

Detection of Potentially Pathogenic Free-living Amoeba, from the Internal Environment of Educational Hospitals in Rasht

*Mahmoudi M R(Ph. D)^{1,2}- Hossyen Shiroudi N(MD)¹- Saadat F(Ph. D)³

*Corresponding Email Address: Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Email: mrmahmoodi20022@yahoo.com

Received: 06/Jul/2019 Revised: 21/Sep/2019 Accepted: 15/Oct/2019

Abstract

Introduction: *Acanthamoeba*, also called amphizoic amoebae, could live in various environmental sources including water, soil, dust and also human and animal tissues. This amoeba could develop diseases such as keratitis and encephalitis in high-risk individuals.

Objective: The present study was conducted considering the possible contamination of hospital wards with *Acanthamoeba* and the lack of knowledge regarding their loads in the dust of hospital wards of Guilan province.

Materials and Methods: In Guilan 2018, a total of 108 dust samples from wards including ophthalmology, ENT, hematology and chemotherapy were collected from internal environment of educational hospitals and examined for the presence of *Acanthamoeba* spp. by morphologic features of both trophozoites and cyst stages. Termotolerant assay was conducted in order to determine the presence of potentially pathogenic *Acanthamoeba* species. The collected samples were then rinsed in sterile water, and the washed solution was filtered using a vacuum pump and 0.45 µm membrane filters. In the end, the filter was cultured on Non-nutrient agar (NNA).

Results: Forty out of 109 samples were positive for *Acanthamoeba* spp. Temperature tolerance test indicates that 13 out of 40 samples could be potentially pathogenic because they grow at high temperature (42°C). The frequencies of free-living amoebae in chemotherapy, ophthalmology, ENT and hematology wards were 38.8%, 39% and 29.6% ,respectively.

Conclusion: As revealed, potentially pathogenic *Acanthamoeba* was detected from dust samples of hospital wards. Presence of the potentially pathogenic and nonpathogenic *Acanthamoeba* in hospital wards should be a concern for health authorities. Therefore, improvement of sanitation services is recommended for the prevention of infection.

Key words: *Acanthamoeba*/ Bacteria/ Dust/ Hospital Department

Journal of Guilan University of Medical Sciences \ Volume 29, Issue 2, (No 114), Pages: 30-37

Please cite this article as: Mahmoudi M R, Hossyen Shiroudi N, Saadat F. Detection of Potentially Pathogenic Free-living Amoeba, from the Internal Environment of Educational Hospitals in Rasht. J of Guilan University of Medical Sciences, 2020; 29(2): 30-37.

1. Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

2. Medical Biotechnology Research Center, school of Paramedicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

3. Department of Medical Microbiology and Parasitology, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Extended Abstract

Introduction: *Acanthamoeba*, also called amphizoic amoebae, could live in various environmental sources including water, soil, dust, and human and animal tissues. This amoeba could develop diseases such as keratitis and encephalitis in high-risk individuals (1). They are isolated from various habitats (e.g. water, soil) with worldwide distribution and separated from dialysis units, dental units, hospital plumbing systems, ventilators, ventilation systems, and physiotherapy pools (2-5).

Objective: The present study was conducted in view of the possible contamination of hospital wards with *Acanthamoeba* and the lack of knowledge regarding their distribution in the dust of hospital wards of Guilan province.

Materials and Methods: In Guilan 2018, a total of 109 dust samples from wards including ophthalmology, ENT, hematology and chemotherapy were collected from internal environment of educational hospitals, and examined for the presence of *Acanthamoeba* spp. by morphologic features of both trophozoites and cyst stages. Termotolerant assay was conducted in order to determine the presence of potentially pathogenic *Acanthamoeba* species (6,7). The collected samples were then rinsed in sterile water, and the washed solution was filtered using a vacuum pump and 0.45 µm membrane filters. In the end, the filter was cultured on Non-nutrient agar (NNA). Plates were incubated at room temperature and examined daily for the presence of FLA for up to 10 days using a light microscope (100x). Once the growth was

observed, a piece of NNA containing the suspected amoebae was subcultured on a new NNA plate and incubated at 42°C (7,8) to determine potentially pathogenic *Acanthamoeba* spp.

Results: Forty out of 109 samples were positive for *Acanthamoeba* spp. Temperature tolerance test indicated that 13 out of 40 samples could be potentially pathogenic because they grew at high temperature (42°C). The frequencies of free-living amoebae in chemotherapy, ophthalmology & ENT and hematology wards were 38.8%, 39% and 29.6%, respectively.

Conclusion: In Guilan, some reports addressed FLA isolation from surface water in the previous studies (6,7). Here, the potentially pathogenic *Acanthamoeba* was detected from dust samples of hospital wards. There are few studies on the presence of free amoebas in hospital dust in Iran and the world. *Acanthamoeba* reportedly was identified in 52.9% and 42.86% of dust samples in hospital wards in Tehran (8,9), and 42.8% of hospital wards in Kashan (10). The frequencies of *Acanthamoeba* in the dust collected from Brazilian hospitals were 34%, 23%, and 35% (11-13). Given that samples were collected from the wards associated with immunocompromised people or eye trauma, the existence of potentially pathogenic *Acanthamoeba* isolates in the hospital may serve as an opportunistic pathogen in such individuals. In addition, they can act as vectors for some bacteria, viruses and fungi (14-16). Therefore, the presence of the potentially pathogenic and nonpathogenic *Acanthamoeba* in hospital wards should be of serious concern to the health authorities.

References

1. Khan NA. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiol Rev* 2006; 30(4):564-95
2. Schuster FL, GS. V. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *Int J Parasitology* 2004; 34:1001-27.
3. LaScola B, Boyadjiev I, Greub G, Khamis A, Martin C, D. R. Amoeba-resisting bacteria and ventilator-associated pneumonia. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:815-21.
4. Chan LL, Mak JW, Low YT, Koh TT, Ithoi I, Mohamed SM. Isolation and characterization of *Acanthamoeba* spp. from air-conditioners in Kuala Lumpur, Malaysia. *Acta Trop* 2011; 117(1):23-30.
5. Castro-Artavia E, Retana-Moreira L, Lorenzo-Morales J, Abrahams-Sandi E. Potentially pathogenic *Acanthamoeba* genotype T4 isolated from dental units and emergency combination showers. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2017; 112(12):817-21.
6. Mahmoudi MR, Taghipour N, Eftekhari M, Haghghi A, Karanis P k. Isolation of *Acanthamoeba* species in surface waters of Gilan province-north of Iran. *Parasitol Res* 2012; 110(1):473-7.
7. Mahmoudi MR, Kazemi B, Haghghi A, Karanis P. Detection of *Acanthamoeba* and *Toxoplasma* in River Water Samples by Molecular Methods in Iran. *Iranian journal of parasitology* 2015; 10(2):250-7.
8. Lasjerdi Z, Niyyati M, Haghghi A, Shahabi S, Biderouni FT, Taghipour N, Eftekhari M, Nazemalhosseini Mojarad E. Potentially pathogenic free-living amoebae isolated from hospital wards with immunodeficient patients in Tehran, Iran. *Parasitol Res* 2011; 109(3):575-80.

9. Lasjerdi Z, Niyati M, Lorenzo-Morales J, Haghghi A, Taghipour N. Ophthalmology hospital wards contamination to pathogenic free living Amoebae in Iran. *Acta Parasitol* 2015; 60(3):422-17.
10. Golestani MH, Rasti S, Hooshyar H, Delavari M, Mousavi SGM, Iranshahi L, et al. Molecular Identification and Genotyping of Acanthamoeba Isolated from Environmental Sources in Kashan, Central Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2018; 11(4):e55582.
11. Carlesso AM, Simonetti AB, Artuso GL, Rott MB. Isolation and identification of potentially pathogenic free-living amoeba in samples from environments in a public hospital in the city of porto Alegre, Rio Grand do sull. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40(3) :316-20.
12. Carlesso AM, Artuso GL, Caumo K, Rott MB .Potentially pathogenic acanthamoeba isolated from a hospital in Brazil. *Curr Microbiol* 2010; 60(3):185-90.
13. Silva M. A, Rosa J.A. Isolamento de amebas de vida livre potencialmente patogênicas em poeiras de hospitais. *Rev Saúde Pública* 2003; 37 (2): 242-6.
14. Zhao G, Sun S, Zhao J, Xie L. Genotyping of Acanthamoeba isolates and clinical characteristics of patients with Acanthamoeba keratitis in China. *J Med Microbiol* 2010; 59(Pt 4):462-6.
15. Mahmoudi MR, Berenji F, Fata A, Najafzadeh MJ, Asadian A, Salehi M. Morphological Characterization of Potentially Pathogenic Thermophilic Amoebae Isolated From Surface Water in Mashhad, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8(4):e25944.
16. Pagnier I, Raoult D, La Scola B. Isolation and identification of amoeba-resisting bacteria from water in human environment by using an Acanthamoeba polyphaga co-culture procedure. *Environ Microbiol* 2008; 1(5):1135–44.

شناسایی آمیب‌های آزادزی بالقوه بیماری‌زا در نمونه‌های گرد و غبار بیمارستان‌های شهر رشت

*دکتر محمدرضا محمودی (Ph.D)^۱ - دکتر نسترن حسین شیرویدی (MD)^۱ - دکتر فرشید سعادت (Ph.D)^۲

^۱نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

پست الکترونیکی: mrmahmoodi2002@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۴/۱۵ تاریخ ارسال جهت اصلاح: ۹۸/۶/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۲۳

چکیده

مقدمه: آمیب‌های آزادزی توانایی زیست در منابع محیطی مختلف مانند آب، خاک و گرد و غبار را دارند. آنها می‌توانند سبب آنفولانزا در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی شوند، اما کراتیت آکانتامیایی بیشتر در افراد با ایمنی سالم که آسیب جزئی در قرنیه دارند یا از لنزهای تماسی استفاده می‌کنند گزارش می‌شود. افزایش موارد آکانتامیازیس در دهه‌های اخیر سبب شده است که بررسی این تک یاخته در نمونه‌های مختلف محیطی و بالینی مورد توجه قرار گیرد.

هدف: نبودن داده‌های دقیق در مورد وضعیت این تک یاخته‌ها در گرد و غبار فضاهای داخلی بخش‌های چشم و شیمی درمانی بیمارستان‌های استان گیلان در سال ۱۳۹۷. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه توصیفی، ۱۰۹ نمونه گرد و غبار از بخش‌های چشم پزشکی، هماتولوژی و شیمی درمانی بیمارستان‌های منتخب شهر رشت در سال ۱۳۹۷ گردآوری و به آزمایشگاه گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی انتقال داده شد. شناسایی آمیب بر پایه ویژگی‌های مورفولوژی آکانتامیا در محیط کشت و مشاهده میکروسکوپی انجام شد. نمونه‌ها پس از آماده‌سازی، بر محیط آگار غیر مغذی ۱/۵٪ کشت داده شدند. در مورد نمونه‌های کشت مثبت، برای تعیین پتانسیل بیماری‌زایی، نمونه‌ها مجدداً کشت داده شده و آزمون تحمل حرارتی انجام شد.

نتایج: از ۱۰۹ نمونه، ۴۰ نمونه از نظر آمیب آزادزی در محیط کشت مثبت بودند. از ۴۰ نمونه مثبت در محیط کشت، ۱۳ ایزوله در تست تحمل حرارتی نیز رشد کردند که نشانه پتانسیل بیماری‌زایی آنهاست. میزان فراوانی آکانتامیا در بخش‌های شیمی درمانی و هماتولوژی به ترتیب ۳۸/۸٪ و ۲۹/۶٪ بوده است. ۳۹٪ نمونه‌های گردآوری شده از بخش چشم و گوش - حلق - بینی نیز از نظر آکانتامیا مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: در گرد و غبار بیمارستان‌های مورد بررسی، درصد بالایی از آکانتامیا وجود دارد. وجود آمیب‌های بالقوه بیماری‌زای زاناید شد. این نخستین مطالعه در مورد شناسایی آکانتامیای بالقوه بیماری‌زا در گرد و غبار بیمارستان در استان گیلان بود. بنابراین، حضور این آمیب‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا در بخش‌های چشم و شیمی درمانی بیمارستان‌ها می‌تواند تهدید جدی برای سلامت میزبان حساس و پرخطر به شمار آید. بنابراین بهبود روش‌های ضدعفونی و به کمینه رساندن خطر ابتلا، همچنین آگاه ساختن افراد دچار ضعف سیستم ایمنی و افرادی که از لنز تماسی استفاده می‌کنند از خطر احتمالی تماس با گرد و غبار بایسته است.

کلید واژه‌ها: آکانتامیا / باکتری‌ها / بخش‌های بیمارستان / گرد و خاک

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره ۲۹ شماره ۲ (پیاپی ۱۱۴)، صفحات: ۳۷-۳۰

مقدمه

امکان ابتلای به عفونت‌های آکانتامیایی در افراد با خطر بالا (high risk) را افزایش می‌دهد (۷) و بیشتر انسان‌ها در طول زندگی خود با این آمیب روبرو خواهند شد (۸). این مساله بویژه در افراد دچار نارسایی سیستم ایمنی و افراد استفاده‌کننده از لنزهای تماسی اهمیت دارد زیرا آمیب توان به ایجاد عفونت پوست و آنفولانزا آمیبی گرانولوماتوز (GAE) در بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی را دارد. همچنین، می‌تواند باعث کراتیت بویژه در استفاده‌کنندگان از لنزهای تماسی شود (۹). این تک یاخته، افزون بر توانایی ایجاد بیماری، قادر است برخی باکتری‌های بیماری‌زای زاناید لژیونلا و

آمیب‌های آزادزی، افزون بر توانایی زیست به صورت آزاد در طبیعت، توان ایجاد عفونت در دستگاه عصبی مرکزی انسان و حیوانات را دارند و در صورت ایجاد بیماری در بیشتر موارد به مرگ می‌انجامد (۱) آکانتامیا، شایع‌ترین و فراوان‌ترین آمیب آزادزی است که در محیط زندگی انسان وجود دارد (۲). این آمیب با انتشار جهانی از زیستگاه‌های متنوعی چون آب و خاک جدا شده است. همچنین، از واحدهای دیالیز، واحدهای دندانپزشکی، سیستم‌های لوله‌کشی بیمارستان‌ها، ونتیلاتورها، سیستم‌های تهویه و استخرهای فیزیوتراپی نیز جدا شده است (۳-۶). انتشار گسترده این آمیب در محیط،

۱. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۲. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

۳. گروه میکروبی‌شناسی و انگل‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

نمونه های جمع آوری شده، در آب استریل شستشو و محلول حاصل از این شستشو، با استفاده از پمپ خلاء و فیلترهای غشایی ۰/۴۵ میکرونی، فیلتر شدند. سپس، فیلتر به صورت وارونه بر محیط کشت آگار غیر مغذی ۱/۵٪ پوشیده شده با باکتری اشیریشیا کولای قرار گرفت. محیط های کشت در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه شده و روزانه با میکروسکوپ نوری از نظر تروفوزوایت یا کیست آمیب، بر پایه شکل و اندازه کیست و تروفوزوایت بررسی شد.

خالص سازی و آزمون تحمل حرارتی

در این مطالعه، برای نشان دادن ویژگی هایی که بر اساس آن آکانتامبا به عنوان آمیب بالقوه بیماریزا در نظر گرفته می شود، از تست تحمل حرارتی استفاده شد. اما چون در برخی پلیت-ها به جز آمیب آکانتامبا در دیگر آمیب های آزادی نیز رشد میکنند، برای خالص سازی ایزوله ها و بررسی بهتر و دقیق تر و تست تحمل حرارتی، باید آن را خالص سازی کرد بدین-صورت که پس از بررسی میکروسکوپی، بخشی از محیط کشت را که حاوی آکانتامبا بوده و پیرامون آن بدون باکتری، قارچ یا سایر آمیب ها باشد، علامتگذاری کرده و به محیط کشت دیگر منتقل می شد، پلیت ها روزانه از نظر رشد آمیب بررسی می شد. این کار تا بدست آوردن یک پلیت خالص تر از نظر آمیب مورد نظر، ادامه می یافت. در پایان تست تحمل حرارتی برای تعیین پتانسیل بیماریزایی، نمونه های خالص سازی شده به یک محیط کشت جدید منتقل شده و در دمای ۴۲ قرار می گرفتند و هر روز از نظر رشد و تکثیر آکانتامبا در این دما بررسی میکروسکوپی می شدند.

شیوه گردآوری آمیب ها از سطح پلیت

این کار برای خالص سازی ایزوله ها و بررسی دقیق میکروسکوپی انجام شد. با استفاده از پی پت پاستوراستریل، ۵-۴ میلی لیتر فسفات بافر استریل بر محیط کشت ریخته و سپس با استفاده از میله شیشه ای خمیده، سطح پلیت کاملاً با فسفات بافر مخلوط می شد تا تروفوزوایت ها در بافر غوطه-ور شوند. در گامه پسین تروفوزوایت و کیست ها همراه بافر با استفاده از پیپت پاستور به میکروتیوب انتقال پیدا کرده و با سانتریفیوژ در دور ۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه، رسوب کافی از آمیب ها بدست می آمد.

مایکوباکتریوم های غیر توپرکلوز را در داخل خود حمل کند. به راستی آمیب به عنوان مخزن طبیعی و به عنوان اسب تروجان (Trojan horses) عمل کرده و پتانسیل انتقال عوامل میکروبی به انسان را افزایش می دهد (۱۰). افراد در معرض خطر در بیمارستان ها، بیمارانی هستند که دچار نقص سیستم ایمنی بوده یا از تروماهای چشمی به دلایل مختلف مانند جراحی های چشم یا زخم قرنیه رنج می برند. از سوئی در این محیط ها، ناآگاهی کارکنان و بیماران، برخوردار نبودن بخش های مختلف از برنامه ضد عفونی درست و کامل، گردو غبار چیلرها و همچنین بیوفیلم تشکیل شده در سرویس های بهداشتی که زیستگاه مناسب آمیب می باشند، عواملی هستند که خطر ابتلای به عفونت های آکانتامبایی را در افراد مستعد افزایش می دهند. این آمیب در مطالعات پیشین در استان گیلان، از نمونه های آب های سطحی جداسازی و شناسایی شده است (۱۲ و ۱۱). مطالعات محدودی در زمینه شناسایی آکانتامبا در گردو غبار بیمارستان ها در ایران و دنیا انجام شده است اما در این زمینه مطالعه ای در استان گیلان انجام نشده است. بنابراین، مطالعه حاضر با توجه به نگرانی ابتلاء به این آمیب مانند کراتیت و آنسفالیت آمیبی در افراد مستعد و نبودن اطلاعات دقیق در مورد وضعیت آن ها در بیمارستان های استان گیلان، طراحی و اجرا شده است.

مواد و روش ها

نوع مطالعه و جمع آوری نمونه های گرد و غبار در این مطالعه توصیفی - مقطعی، ۱۰۹ نمونه گرد و غبار موجود در بخش های جراحی چشم و گوش - حلق - بینی، هماتولوژی و شیمی درمانی بیمارستان های آموزشی درمانی شهر رشت (بیمارستان رازی و امیرالمومنین) در سال ۱۳۹۷ بررسی شد. نمونه برداری از گرد و غبار به صورت هدفمند از دریچه های کولر، سطح روشویی، پنجره، شופاژ و گوشه های اتاق بیماران بستری در بخش های نامبرده گردآوری شد. نمونه های گرد و غبار با استفاده از گاز استریل جمع آوری و به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده پزشکی منتقل شد.

فیلتراسیون و کشت نمونه ها

نتایج

شیمی درمانی و هماتولوژی به ترتیب ۳۸/۸٪ و ۲۹/۶٪ بوده است. ۳۹٪ نمونه‌های جمع‌آوری شده از بخش چشم و گوش - حلق - بینی نیز از نظر آکانتامبا مثبت بودند. همچنین، آکانتامبا در نواحی مختلف این بیمارستان‌ها شناسایی شد که بیشترین میزان آلودگی مربوط به نمونه‌های جمع‌آوری شده از شופاژها و گوشه‌های اتاق بیماران بوده و پس از آن به ترتیب از پنجره‌ها، روشویی، دریچه‌های کولر و هواکش‌ها بیشترین آلودگی به آکانتامبا بدست آمد (جدول ۱).

در این بررسی از ۱۰۹ نمونه گردوغبار گردآوری شده از بخش‌های مختلف بیمارستان امیرالمومنین و بیمارستان رازی رشت، ۴۰ نمونه در محیط کشت آگار غیر مغذی پس از ۷-۵ روز مثبت شد. همه محیط‌های منفی به مدت یک ماه بررسی شد تا از رشد نکردن آکانتامبا اطمینان حاصل شود. از ۴۰ نمونه مثبت در محیط کشت، ۱۳ ایزوله در تست تحمل حرارتی نیز رشد کردند. میزان فراوانی آکانتامبا در بخش‌های

جدول ۱: توزیع فراوانی آکانتامبا در نمونه‌های گرد و غبار بخش‌های مختلف بیمارستان‌های آموزشی شهر رشت در سال ۱۳۹۷

جمع	بیمارستان رازی						بیمارستان امیرالمومنین				محل نمونه برداری
	شیمی درمانی			هماتولوژی			بخش چشم/ ENT				
کشت مثبت	تعداد نمونه	نتیجه تست تحمل حرارتی	کشت مثبت	تعداد نمونه	نتیجه تست تحمل حرارتی	کشت مثبت	تعداد نمونه	نتیجه تست تحمل حرارتی	کشت مثبت	تعداد نمونه	
۲۲	۳۶	۱	۶ (۷۵٪)	۸	۱	۴ (۵۰٪)	۸	۳	۱۲ (۶۰٪)	۲۰	شופاژها و گوشه‌های اتاق بیماران
(۱۱.۶۱٪)											
۱۰	۲۹	۱	۰	۶	۰	۳ (۴۲/۸٪)	۷	۲	۷ (۴۳/۷٪)	۱۶	پنجره‌ها
(۴.۸۳٪)											
۵	۲۶	۰	۰	۳	۰	۱ (۱۴/۲٪)	۷	۳	۴ (۲۵٪)	۱۶	روشویی
(۲.۳۱٪)											
۳	۱۸	۰	۱ (۱۰۰٪)	۱	۰	۰	۵	۲	۲ (۱۶/۶٪)	۱۲	دریچه کولر و هواکش
(۱.۶۶٪)											
۴۰	۱۰۹	۲	۷ (۳۸/۸٪)	۱۸	۱	۸ (۲۹/۶٪)	۲۷	۱۰	۲۵ (۳۹٪)	۶۴	جمع
(۶.۹۳٪)											

بحث و نتیجه گیری

حضور آمیب‌های آزادزی در گرد و غبار بیمارستان‌ها مطالعات کمی در ایران و جهان وجود دارد. آمیب‌های آزادزی در ۵۲/۹٪ بخش‌های ضعف سیستم ایمنی (بخش‌های پیوند عضو، HIV، بدخیمی، لوسمی و انکولوژی) (۱۶) و ۴۲/۸٪ نمونه‌های گردوغبار بخش‌های چشم پزشکی (۱۷) بیمارستان‌های تهران و ۴۲/۸٪ نمونه‌های گردوغبار بیمارستان‌های کاشان (۱۸) گزارش شده است. همچنین فراوانی آکانتامبا در گردوغبار نمونه‌های جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های برزیل ۳۴/۱۹٪ و ۲۳/۲۰٪ بدست آمده است. در محدوده

آکانتامباها به‌طور گسترده در محیط پراکنده هستند و انسان‌ها از راه تماس با آب، خاک آلوده و همچنین استنشاق، این آمیب‌ها آلوده می‌شوند (۱۳). رده‌بندی نخستین گونه‌های مختلف این آمیب‌ها بر پایه مورفولوژی، شکل و اندازه ی کیست‌هاست (۱۴) و بر این اساس، در مطالعه‌ی ما، آکانتامبا در ۴۰ نمونه (۶۹.۳۶٪) از ۱۰۹ نمونه‌ی گردوغبار بیمارستان‌های دانشگاهی شهر رشت جدا شد. در مطالعات پیشین، این آمیب از ۷۰/۳٪ و ۸۸/۲٪ نمونه آب جمع‌آوری شده از رودخانه‌های گیلان نیز شناسایی شده است (۱۱ و ۱۵). در زمینه

باشد. با توجه به این‌که در مطالعه حاضر، نمونه‌ها مربوط به بخش‌هایی است که افراد دارای ضعف سیستم ایمنی یا ترومای چشم مراجعه می‌کنند لذا وجود گونه‌های بالقوه بیماری زا اکتانامبا در محیط بیمارستان، می‌تواند در این افراد به عنوان یک بیماری زای فرصت طلب عمل کرده و خطر بالقوه برای سلامت مراجعان، پرسنل و بویژه بیماران ضعف سیستم ایمنی بشمار آید. زیرا این آمیب‌ها می‌توانند به صورت فرصت طلب سبب بیماری‌های کشنده در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی یا حتی نابینایی در افراد دارای ترومای چشمی شوند. از سویی افزون بر گونه‌های بیماری‌زا، گونه‌های غیربیماری‌زا شناسایی شده در این مطالعه نیز از نظر بهداشت عمومی اهمیت دارند زیرا می‌توانند به عنوان ناقل برخی از باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها عمل کنند (۲۲). اکتانامبا باعث محافظت این میکروارگانیسم‌ها در برابر ضدعفونی کننده‌ها می‌شوند و بدین ترتیب موجب بروز سایر عفونت‌های بیمارستانی می‌شود. بنابراین، شناسایی اکتانامبا در این بیمارستان‌ها مستلزم توجه ویژه و ارتقای شیوه‌ی ضدعفونی بخش‌هاست به ویژه محل‌هایی که بیماران دچار ضعف سیستم ایمنی و نیز ترومای چشم پذیرش و معالجه می‌شوند.

نتیجه گیری نهایی

در این مطالعه، وجود اکتانامبا بالقوه بیماری‌زا در نمونه‌های مورد بررسی، اثبات شد. همچنین، اکتانامبا غیربیماری‌زا شناسایی شده در این مطالعه نیز می‌تواند به عنوان ناقل برخی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا عمل کند. بنابراین، بهبود روش‌های ضدعفونی و به کمینه‌رساندن خطر ابتلاء، همچنین، آگاه ساختن افراد دچار ضعف سیستم ایمنی و افرادی که از لنز تماسی استفاده می‌کنند وابسته است توصیه می‌شود.

سپاسداری و سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان نامه دوره پزشکی عمومی با کد پایان نامه ۲۱۶۰ و کد اخلاق IR.GUMS.REC.1397.079 بود که با پشتیبانی دانشگاه علوم پزشکی گیلان انجام شده است. از زحمات خانم بهناز رحمتی نیز در انجام این پایان نامه سپاسگزاری می‌شود. نویسندگان اعلام می‌دارند که در این مورد هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

مطالعات انجام شده بر نمونه‌های گرد و غبار در ایران، اکتانامبا از ۲۸/۵٪ بخش‌های چشم پزشکی در تهران (۱۷)، ۷۲/۵٪ بخش‌های ENT (گوش، حلق و بینی) و کموتراپی و ۵۲/۵٪ نمونه مربوط به بخش همودیالیز در کاشان شناسایی شده است (۱۸). در این مطالعه، میزان فراوانی اکتانامبا در بخش‌های شیمی درمانی و هماتولوژی به ترتیب ۳۸/۸٪ و ۲۹/۶٪ بوده است. همچنین، ۳۹٪ نمونه‌های جمع‌آوری شده از بخش چشم و گوش - حلق - بینی از نظر اکتانامبا مثبت بود که کمتر از میزان فراوانی اکتانامبا در مطالعه کاشان است. کاشان در موقعیت بیابانی قرار گرفته است و با کاهش بارندگی و توفان‌های گرد و خاک روبروست که این شرایط شیوع بالای این آمیب در گردوغبار بیمارستان‌های بررسی شده در کاشان را توجیه می‌کند. مطالعات محدودی نیز در خارج از کشور این آمیب را در نمونه‌های گرد و غبار بیمارستانی بررسی کرده اند. در مطالعه سیلویا در برزیل، اکتانامبا از ۴۵/۵٪ نمونه گرد و غبار مربوط به ۲ بیمارستان گزارش شد (۲۱). این میزان فراوانی گزارش شده بیش از میزان فراوانی اکتانامبا جدا شده از بیمارستان‌های رشت است. در سال ۲۰۰۷ کارلسو و همکاران وجود آمیب‌های آزادی در گرد و غبار جمع‌آوری شده از بیمارستان‌های دولتی در برزیل را بررسی کردند. همچنین، ۳۵٪ نمونه‌های جمع‌آوری شده از نقاط مختلف بیمارستان از نظر آمیب آزادی مثبت بود و از این میان ۳۴٪ آنها اکتانامبا گزارش شد (۱۹). نتیجه این مطالعه مشابه نتایج تحقیق ماست. در مطالعه دیگری توسط کارلسو و همکاران در ۲۰۱۰ بر نمونه‌های محیطی بیمارستان در برزیل، ۲۳٪ ایزوله‌ها، از نظر مرفولوژی اکتانامبا گزارش شدند و با تست تحمل حرارتی و اسمولاریته، ۴۳٪ ایزوله‌ها بالقوه پاتوژن تشخیص داده شدند (۲۰). در تحقیق حاضر نیز با تست تحمل حرارتی، ۱۳ نمونه (۳۲/۵٪) از ۴۰ نمونه کشت مثبت قادر بودند در دماهای بالای ۴۰ درجه نیز رشد کنند که نشان دهنده وجود ایزوله‌های بالقوه پاتوژن در نمونه‌های مورد بررسی است. در مجموع تفاوت در میزان فراوانی این تکه یاخته در بیمارستان‌های مختلف، می‌تواند ناشی از میزان ورود و خروج افراد، برنامه ضدعفونی کردن بیمارستان‌ها، میزان رعایت بهداشت عمومی و وضعیت آب و هوای آن مناطق

1. Ramirez E, Campoy E, Matuz D, Robles E. Acanthamoeba isolated from contaminated groundwater. *J Eukaryot Microbiol* 2006; 53 Suppl 1:S10-1.
2. Marciano-Cabral F, Cabral G. Acanthamoeba spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev*. 2003; 16(2): 273-3.
3. Schuster FL, GS. V. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *Int J Parasitol* 2004; 34:1001-27.
4. LaScola B, Boyadjiev I, Greub G, Khamis A, Martin C, D. R. Amoeba-resisting bacteria and ventilator-associated pneumonia. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:815-21.
5. Chan LL, Mak JW, Low YT, Koh TT, Ithoi I, Mohamed SM. Isolation and characterization of Acanthamoeba spp. from air-conditioners in Kuala Lumpur, Malaysia. *Acta Trop* 2011; 117(1):23-30.
6. Castro-Artavia E, Retana-Moreira L, Lorenzo-Morales J, Abrahams-Sandi E. Potentially pathogenic Acanthamoeba genotype T4 isolated from dental units and emergency combination showers. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2017; 112(12):817-21.
7. Stehr-Green JK, Bailey TM, Visvesvara GS. The epidemiology of Acanthamoeba keratitis in the United States. *Am J Ophthalmol* 1989; 107(4):331-6.
8. Chappell CL, Wright JA, Coletta M, Newsome AL. Standardized method of measuring acanthamoeba antibodies in sera from healthy human subjects. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8(4):724-30.
9. Khan NA. Acanthamoeba: biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiol Rev* 2006; 30(4): 564-95.
10. Castro-Artavia E, Retana-Moreira L, Lorenzo-Morales J, Abrahams-Sandi E. Potentially pathogenic Acanthamoeba genotype T4 isolated from dental units and emergency combination showers. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2017; 112(12):817-821.
11. Mahmoudi MR, Taghipour N, Eftekhari M, Haghghi A, Karanis P. Isolation of Acanthamoeba species in surface waters of Gilan province-north of Iran. *Parasitol Res* 2012; 110(1):473-7.
12. Mahmoudi MR, Rahmati B, Seyedpour SH, Karanis P. Occurrence and molecular characterization of free-living amoeba species (Acanthamoeba, Hartmannella, and Saccamoeba limax) in various surface water resources of Iran. *Parasitol Res* 2015; 114(12):4669-74.
13. Teixeira LH, Rocha S, Pinto RM, Caseiro MM, Costa SO. Prevalence of Potentially Pathogenic Free-Living Amoebae from Acanthamoeba and Naegleria Genera in Non-Hospital, Public, Internal Environments from the City of Santos, Brazil. *Braz J Infect Dis* 2009; 13(6):395-7.
14. Pussard M, Pons R. Morphology of cystic wall and taxonomy of genus Acanthamoeba (Protozoa, Amoebida). *Protistologica*. 1977; 13(4):557-98.
15. Mahmoudi MR, Kazemi B, Haghghi A, Karanis P. Detection of Acanthamoeba and Toxoplasma in River Water Samples by Molecular Methods in Iran. *Iran J Parasitol* 2015; 10(2):250-7.
16. Lasjerdi Z, Niyati M, Haghghi A, Shahabi S, Biderouni FT, Taghipour N, Eftekhari M, Nazemalhosseini Mojarad E. Potentially pathogenic free-living amoebae isolated from hospital wards with immunodeficient patients in Tehran, Iran. *Parasitol Res* 2011; 109(3):575-80.
17. Lasjerdi Z, Niyati M, Lorenzo-Morales J, Haghghi A, Taghipour N. Ophthalmology hospital wards contamination to pathogenic free living Amoebae in Iran. *Act Parasitol* 2015; 60(3):422-17.
18. Golestani MH, Rasti S, Hooshyar H, Delavari M, Mousavi SGM, Iranshahi L, et al. Molecular Identification and Genotyping of Acanthamoeba Isolated from Environmental Sources in Kashan, Central Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2018; 11(4):e55582.
19. Carlesso AM, Simonetti AB, Artuso GL, Rott MB. Isolation and identification of potentially pathogenic free-living amoeba in samples from environments in a public hospital in the city of porto Alegre, Rio Grand do sull. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40(3):316-20
20. Carlesso AM, Artuso GL, Caumo K, Rott MB. Potentially pathogenic acanthamoeba isolated from a hospital in Brazil. *Curr Microbiol* 2010;60(3):185-90.
21. Silva M. A, Rosa J.A. Isolamento de amebas de vida livre potencialmente patogênicas em poeiras de hospitais. *Rev Saúde Pública* 2003; 37 (2): 242-6.
22. Zhao G, Sun S, Zhao J, Xie L. Genotyping of Acanthamoeba isolates and clinical characteristics of patients with Acanthamoeba keratitis in China. *J Med Microbiol* 2010; 59(Pt 4):462-6.