Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences

Zamani, et al. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2024;46(4):443-452.
doi: 10.34172/mj.2024.046
https://mj.tbzmed.ac.ir

TUOMS PRESS

Original Article

Molecular Identification of Fungal Species Isolated from the External Surfaces of Ants Caught from Educational Hospitals in Babol City (2021-2022)

Fatemeh Zamani[1], Jalal Jafarzade[2], Ali Heidarpour[3], Mojtaba Taghizade Armaki[4], Firoozeh Kermani[4], Mohsen Karami[4*]

[1]Medical student, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
[2]Faculty of Medical Sciences, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
[3]Faculty of Health, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
[4]Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 9 Aug 2023
Accepted: 25 Nov 2023
ePublished: 1 Sep 2024

Keywords:
- Ant
- Pathogenic fungi
- Hospital

Abstract

Background. Since the ants play a key role in transmitting microorganisms, it is important to identify the fungal species isolated from the external surfaces of ants caught from hospitals. Therefore, the present study aimed to identify the fungal species isolated from the external surfaces of ants caught from Babol hospitals.

Methods. Ants were collected by trapping inside sterile tubes and were washed with normal saline for 20 seconds. Then, 100 µL of the resulting solution was cultured in Sabouraud Dextrose Agar (SDA) medium and incubated for one week at 35C°. Macroscopic, microscopic, and RFLP-PCR molecular techniques were employed to confirm the grown isolates.

Results. A total of 79 fungal isolates including 47 isolates of hyaline fungi (59.49%) and 32 isolates of black fungi (40.51%) were obtained from 63 captured ants. Out of 47 cultured fungi, 15 fungi (31.91%) were *Aspergillus niger* and 15 (31.91%) were *A. flavus*, 12 (25.53%) were *A. fumigatus* and 5 isolates were Penicillium (10.63%).

Conclusion. Taking into account the increasing number of immunocompromised patients, outbreak of *COVID-19* in recent years, and numerous reports about the invasive fungal diseases among *COVID-19* patients, it was found necessary to control the ants as carriers of these organisms.

Practical Implications. It was necessary to control these insects effectively in order to prevent the increasing prevalence of the fungal diseases among the hospitalized people.

How to cite this article: Zamani F, Jafarzade J, Heidarpour A, Taghizade Armaki M, Kermani F, Karami M. Molecular Identification of Fungal Species Isolated from the External Surfaces of Ants Caught from Educational Hospitals in Babol City (2021-2022). *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2024;46(4):443-452. doi: 10.34172/mj.2024.046. Persian.

Extended Abstract

Background

The presence of ants in the external and internal areas of hospitals raises health issues for human. Some species may pose the serious risk of carrying pathogenic micro-organisms (e.g., bacteria, parasites and fungi) on their bodies, which causes hospital infections. There are also reports of isolating fungal species in the

*Corresponding author; Email: karami158@gmail.com
© 2024 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

air and on the hospital surfaces, indicating contamination of hospital environments with pathogens. The presence of pathogenic fungal species of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acromonium*, *Rhizopus*, and *dermatophytes* in the potted plants' soil of hospitals is perhaps a potential source of nosocomial infections, as well as reports of the isolation of *Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus* and *Alternaria* in hospital air. The presence of *Candida*, *Penicillium*, and *Cladosporium* species in the operating theatre equipment and surfaces is the source of contamination of the air, surfaces, and soil of the hospital environments with pathogenic fungi. Therefore, the presence of ants in the soil and their relationship with the ambient air and surfaces in hospitals highlight their particular importance in transmitting pathogens. The ecosystem of Mazandaran Province creates suitable conditions for activities of the ants throughout the year, which may create the risk of an increased transmission of fungal pathogens. The present study, therefore, aimed to molecularly identify fungal species isolated from ants living in the hospital environment of Babol City, Mazandaran Province, Iran.

Methods

In this descriptive study, different departments of three teaching hospitals from Babol (Mazandaran province, Iran) including *Ayatollah Rouhani*, *Shahid Beheshti*, and *Shahid Yaheinejad* were examined for the presence of the ants. Then, 63 ants were caught alive from the internal and external environments of the hospitals during several months by trapping them in sterile 50 mL falcon tubes with lids, and were examined in the entomology laboratory using a stereomicroscope and valid identification keys. Sixty-three ants were then caught alive from the internal and external environments of the hospitals over a period of several months by trapping them in sterile 50 mL falcon tubes with lids and examined in the entomology laboratory using a stereomicroscope and valid identification keys.

To isolate the fungal colonies on the cuticle surface, the cuticle was washed with normal saline for 20 seconds, and 100 µL of the resulting solution was cultured on Sabouraud dextrose agar (SDA) with chloramphenicol and incubated at 35°C for one week. Various filamentous and yeast colonies were identified by performing macroscopic/microscopic examinations and further confirmed by adopting molecular methods. The phenol/chloroform/Isoamyl alcohol, 25:24:1 (v/v) with glass beads method was employed to extract the genomic DNA from the isolates. Forward primers *Bt2*a (5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC-3') and reverse primers *Bt2*b (5-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3) (Fermentase Company) were used to amplify the beta-tubulin gene in a volume of 25 microlitres. The following steps were used for amplification: initial denaturation at 95°C for 5 minutes, 35 cycles of 94°C for 45 seconds, 60°C for 45 seconds, and 72°C for 1 minute, followed by a final extension step at 72°C for 6 minutes.

The restriction enzyme *Alw*1 (*Bsp*I) (Life Technologies, USA) was used for identification of the species. The reaction mix consisted of 10 µL PCR amplicons, 1 µL BspI enzyme, 2 µL 10X Buffer Tango, and 18 µL nuclease-free water. The digested products were electrophoresed on a 2% agarose gel for 70 minutes at a voltage of 80.

Results

A total of 63 ants belonging to four genera *Camponotus*, *Furmica* sp, *Cataglyphis*, and *Lasius neglectus* were collected from different areas of three hospitals including *Ayatollah Rouhani*, *Shahid Beheshti*, and *Shahid Yahyanejad* hospitals. A total of 79 filamentous fungal isolates were isolated, including 32 isolates of black fungi (40.51%) and 47 isolates of pathogenic hyaline fungi (59.49%). The highest number of isolates was from *Ayatollah Rouhani* Hospital (34 isolates) and the lowest number was from *Shahid Beheshti* Hospital (19 isolates).

The identities of all *Aspergillus* isolates detected through macroscopic and microscopic examinations were confirmed by adopting PCR-RLFP method. *Aspergillus fumigatus* 11/47 (25.53%), *Aspergillus flavus* 15/47 (31.91%), and *Aspergillus niger* 15/47

(31.91%) were confirmed by producing fragments of "475, 74 bp", "296, 254 bp", and "312, 219 bp", respectively. Majority of the ants from which more than one fungal species was isolated belonged to *Ayatollah Rouhani* Hospital (5 ants).

Aspergillus niger and *Aspergillus flavus* were the most identified isolates, and no cases of yeasts were isolated. Out of 32 black fungus isolates, 13 ones (40.6%) were *Cladosporium*, 7 ones (21.9%) were *Alternaria*, and 12 ones (37.5%) were other black fungi.

Conclusion

Ants may have played an important role in the health of the hospitalized patients since they functioned as shelters, reservoirs, and mechanical carriers of the fungal infections. It was found necessary to control ants as carriers of these organisms due to the increasing number of immunocompromised patients and the presence of *COVID-19* in recent years, leading to the hospitalization and application of corticosteroids as well as the serious outbreak of invasive fungal disease among *COVID-19* patients.

زمانی و همکاران. *مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز*. مهر و آبان ۱۴۰۳؛ ۴۶(۴): ۴۴۳-۴۵۲.
doi: 10.34172/mj.2024.046
https://mj.tbzmed.ac.ir

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

TUOMS PRESS

مقاله پژوهشی

شناسایی مولکولی گونه‌های قارچی جدا شده از سطوح خارجی مورچه‌های صید شده از بیمارستان‌های آموزشی شهرستان بابل سال ۱۴۰۰-۱۴۰۱

فاطمه زمانی[۱]، جلال جعفرزاده[۲]، علی حیدرپور[۳]، مجتبی تقی زاده ارمکی[۴]، فیروزه کرمانی[۴]، محسن کرمی[۴*]

[۱]دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
[۲]دانشکده علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
[۳]دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
[۴]گروه قارچ شناسی و انگل شناسی دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و طب گرمسیری پژوهشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۲/۵/۱۸
پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۴
انتشار برخط: ۱۴۰۳/۶/۱۱

کلیدواژه‌ها:
- مورچه
- قارچ‌های پاتوژن
- بیمارستان

چکیده

زمینه. با توجه به نقش مورچه‌ها در انتقال میکروارگانیسم‌ها، شناسایی گونه‌های قارچی جدا شده از سطوح خارجی مورچه‌های صید شده از بیمارستان‌ها حائز اهمیت می‌باشد. لذا مطالعه حاضر جهت شناسایی گونه‌های قارچی جدا شده از سطوح خارجی مورچه‌های صید شده از بیمارستان‌های بابل طراحی گردید.

روش‌کار. مورچه‌ها با استفاده از روش تله‌گذاری داخل لوله‌های استریل جمع‌آوری شدند. پس از شستشو با سرم فیزیولوژی به مدت ۲۰ ثانیه و جداسازی کلنی‌های قارچی سطح کوتیکول، ۱۰۰ لاندا از محلول حاصل در محیط کشت قارچی، کشت داده شد و به مدت ۱ هفته در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. جهت تأیید جدایه‌های رشد یافته از روش‌های ماکروسکوپی، میکروسکوپی و تکنیک مولکولی RFLP-PCR استفاده گردید.

یافته‌ها. در مجموع ۷۹ جدایه قارچی شامل ۴۷ جدایه قارچ هیالین (۴۹/۵۹ درصد) و ۳۲ جدایه قارچ سیاه (۴۰/۵۱ درصد) از ۶۳ مورچه صید شده جدا شد. از ۴۷ جدایه قارچ هیالین، *آسپرژیلوس نایجر* و *آسپرژیلوس فلاووس*، هرکدام ۱۵ جدایه (۳۱/۹۳ درصد)، ۱۲ جدایه (۲۵/۵۳ درصد) *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و ۵ جدایه *پنی‌سیلیوم* (۱۰/۶۳ درصد) بودند.

نتیجه‌گیری. با توجه به افزایش بیماران مبتلا به نقص ایمنی و حضور بیماری کوید-۱۹ در سال‌های اخیر و همچنین گزارش‌های متعدد مبنی بر بیماری‌های قارچی مهاجم در بیماران کووید-۱۹، کنترل مورچه‌ها به عنوان ناقلین این ارگانیسم‌ها حائز اهمیت خواهد بود.

پیامدهای عملی. جهت جلوگیری از افزایش شیوع بیماری‌های قارچی در افراد بستری، کنترل بهتر این حشرات ناقل فعال لازم و ضروری می‌باشد.

مقدمه

مورچه‌ها حشراتی اجتماعی از راسته بال غشائیان که در میانه‌های دوره کرتاسه یعنی حدود ۱۱۰ تا ۱۳۰ میلیون سال پیش تکامل یافته‌اند.[۱] امروزه بیش از ۱۲۰۰۰ گونه مورچه طبقه‌بندی شده‌اند و تخمین زده می‌شود این تعداد تا ۲۲۰۰۰ گونه نیز برسد.[۲] بیش از ۱۰۰ سال پیش اولین گزارش‌ها از مورچه‌های ایرانی منتشر شده که بیشترین موارد مربوط به شمال ایران بوده است. ۱۱۰ گونه متعلق به ۲۶ جنس از شش زیر خانواده از ایران شناسایی شده است.[۳] به دلیل توانایی سازگاری بالای مورچه‌ها با محیط شهری به علت یافتن غذا، رطوبت و مکان برای تولیدمثل، یک مشکل جدی بهداشت عمومی در نظر گرفته می‌شوند.[۴] با گزارش اولین حضور

*نویسنده مسؤول؛ ایمیل: karami158@gmail.com

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز CC BY 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

موارد مورچه های آتشین در استان سیستان و بلوچستان [5] و نشان دادن اهمیت پزشکی مورچه‌های ایرانی، اهمیت این حشرات در محیط‌های بیمارستانی مورد توجه محققان قرار گرفت. وجود مورچه‌ها در محوطه بیرونی و درونی بیمارستان‌ها برای سلامت انسان مشکل‌ساز بوده و خطر احتمالی برخی از گونه‌ها به عنوان ناقل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای موجود در بدن آنها مانند باکتری‌های *استافیلوکوکوس*، *کلبسیلا*، *اسینتوباکتر*، *استرپتوکوکوس*، *انتروباکتر* و *انتروکوکوس*، انگل‌ها و قارچ‌ها که باعث عفونت‌های بیمارستانی می‌شوند، وجود دارد.[6,7] میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در بیماران درگیر با بیماری‌های عفونی، بیماران سوختگی و بیماران اورژانسی رایج هستند.[7] وجود گونه‌های قارچی بیماری‌زای *آسپرژیلوس*، *پنی‌سیلیوم*، *آکرومونیوم*، *رایزوپوس* و درماتوفیت‌ها در خاک گیاهان گلدانی بیمارستان‌ها می‌تواند منبع بالقوه عفونت بیمارستانی باشد،[8] همچنین گزارشاتی از جداسازی قارچ *پنی‌سیلیوم*، *رایزوپوس*، *آسپرژیلوس*، و *آلترناریا* در هوای بیمارستان‌ها و حضور *گونه‌های کاندیدا*، *پنی‌سیلیوم* و *کلادوسپوریوم* از وسایل و سطوح اتاق عمل، مؤید آلودگی هوا و سطوح و خاک محیط‌های بیمارستانی به قارچ‌های بیماری‌زاست.[9,10] لذا با توجه به وجود مورچه‌ها در خاک و ارتباط آنها با هوای محیط و سطوح بیمارستان‌ها، اهمیت ویژه آنها را به عنوان ناقلین عوامل بیماری‌زا نشان می‌دهد. آب و هوای گرم و مرطوب و وجود اکوسیستم جنگلی در استان مازندران، شرایط مناسبی را برای فعالیت مورچه‌ها در تمام طول سال ایجاد می‌کند و این موضوع می‌تواند خطر انتقال پاتوژن‌های قارچی توسط مورچه‌ها را افزایش دهد. از این رو مطالعه حاضر با هدف شناسایی مولکولی گونه‌های قارچی جداسازی شده از مورچه‌های ساکن محیط‌های بیمارستانی شهرستان بابل استان مازندران انجام گرفت.

روش‌کار

جمع‌آوری نمونه: مطالعه حاضر با طراحی توصیفی-مقطعی (Cross - Sectional) انجام گرفت و بخش‌های مختلف سه بیمارستان آموزشی آیت‌اله روحانی، شهید بهشتی و شهید یحیی‌نژاد بابل (استان مازندران، ایران)، از نظر وجود مورچه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. ۶۳ مورچه از محیط‌های درونی و بیرونی بیمارستان‌ها با روش تله‌گذاری در لوله‌های فالکون ۵۰ میلی‌لیتری استریل درب‌دار به صورت زنده در طول یک دوره چند ماهه صید شدند و در آزمایشگاه حشره شناسی بر اساس استفاده از استریومیکروسکوپ و کلیدهای شناسایی معتبر،[3,11-13] تا سطح جنس و گونه، مورد مطالعه و شناسایی قرار گرفتند. برای جداسازی قارچ‌های سطح بدن مورچه‌ها نیز هر ۵ عدد مورچه در ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل قرار داده شد و ۲۰ ثانیه جهت شستشو و جداسازی کلنی‌های قارچ سطح کوتیکول ورتکس شد و در نهایت ۵۰۰ میکرولیتر از مایع بدست آمده بر روی سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل ۰/۰۵ درصد کشت داده شد و به مدت ۲ هفته در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. کلنی‌های مختلف رشته‌ای و مخمری با بررسی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی شناسایی شدند [14,15] و در ادامه با روش‌های مولکولی تأیید گردید.

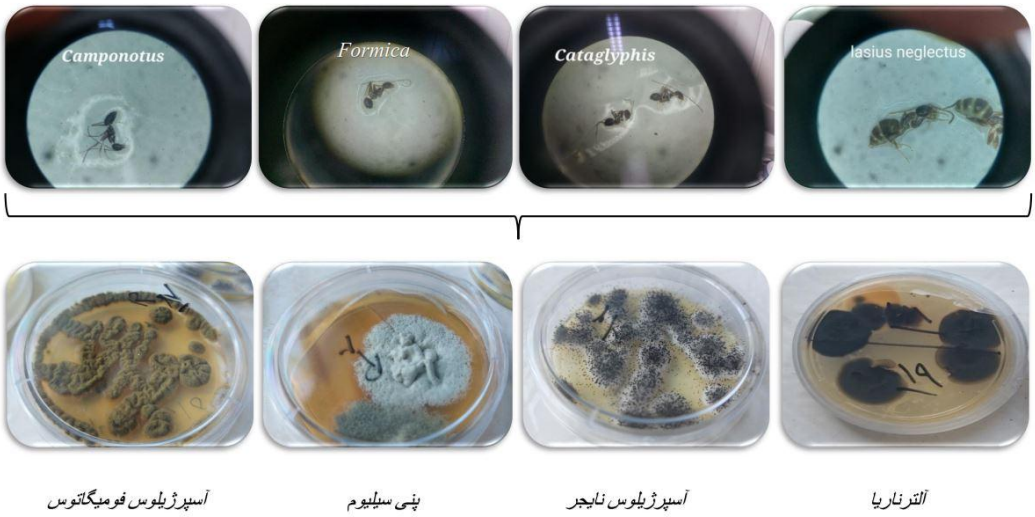
برای استخراج DNA از روش فنل کلروفرم ایزوآمیل الکل به همراه پرل‌های شیشه‌ای استفاده گردید.[16] همچنین جهت تکثیر ژن بتا توبولین نیز درحجم ۲۵ میکرولیتر از پرایمر های رفت (5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC-3'): *Bt2a* و برگشت (5-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3): *Bt2b* (شرکت فرمنتاز) با برنامه دمایی زیر استفاده شد. دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه. پس از الکتروفورز و مشاهده باندها برروی ژل آگارز ۱ درصد، برش آنزیمی با آنزیم محدودکننده *AlwI* (*Bsp*I) (Life Technologies، ایالات متحده) به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد با ترکیب واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر آمپلیکن PCR، ۱ میکرولیتر آنزیم *Alw1*، ۲ میکرولیتر بافر ۱۰x و ۱۸ میکرولیتر آب بدون نوکلئاز انجام گرفت. محصولات تکثیر برروی ژل آگارز ۲ درصد به مدت ۷۰ دقیقه با ولتاژ ۸۰ الکتروفورز شدند.[17]

یافته‌ها

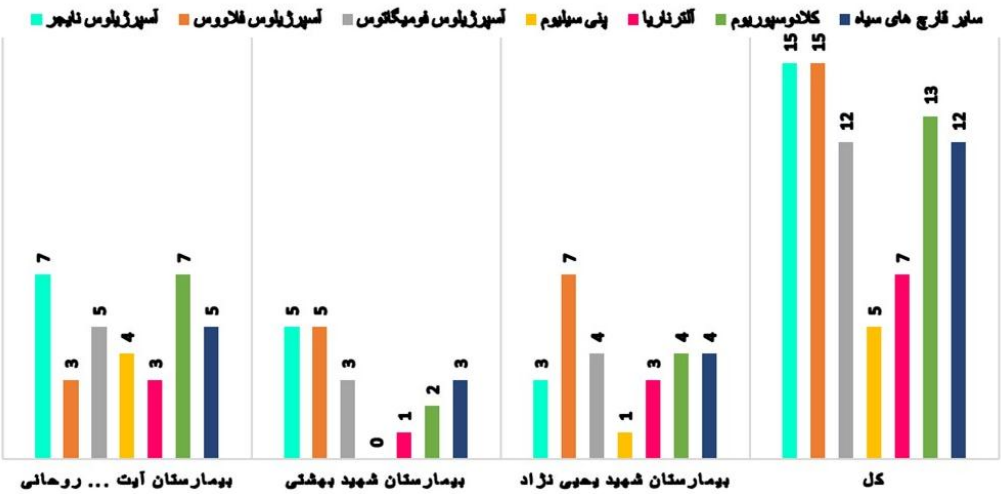
در این مطالعه، ۶۳ مورچه از مناطق مختلف سه بیمارستان آیت‌اله روحانی، شهید بهشتی و شهید یحیی نژاد صید شدند که منجر به شناسایی ۴ جنس *Camponotus*، *Formica*، *Cataglyphis* و *Lasius neglectus* گردید (شکل ۱).

در مجموع ۷۹ جدایه قارچی رشته‌ای شامل ۳۲ جدایه قارچ سیاه (۴۰/۵۱ درصد) و ۴۷ جدایه قارچ‌های هیالین پاتوژن (۵۹/۴۹درصد) جداسازی گردید که از ۴۷ جدایه قارچ هیالین، ۱۵ جدایه *آسپرژیلوس نایجر*(۳۱/۹۱ درصد)، ۱۵ جدایه *آسپرژیلوس فلاووس* (۳۱/۹۱ درصد)، ۱۲ جدایه *آسپرژیلوس فومیگاتوس* (۲۵/۵۳ درصد) و ۵ جدایه *پنی سیلیوم* (۱۰/۶۳ درصد) بودند. از ۳۲ جدایه قارچ‌های سیاه تعداد ۱۳ جدایه *کلادوسپوریوم* (۴۰/۶

درصد)، ۷ جدایه *آلترناریا* (۲۱/۹ درصد) و۱۲ جدایه‌ی دیگر سایر قارچ‌های سیاه (۳۷/۵ درصد) بودند. هویت گونه‌های جنس‌های *آسپرژیلوس* با روش RLFP-PCR (با استفاده از آنزیم *Alw* 1) تأیید گردید. بیشترین جدایه قارچی از بیمارستان آیت‌اله روحانی (۳۴ جدایه) و کمترین جدایه از بیمارستان شهید بهشتی (۱۹ جدایه) گزارش گردید. قارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر* و *آسپرژیلوس فلاووس* بیشترین جدایه‌های شناسایی شده بودند (شکل ۲). از ۳۵ مورچه، هرکدام یک جدایه قارچی پاتوژن و از ۱۱ مورچه صید شده دیگر، بیش از یک جدایه قارچی پاتوژن جداسازی شد. بیشترین مورچه‌هایی که از آنها بیش از یک گونه قارچی جدا شد، مربوط به بیمارستان آیت‌اله روحانی (۵ مورچه) بود (شکل۳). در این مطالعه هیچ موردی از قارچ‌های مخمری جداسازی نگردید. جهت تمایز بین گونه‌های *آسپرژیلوس* پس از تکثیر ژن بتاتوبولین، تمام جدایه‌های رشته‌ای توسط جفت پرایمرهای (*Bt2a* و *Bt2b*)، جهت شناسایی نوع گونه‌های *آسپرژیلوس*، از آنزیم محدود کننده *Alw*I استفاده شد. هویت تمام جدایه‌های *آسپرژیلوس* تشخیص داده شده به روش‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی، با روش PCR-RLFP تأیید گردید. با شکست آنزیمی و ایجاد قطعات ۴۷۵ و ۷۴ جفت‌بازی (*آسپرژیلوس فومیگاتوس*)، ۲۹۶ و ۲۵۴ جفت‌بازی (*آسپرژیلوس فلاووس*) و ۳۱۲ و ۲۱۹ جفت‌بازی، (*آسپرژیلوس نایجر*) به تأیید رسید (شکل ۴).

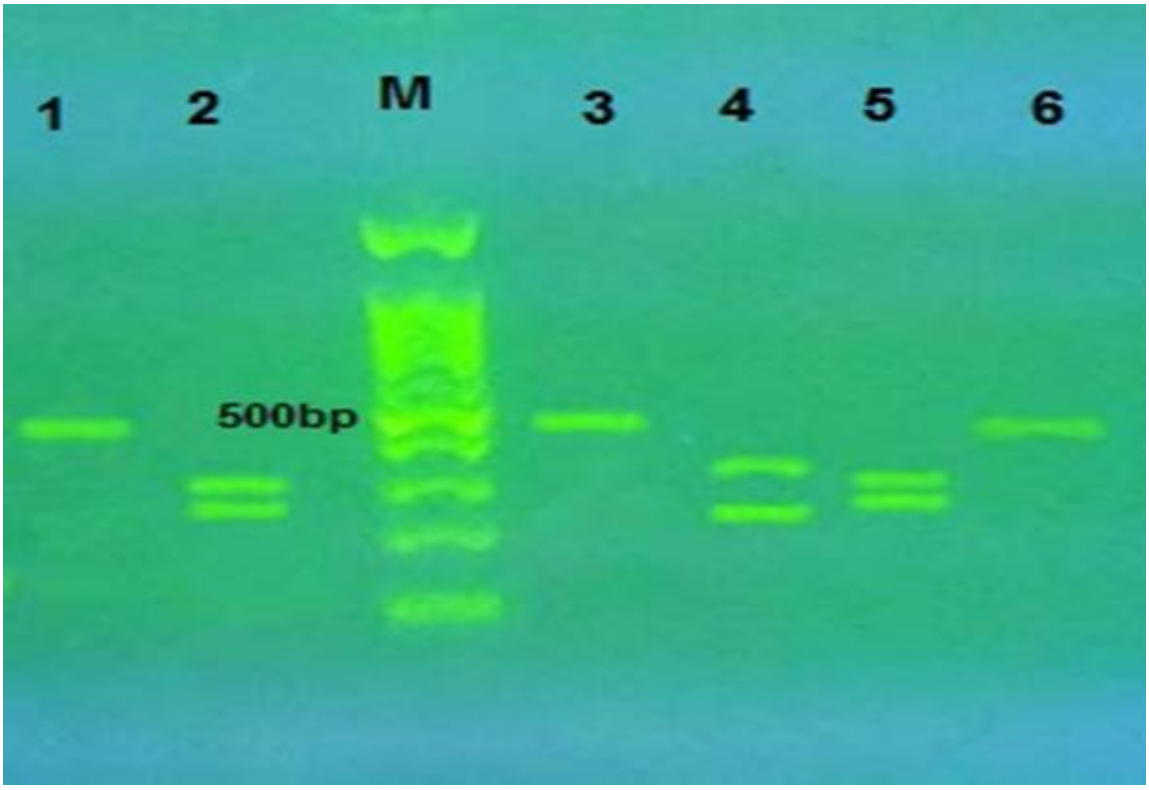


شکل ۱. نمونه‌هایی از مورچه‌های صید شده ازمحیط بیمارستانی و گونه‌های قارچی جداسازی شده از آنها



شکل ۲. جدایه‌های قارچی جدا شده از سطح بدن مورچه‌ها در بیمارستان‌های مورد مطالعه

شکل ۳. جدایه‌های قارچی جدا شده هم‌زمان از یک مورچه



شکل ۴. باندهای حاصل از شکست آنزیمی ژن بتاتوبولین با استفاده از آنزیم محدودالأثر *AlwI*، ستون‌های ۱، ۳ و ۶: *آسپرژیلوس فومیگاتوس*، ستون‌های ۲ و ۵: *آسپرژیلوس فلاووس*، و ستون ۴: *آسپرژیلوس نایجر*، M: مارکر ۱۰۰ جفت‌بازی

بحث

به دلیل ارتباط نزدیک حشرات با انسان، نقش آنها به عنوان حامل‌های مکانیکی بالقوه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مورد-مطالعه قرار گرفته است و برخی از نویسندگان گزارش کرده‌اند که حشرات می‌توانند حامل ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و تک-یاخته‌ها باشند و همچنین به‌عنوان میزبان‌های میانی کرم‌ها نیز عمل کنند، بنابراین یک خطر بالقوه برای سلامت عمومی محسوب می‌گردند.[۱۸]

در مطالعه حاضر مانند مطالعات گذشته برروی مورچه‌های صید شده از فضای آشپزخانه‌ها، فقط جدایه‌های قارچی کپکی جدا شد و هیچ جدایه‌ای از گونه‌های مخمری گزارش نگردید [۱۹، ۲۰] و این درحالیست که جسوس و همکاران در برزیل عنوان نمودند که برخی از مورچه‌ها می‌توانند ناقلین احتمالی گونه‌های *کریپتوکوکوس* باشند.[۲۱] در مطالعه دیگری که توسط دوارت و همکارانش در کشور برزیل انجام گرفت، ۱۰۲ جدایه قارچی از اسکلت بیرونی مورچه‌ها بر اساس ویژگی‌های میکروسکوپی و مولکولی شناسایی شد. آنها ٦٩ گونه قارچ سیاه شامل جنس‌های *کلادوفیالوفورا*، *کلادوسپوریوم*، *اگزوفیالا*، *فائوکوکومایسس*، *فیالوفورا* و *پنیدیلا* و ۳۳ گونه‌ها از قارچ‌های هیالین را گزارش نمودند که جنس *پنیدیلا* و *کلادوسپوریوم* از شایعترین جنس‌های قارچ سیاه و *پسیلومایسس* و*پنی‌سیلیوم* شایعترین قارچ‌های شفاف بودند.[۲۲] تفاوت در تعداد و نوع گونه‌های جداسازی شده نسبت به مطالعه حاضر را می‌توان به تفاوت در منطقه جغرافیایی و شرایط آب و هوایی و همچنین تمرکز مطالعه فوق برای جداسازی قارچ‌های سیاه در نظر گرفت. اما در هردو مطالعه، قارچ سیاه *کلادوسپوریوم* از شایع‌ترین قارچ‌های سیاه جداشده بود، هر چند در صورت شناسایی مولکولی قارچ‌های سیاه در مطالعه حاضر، امکان همخوانی بیشتر نتایج وجود داشت. آکواینو و همکارانش در سال ۲۰۱۳ در مطالعه خود در برزیل، ۱۰۶ مورچه از محیط‌های بیمارستانی صید کردند که از این تعداد ٤٧ جدایه قارچی گزارش شد. جنس‌های قارچی شایع *آسپرژیلوس*، *پنی-سیلیوم* و *فوزاریوم* بودند.[۲۳] در مطالعه حاضر ۷۹ جدایه قارچی گزارش شد که جنس *آسپرژیلوس* با ٤١ جدایه (*فلاووس* و *نایجر* هر کدام ۱۵ و فومیگاتوس ۱۲ جدایه) همانند مطالعه فوق شایع-ترین جنس جدا شده بودند. همچنین *پنی سیلیوم* (۵ جدایه) و قارچ های سیاه (۳۲ جدایه) در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. پانتوجا و همکارانش در سال ۲۰۰۹ نیز در برزیل با هدف بررسی حضور قارچ‌ها و مخمرها در سطح خارجی مورچه‌ها در بیمارستان‌ها مطالعه-ای را انجام داده و ۲۸۹۹ مورچه در دو بیمارستان درمانی در شمال شرقی برزیل را مورد ارزیابی قرار دادند. ۵ جنس و ۱۳ گونه مورچه شناسایی شد. تمایز قارچ‌ها از طریق آنالیزهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و رشد در محیط کروموژنیک انجام گرفت و مشخص شد که ۷۵ درصد مورچه‌ها ناقل قارچ بودند. قارچ‌های مخمری تنها در ٦ درصد از نمونه‌ها شناسایی شدند و در بین قارچ‌های رشته‌ای جنس *آسپرژیلوس* و *پنی‌سیلیوم*، شایعترین جنس‌های قارچی گزارش شد که با مطالعه حاضر همخوانی داشت، هرچند میزان جدایه‌های *پنی‌سیلیوم* و *آسپرژیلوس نایجر* و قارچ‌های مخمری با مطالعه ما همخوانی نداشت. بیشتر گونه‌های قارچی از مورچه‌های نوع *Tapinoma melanocephalum* و *Pheidole* شناسایی شد.[۲٤]

کلادوسپوریوم، *فوزاریوم*، *ترایکوفیتون*، *آسپرژیلوس* و *پنی-سیلیوم* نیز گونه‌های قارچی دیگری بودند که در مطالعه راندو با بررسی مورچه‌ها در مؤسسات مرتبط با منطقه بهداشتی گزارش گردید.[۲۵] درحالیکه در مطالعه اخیر برخلاف مطالعه فوق هیچ موردی از *فوزاریوم* وجنس‌های درماتوفیتی یافت نگردید، ولی در مورد جنس‌های دیگر قارچی منطبق با یافته‌های مطالعه فوق‌الذکر بود. شاید به علت عدم وجود شرایط مساعد جهت اتصال و رشد درماتوفیت ها در سطوح بدن مورچه ها و یا به علت وجود برخی از مواد و آنزیم ها، هیچ درماتوفیتی در این مطالعه گزارش نگردید. بیشترین گونه‌های قارچی جداسازی شده در مطالعه حاضر از جنس قارچ‌های رشته‌ای بوده که تقریبا با مطالعات دیگری که در برزیل توسط کوستا و همکارانش و پریرا و همکارانش انجام شد و هر کدام تنها یک مورد قارچ مخمری کاندیدا را گزارش نمودند، هم خوانی دارد.[۲٦، ۲۷] برخلاف مطالعه حاضر، در بررسی ١٤ گونه از مورچه‌های صید شده از یک بیمارستان در برزیل، وجود قارچ مخمری *کاندیدا* را در سطح بدن مورچه ها گزارش کردند.[۲۸]

مطالعات گذشته بیان داشتند که تفاوت‌هایی که در توزیع قارچ‌های رشته‌ای در کانادا در تپه‌ها و نواحی اطراف آن یافت شده، می‌تواند مبین این باشد که دما و در دسترس بودن آب در تپه‌ها، موجب متمایز شدن قارچ‌های مرتبط با مورچه‌های لانه‌ای و مورچه‌های استفاده کننده از خاک‌های مجاور باشد، لذارسوبات لانه و مورچه‌های مجاور منبع بسیار خوبی برای قارچ‌های بیماری‌زا هستند.[۲۹، ۳۰]

نتیجه‌گیری

باتوجه به افزایش بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی و استفاده روزافزون از داروهای کورتونی درسال‌های اخیر که جهان درگیر بیماری ویروسی کووید-۱۹ شده است و همچنین

گزارش‌های متعدد از شیوع بیماری‌های قارچی مهاجم در این بیمارا ، کنترل مورچه‌ها به عنوان مخزن و ناقل مکانیکی این ارگانیسم‌ها می‌تواند حائز اهمیت باشد. لذا به‌منظور جلوگیری از افزایش شیوع بیماری‌های قارچی در افراد بستری شده، نیاز به کنترل بیشتر و بهتر این حشرات وجود دارد و برنامه‌ریزی دقیق‌تری در بخش کنترل عفونت بیمارستانی را می‌طلبد.

قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل و همچنین همکاری واحد پژوهشکده سلامت دانشگاه علوم پزشکی بابل تقدیر و تشکر نمایند.

مشارکت پدیدآوران

محسن کرمی و مجتبی تقی زاده ارمکی: ایده‌پردازی و طراحی مطالعه و پردازش نهایی، فاطمه زمانی، علی حیدرپور، و جلال جعفرزاده: جمع آوری نمونه‌ها و انجام آزمایشات، فاطمه زمانی و فیروزه کرمانی: تهیه پیش نویس

دسترس‌پذیری داده‌ها

داده‌های این مطالعه در صورت درخواست معقول از پدیدآور رابط ارائه می‌گردد.

حمایت‌مالی

این پژوهش با حمایت مالی و نتیجه‌ی طرح تحقیقاتی با کد رهگیری ۷۲٤۱۳٤۱٤۹ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل صورت پذیرفت.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش با کد اخلاق IR.MUBABOL.HRI.REC.1400.263 مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل انجام گرفت.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافعی در رابطه با مطالعه حاضروجود ندارد.

References

1. Rodríguez PL, Flórez CV, Russo A, Domínguez HY, Valencia JA, Arboleda VJ, et al. The ghost ant Tapinoma melanocephalum (Formicidae) as mechanical vector of clinically important bacteria. PharmacologyOnline. 2016;1:185-91.
2. Fowler HG, Bueno OC, Sadatsune T, Montelli AC. Ants as potential vectors of pathogens in hospitals in the state of São Paulo, Brazil. International Journal of Tropical Insect Science. 1993 Jun;14(3):367-70. doi: 10.1017/s1742758400014879
3. Paknia O, Radchenko A, Alipanah H, Pfeiffer M. A preliminary checklist of the ants (Hymenoptera: Formicidae) of Iran. Myrmecological news. 2008;11:151-9.
4. Bragança MA, Lima JD. Composition, abundance and infestation rate of ant species in a children's hospital in the city of Palmas, Tocantins, Brazil. Neotropical entomology. 2010;39:124-30. doi: 10.1590/s1519-566x2010000100017
5. Akbarzadeh K, Tirgari S, Nateghpour M, Abaie MR. The first occurrence of Fire Ant Pachyconcdyla Sennaarensis (Hym: Formicidae), southeastern Iran. PJ Biol Sci. 2006;9(4):606-9. doi: 10.3923/pjbs.2006.606.609
6. Pesquero MA, Elias Filho J, Carneiro LC, Feitosa SB, Oliveira MA, Quintana RC. Ants in a hospital environment and its importance as vector of bacteria. Neotropical entomology. 2008;37:472-7. doi: 10.1590/s1519-566x2008000400017
7. Rodovalho CM, Santos AL, Marcolino MT, Bonetti AM, Brandeburgo MA. Urban ants and transportation of nosocomial bacteria. Neotropical Entomology. 2007;36:454-8. doi: 10.1590/s1519-566x2007000300014
8. Hedayati MT, Mohseni-Bandpi A, Moradi S. A survey on the pathogenic fungi in soil samples of potted plants from Sari hospitals, Iran. Journal of Hospital Infection. 2004;58(1):59-62. doi: 10.1016/j.jhin.2004.04.011
9. Mosayebi M, Eslamirad Z, Hajihossein R, Ghorbanzadeh B, Shahverdi M, Didehdar M. Evaluating of fungal contamination in hospital wet cooling systems in Markazi province, Central Iran. Journal de mycologie medicale. 2017;27(3):334-8. doi: 10.1016/j.mycmed.2017.04.003
10. Rostami N, Alidadi H, Zarrinfar H, Salehi P. Assessment of indoor and outdoor airborne fungi in an Educational, Research and Treatment Center. Italian journal of medicine. 2017;11(1):52-6. doi: 10.4081/itjm.2016.663
11. Agosti D. Encyclopedia of life: should species description equal gene sequence? Trends in Ecology &

Evolution. 2003;18(6):273. doi: 10.1016/s0169-5347(03)00099-5
12. Collingwood CA, Agosti D. Formicidae (Insecta: Hymenoptera) of Saudi Arabia (Part 2). Fauna of Saudi Arabia. 1996;15:300-85.
13. Koch F. Goulet, H. & Hubert, JF (1993): Hymenoptera of the world. An identification guide to families.—Research Branch, Agricultural Canada Publication. Canada Communication Group-Publishing, Ottawa. 668 Seiten. Preis: FF 412,—. ISBN 0-660-14933-8. Deutsche Entomologische Zeitschrift. 1995;42:444. doi: 10.1002/mmnd.19950420212
14. Merz WG, Hay RJ, editors. Topley & Wilson's Microbiology & Microbial Infections: Medical Mycology. London: Hodder Arnold; 2005.
15. Zaini F, Mehbod AS, Emami M. Comprehensive medical mycology. 5th ed. Tehran: Tehran University publications; 2013:PP:910.
16. Mirhendi H, Diba K, Kordbacheh P, Jalalizand N, Makimura K. Identification of pathogenic Aspergillus species by a PCR-restriction enzyme method. Journal of medical microbiology. 2007;56(11):1568-70. doi: 10.1099/jmm.0.47319-0
17. Nasri T, Hedayati MT, Abastabar M, Pasqualotto AC, Armaki MT, Hoseinnejad A, et al. PCR-RFLP on β-tubulin gene for rapid identification of the most clinically important species of Aspergillus. Journal of microbiological methods. 2015;117:144-7. doi: 10.1016/j.mimet.2015.08.007
18. Graczyk TK, Grimes BH, Knight R, Da Silva AJ, Pieniazek NJ, Veal DA. Detection of Cryptosporidium parvum and Giardia lamblia carried by synanthropic flies by combined fluorescent in situ hybridization and a monoclonal antibody. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2003 Feb 1;68(2):228-32. doi: 10.4269/ajtmh.2003.68.228
19. Teixeira MM, Pelli A, Dos Santos VM, Reis MD. Microbiota associated with tramp ants in a Brazilian University Hospital. Neotropical Entomology. 2009;38:537-41. doi: 10.1590/s1519-566x2009000400017
20. Simothy L, Mahomoodally F, Neetoo H. A study on the potential of ants to act as vectors of foodborne pathogens. AIMS microbiology. 2018;4(2):319. doi: 10.3934/microbiol.2018.2.319
21. Jesus MS, Rodrigues WC, Barbosa G, Trilles L, Wanke B, Lazéra MD, et al. Cryptococcus neoformans carried by Odontomachus bauri ants. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz. 2012;107:466-9. doi: 10.1590/s0074-02762012000400004
22. Duarte AP, Attili-Angelis D, Baron NC, Forti LC, Pagnocca FC. Leaf-cutting ants: an unexpected microenvironment holding human opportunistic black fungi. Antonie van Leeuwenhoek. 2014;106:465-73. doi: 10.1007/s10482-014-0215-3
23. Aquino RS, Silveira SS, Pessoa WF, Rodrigues A, Andrioli JL, Delabie JH, et al. Filamentous fungi vectored by ants (Hymenoptera: Formicidae) in a public hospital in north-eastern Brazil. Journal of Hospital Infection. 2013;83(3):200-4. doi: 10.1016/j.jhin.2012.11.022
24. Pantoja LD, Filho RM, Brito EH, Aragão TB, Brilhante RS, Cordeiro RD, et al. Ants (Hymenoptera: Formicidae) as carriers of fungi in hospital environments: an emphasis on the genera Tapinoma and Pheidole. Journal of medical entomology. 2009;46(4):895-9. doi: 10.1603/033.046.0423
25. Rando JS, Matsumoto LS, Silva GV, Quirino AF, Haddad RE. Caracterização da mirmecofauna em estabelecimentos ligados à área da saúde no município de Bandeirantes, PR. Arquivos do Instituto Biológico. 2021;76:665-71. doi: 10.1590/1808-1657v76p6652009
26. da Costa SB, Pelli A, de Carvalho GP, Oliveira AG, da Silva PR, Teixeira MM, et al. Ants as mechanical vectors of microorganisms in the School Hospital of the Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2006;39(6):527-9. doi: 10.1590/s0037-86822006000600003
27. dos Santos Pereira R, Ueno M. Ants as carriers of microorganisms in hospital environments. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2008;41(5):492-5. doi: 10.1590/s0037-86822008000500011
28. Fowler HG, Bueno OC, Sadatsune T, Montelli AC. Ants as potential vectors of pathogens in hospitals in the state of São Paulo, Brazil. International Journal of Tropical Insect Science. 1993;14(3):367-70. doi: 10.1017/s1742758400014879
29. Duff LB, Urichuk TM, Hodgins LN, Young JR, Untereiner WA. Diversity of fungi from the mound nests of Formica ulkei and adjacent non-nest soils. Canadian Journal of Microbiology. 2016;62(7):562-71. doi: 10.1139/cjm-2015-0628
30. Angelone S, Bidochka MJ. Diversity and abundance of entomopathogenic fungi at ant colonies. Journal of invertebrate pathology. 2018;156:73-6. doi: 10.1016/j.jip.2018.07.009