در سال ۱۹۹۸

9. Duong TA. Infection due to penicillium marneffeii, an emerging pathogen: review of 155 reported cases. Clin Infect Dis 1996 Jul; 23(1): 125-30
10. Mohri S, Yoshikawa K, Sagara H, Nakajima H. A case of Penicillium marneffeii infection in an AIDS Patient: the first case in Japan. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 2000; 41(1): 23-6
11. Clyti E, Sayavong K, Monchy D, Chanthavisouk K. Penicilliosis in Laos. Presse Med 2006 Mar; 35 (3 pt 1): 427-9
12. Heath TC, Patel A, Fisher D, et al. Disseminated penicillium marneffeii: presenting illness of advanced HIV infection: a clinicopathological review, illustrated by a case report. Pathology 1995 Jan; 27(1): 101-5
13. Wong KH, Lee SS. Comparing the first and second hundred AIDS cases in Hong Kong. Singapore Med J 1998 Jun; 39(6): 236-40
14. Kang XM. Penicilliosis marneffeii. Report of a case and review of literatures. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi 1992 Dec; 15(6): 336-8, 379
15. Liao X, Ran Y, Chen H, et al. Disseminated Penicillium marneffeii infection associated with AIDS, report of a case. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 2002 Mar; 82(5): 325-9
16. Liyan X, Changming L, Xianyi Z, et al. Fifteen Cases of penicilliosis in Guangdong, China. Mycopathologia 2004 Aug; 158(2): 151-5
17. Ranjana KH, Priyokumar K, Singh TJ, et al. Disseminated Penicillium marneffeii infection among HIV- infected patients in Manipur state, India. J Infect 2002 Nov; 45(4): 268-71

متذکر شد که باید تمام افراد مبتلا به ایدز که می‌خواهند به جنوب شرق آسیا سفر کنند می‌بایستی آگاهی‌های لازم در مورد پنی‌سیلیوزیس مارنفتی داده شود. تشخیص سریع بیماری میزان مرگ و میر این بیماری را کاهش می‌دهد.^(۳۴)

*مراجع:

1. Chandler JM, Treece ER, Trenary HR, et al. Protein profiling of the dimorphic, pathogenic fungus, Penicillium marneffeii. Proteome Sci 2008 Jun 4; 6: 17
2. Cao C, Li R, Wan Z, et al. The effects of temperature, PH, and salinity on the growth and dimorphism of Penicillium marneffeii. Med Mycol 2007 Aug; 45(5): 401-7
3. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical mycology. Philadelphia: Lea & Febiger, 2th ed. 1992: 755-8
4. Tsui WMS, Ma KF, Tsang DNC, Disseminated Penicillium marneffeii infection in HIV-infected subject. Histopathology 1992, 20: 287-93
5. Chariyalertsak S, Sirsanthana T, Suppartpinyo K, Nelson KE. Seasonal variation of disseminated penicillium marneffeii infections in northern Thailand: a clue to the reservoir? J Infect Dis 1996 Jun; 173 (6): 1490-3
6. Ustianowski AP, Sieu TP, Day JN. Penicillium marneffeii infection in HIV. Curr Opin Infect Dis. 2008 Feb; 21(1): 31-6
7. Vanittananakom N, Mekaprateep M, Sittiombut N, et al. Western immunoblot analysis of protein antigens of Penicillium marneffeii. J Med Vet Mycol 1997 Mar-Apr; 35(2): 123-31
8. Imwidthaya P. Update of penicilliosis marneffeii in Thailand. Review article. Mycopathologia. 1994 Sep; 127 (3): 134-7

18. Devi KR, Singh LR, Rajkumari R, et al. *Penicillium marneffei*-an indicator disease of AIDS: a case report. *Indian J Pathol Microbial* 2007 Jul; 50(3): 674-6
19. Ajello L, Padhye AA, Sukroongreung S, et al. Occurance of *Penicillium marneffei* infections among wild bamboo rats in Thailand. *Mycopathologia* 1995 Jul; 131(1): 1-8
20. Deng ZL, Yun M, Ajello L. Human penicillosis *marneffei* and its relation to the bamboo rat (*Rhizomys pruinosus*). *J Med Vet Mycol* 1986 Oct; 24(5): 383-9
21. Julander I, Petrini B. *Penicillium marneffei* infection in a Swedish HIV, infected immunodeficient narcotic addict. *Scand J Infect Dis* 1997; 29 (3): 320-2
22. Antinori S, Gianelli E, Bonaccorso C, et al. Disseminated *penicillium marneffei* infection in an HIV-Positive Italian patient and a review of cases reported outside endemic regions. *J Travel Med* 2006 May-Jun; 13(3): 181-8
23. Nittayananta W. *Penicilliosis marneffei*: another ADIS defining illness in Southeast Asia. *Oral Dis* 1999 Oct; 5(4): 286-93
24. Kantipong P, Panich V, Pongsurachet V, Watt G. Hepatic *Penicilliosis* in patients without skin lesions. *Clin Infect Dis* 1998 May; 26(5): 1215-7