

Detection of Free Living Amoeba *Acanthamoeba* in the Nasal and Oral Discharges of HIV⁺ / HIV⁻ Sample in Arak

Ghane Azabadi O¹, Didgar F², Zarinfar N², Rafiei F³, Eslamirad Z*¹

1. Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

2. Department of Infectious Diseases, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

3. Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Scientific Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +9834173503-9, Fax: +9834173520, E-mail: dr.eslami@arakmu.ac.ir

Received: Oct 22, 2019 Accepted: Dec 21, 2019

ABSTRACT

Background & objectives: Impaired immune system provides favorable conditions for colonization by *Acanthamoeba* in the human body. In this case control study, we compared the molecular and culture methods in identifying *Acanthamoeba* in the nasal and oral secretions of HIV⁺/HIV⁻ human.

Methods: In a current case control study, nasal and oral discharge of 53, HIV⁺ patients and 53, HIV⁻ people were evaluated. The nasal and oral secretions of each patient were prepared by sterile swabs and transferred to the laboratory. All samples were cultured but only the positive samples used for molecular analysis.

Results: By cultivation method, of the 53, HIV⁺ patients, a total of 11 samples, including 5 nasal and 6 oral samples, were contaminated with *Acanthamoeba*. Of the 53, HIV⁻ people, 3 samples of nasal discharge were contaminated with this parasite. The molecular method approved the contamination of 10 samples, including 5 oral and 5 nasal samples from HIV⁺ patients with this parasite. Statistical analysis showed the rate of infection in HIV⁺ patients was significantly different compared to HIV⁻ people

Conclusion: The results of the current study showed that the rate of *Acanthamoeba* infection in HIV⁺ patients was higher than that of HIV⁻ individuals. Also, considering that in the control group (HIV⁻ individuals) only the nasal discharge were infected with the parasite, it seems that in the case group (HIV⁺ patients) the infection of the oral discharge with the parasites is due to the entry of its cysts into the nose and transmission to the mouth.

Keywords: *Acanthamoeba*; Free-living Amoeba; Nose; Mouth; HIV

شناسایی آمیب آزادی *آکانتامبا* در ترشحات بینی و دهان افراد HIV^+/HIV^- در اراک

امید قانع عزآبادی^۱، فرشیده دیدگر^۲، نادر زرین فر^۲، فاطمه رفیعی^۳، زهرا اسلامی راد^۴*

۱. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
 ۲. گروه عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
 ۳. گروه آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات علوم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- * نویسنده مسئول. تلفن: ۰۸۶۳۴۱۷۳۵۰۳-۹. فاکس: ۰۸۶۳۴۱۷۳۵۲۰. ایمیل: dr.eslami@arakmu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: تضعیف سیستم ایمنی شرایط استقرار انگل *آکانتامبا* در بدن انسان را مهیا می‌نماید. در این مطالعه مورد-شاهدی به بررسی میزان آلودگی ترشحات بینی و دهان افراد HIV مثبت و منفی با انگل *آکانتامبا* پرداخته شد.

روش کار: ترشحات بینی و دهان ۵۳ بیمار HIV^+ و ۵۳ فرد HIV^- در این مطالعه مورد-شاهدی بررسی شد. ترشحات بینی و دهان هر بیمار توسط سوآب‌های استریل تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. همه نمونه ها کشت داده شد ولی فقط نمونه های مثبت برای آزمایش مولکولی استفاده گردید.

یافته ها: در روش کشت، از ۵۳ بیمار HIV^+ جمعاً ۱۱ نمونه شامل ۵ نمونه بینی و ۶ نمونه دهانی آلوده به *آکانتامبا* بود. از ۵۳ فرد HIV^- ۳ نمونه ترشحات بینی آلوده به این انگل بودند. روش مولکولی، وجود انگل مذکور در ۱۰ نمونه شامل ۵ نمونه دهانی و ۵ نمونه بینی افراد HIV^+ را تایید نمود. تجزیه و تحلیل آماری تفاوت معنی دار در میزان آلودگی افراد HIV^+ به انگل *آکانتامبا* در مقایسه با افراد HIV^- نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه کنونی نشان داد که میزان آلودگی افراد HIV^+ به انگل *آکانتامبا* بیش از افراد HIV^- است. همچنین با توجه به این که در گروه شاهد (افراد HIV^-) فقط نمونه ترشحات بینی، آلوده به انگل مذکور بود به نظر می‌رسد در گروه مورد (افراد HIV^+) آلودگی ترشحات دهان به این انگل در پی ورود کیست‌های آن به بینی و انتقال به دهان فرد انجام می‌شود.

واژه های کلیدی: *آکانتامبا*، آمیب آزادی، بینی، دهان، HIV

پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۳۰

دریافت: ۱۳۹۸/۷/۳۰

مقدمه

بیماری خواهد بود [۳]. این نوع از آمیب‌های آزادی یک عامل دخیل در ایجاد عفونت‌های فرصت طلب حلق و بینی (نازوفارنکس)، پوست و انسفالیت گرانولوماتوزی آمیبی (AGE) محسوب می‌شود [۴]. آلودگی انسان به این انگل با ورود کیست‌های آن به بدن ایجاد می‌شود. کیست‌های این انگل کوچک و

انگل *آکانتامبا* یک آمیب آزادی است که به فراوانی در طبیعت وجود دارد و از منابع مختلف خاک و آب جدا شده است [۱،۲]. با توجه به اینکه این انگل در طبیعت فراوان است، به راحتی می‌تواند وارد بدن انسان شود ولی فقط در شرایط مناسب قادر به ایجاد

سبک بوده و به راحتی توسط باد منتشر می‌شوند و از طریق استنشاق به سطح سلول‌های اپی‌تلیال بینی می‌رسند. به همین دلیل در قسمت‌های بادخیز برخی از کشورها نظیر فیلیپین، محققین موفق به جداسازی این کیست‌ها از سطح سلول‌های اپی‌تلیال بینی افراد سالم شده‌اند. در شرایط مناسب این کیست‌ها می‌توانند از طریق حفره تنفسی به سیستم تنفسی و جریان خون وارد شده و خود را به سیستم اعصاب مرکزی برسانند [۵]. برخی از مطالعات موید آن است که انگل *آکانتامبا* می‌تواند در افراد سالم کلونیزه گردد ولی افرادی که دچار اختلال در سیستم ایمنی هستند بیشتر در معرض بروز انسفالیت آمیبی ناشی از این انگل قرار دارند و شیوع انسفالیت گرانولوماتوزی *آکانتامبایی* در این افراد بیشتر است. زیرا تضعیف سیستم ایمنی در این بیماران منجر به کسب عفونت‌های فرصت طلب می‌شود [۶]. معماری در مطالعه ای به بررسی میزان آلودگی ترشحات بینی افراد مبتلا به سرطان به انگل *آکانتامبا* در بیمارستان‌های مرجع ایران پرداخت و میزان آلودگی را ۴۵ درصد گزارش نمود [۴]. همین محقق در مطالعه ای مشابه میزان آلودگی ترشحات دهانی افراد دچار اختلال سیستم ایمنی به انگل مذکور را بررسی و میزان آلودگی را حدود ۱۲ درصد گزارش نمود [۶].

در سال‌های اخیر کشورهای منطقه خاورمیانه از جمله ایران با معضلی به نام ریزگردها روبرو شده‌اند. این ریزگردها می‌توانند عوامل عفونی مختلف نظیر کیست‌های *آکانتامبا* را همراه داشته باشد و آنها را به چشم، دهان و بینی انسان منتقل نماید [۷، ۸]. با اینکه ورود آمیب *آکانتامبا* همیشه به بیماری منجر نمی‌گردد ولی در صورتی که شرایط بدن انسان مناسب گردد انگل در دهان، بینی، چشم و یا سایر نقاط

بدن (خصوصاً سیستم عصبی) کلونیزه شده و بیماری ایجاد می‌نماید [۴]. با توجه به این که هر نوع اختلال و سرکوب سیستم ایمنی می‌تواند شرایط بدن انسان را جهت کلونیزه شدن عوامل عفونت‌زا مساعد نماید، در این مطالعه مورد-شاهدی به بررسی میزان آلودگی نمونه‌های بدست آمده از دهان و بینی بیماران HIV^+ به این انگل و مقایسه آن با نمونه‌های مشابه از افراد HIV^- با روش کشت و تایید آلودگی با روش مولکولی پرداخته شد.

روش کار

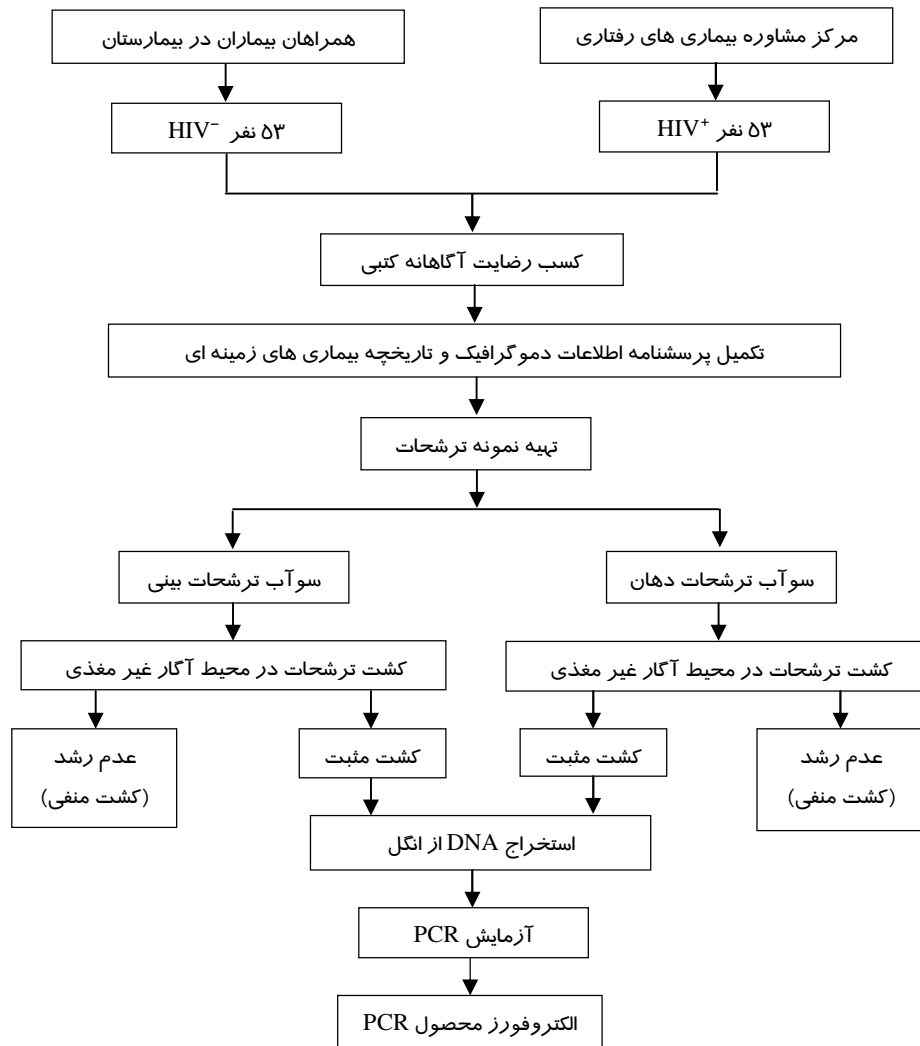
این مطالعه مورد شاهدی در طی مدت ۸ ماه (خرداد تا دی ماه ۱۳۹۷) انجام شد. مراحل مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است.

جمعیت مورد مطالعه

مطالعه بر روی بیماران HIV^+ تحت مراقبت مرکز مشاوره بیماری‌های رفتاری اراک و افراد HIV^- که به‌عنوان همراه بیماران به بیمارستان ولی عصر اراک مراجعه نموده و حاضر به شرکت در این مطالعه بودند، انجام شد. پس از کسب رضایت نامه کتبی از این افراد، پرسشنامه ای ۲ بخشی حاوی اطلاعات دموگرافیک و اطلاعات زمینه ای (شامل سابقه ابتلا به بیماری دیابت و بدخیمی‌ها و همچنین استفاده از لنز تماسی بود) توسط آنان تکمیل شد. میزان آلودگی بیماران با توجه به متغیرهای زمینه ای (دیابت، بدخیمی، استفاده از لنز) و متغیرهای دموگرافیک بررسی گردید.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله منتج از پایان نامه مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک (IR.ARAKMU.REC.1396.196) می‌باشد.



شکل ۱. مراحل اجرای شناسایی آمیب *آکانتامبا* در ترشحات بینی و دهان گروه مورد HIV+ و گروه شاهد HIV-

نمونه گیری

از هر فرد دو نمونه مجزا از ترشحات بینی و دهان تهیه شد. نمونه گیری از این ترشحات توسط سواب استریل انجام شد. قسمت سر سواب توسط آب مقطر استریل مرطوب شده و با ترشحات بینی و یا دهان آغشته گردید و هر سواب به طور مجزا درون لوله های حاوی ۲ میلی لیتر محلول Page Saline قرار داده و شماره گذاری شد. این نمونه ها به آزمایشگاه مخصوص آزمایش نمونه های پر خطر دانشگاه علوم پزشکی اراک منتقل گردید. محلول موجود در هر لوله به منظور کشت استفاده شد.

کشت نمونه

محلول حاوی ترشحات بینی و دهان به طور مجزا به پلیت های حاوی آگار غیر مغذی غنی شده با باکتری *اشریشیا کلی* (آگار آگار، شرکت مرک، آلمان) منتقل شد. این پلیت ها در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از روز هفتم پس از کشت این نمونه ها، پلیت ها توسط میکروسکوپ از نظر وجود تروفوزوئیت و یا کیست *آکانتامبا* بررسی شدند. پلیت ها حداکثر یک ماه نگهداری شده و در صورت عدم رشد انگل به عنوان نمونه منفی ثبت شدند [۹].

آزمایش مولکولی

نمونه‌هایی که کشت آنها مثبت بود، مورد آزمایش مولکولی قرار گرفتند. ابتدا انگل از سطح پلیت جمع‌آوری شده و استخراج DNA به روش فنل-کلروفرم بر روی آنها انجام شد [۹]. محصول استخراج DNA در واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) استفاده شد. این واکنش با استفاده از یک جفت پرایمر اختصاصی انجام شد که قطعه ای به اندازه تقریبی ۵۰۰ باز از روی DNA ریپوزومی *Tkantamba* تکثیر می‌نماید. توالی پرایمر فوروارد و ریورس به ترتیب زیر بود [۹،۱۰].

پرایمر فوروارد: 5-GGCCCAGATCGTTTACCGTGAA-3

پرایمر ریورس: 5-TCTCACAAGCTGCTAGGGGAGTCA-3

واکنش PCR طبق برنامه زمان بندی ذکر شده، انجام شد. واسرشت اولیه 95°C به مدت ۳ دقیقه، واسرشت 94°C به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها 55°C به مدت ۴۵ ثانیه، باز آرای 72°C به مدت ۴۵ ثانیه (مرحله واسرشت تا باز آرای ۳۵ سیکل تکرار

شد) و در پایان، باز آرای نهایی 72°C به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر اپندورف انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16، با آماره‌های توصیفی و کای اسکوتر و فیشر انجام گرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۰۶ نمونه ترشحات بینی و ۱۰۶ نمونه ترشحات دهان (جمعاً ۲۱۲ نمونه) از ۱۰۶ فرد (۵۳ نفر گروه مورد و ۵۳ نفر گروه شاهد) تحت مطالعه تهیه شد. همه نمونه‌ها به روش کشت آزمایش شده ولی فقط نمونه‌هایی که کشت آنها مثبت بود به روش مولکولی نیز بررسی گردیدند. افراد تحت این مطالعه شامل ۵۳ فرد HIV^+ و ۵۳ فرد HIV^- بودند. خصوصیات دموگرافیک افراد تحت مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. خصوصیات دموگرافیک افراد HIV^+ و HIV^- تحت مطالعه در شهر اراک

متغیرها	تعداد افراد HIV^+ (%)	تعداد افراد HIV^- (%)
جنسیت	زن	۳۲ (۶۰/۴)
	مرد	۲۱ (۳۹/۶)
وضعیت تاهل	مجرد	۵ (۴/۸)
	متاهل	۴۸ (۹۵/۲)
شغل	کارگر	۳ (۵/۷)
	کارمند	۰
	شغل آزاد	۱۱ (۲۰/۸)
	بیکار	۳۹ (۷۳/۵)
گروه سنی	۱۰	۲ (۳/۸)
	۲۰-۲۹	۲ (۳/۸)
	۳۰-۳۹	۱۴ (۲۶/۴)
	۴۰-۴۹	۱۶ (۳۰/۲)
	۵۰	۱۹ (۳۵/۸)

تماسی استفاده نموده و ۶ نفر مبتلا به دیابت بوده و هیچ یک مبتلا به بدخیمی نبودند. در مقابل از ۵۳ فرد

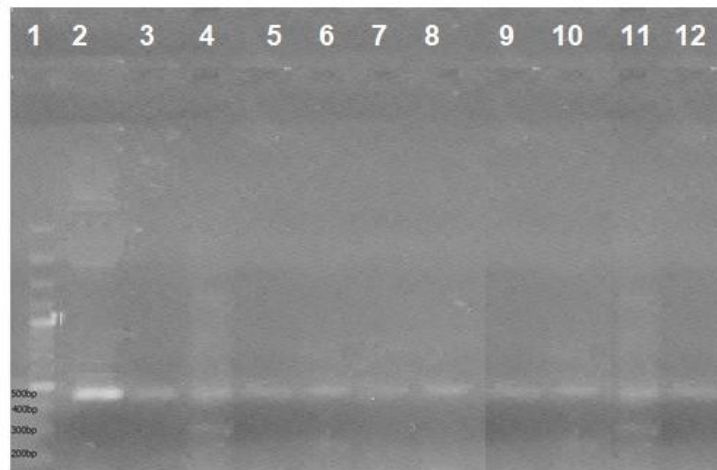
بررسی اطلاعات زمینه ای افراد تحت مطالعه نشان داد که در بین ۵۳ بیمار HIV^+ ، دو نفر از لنزهای

ترشحات بینی این افراد بودند، آلوده به انگل مذکور بودند (جدول ۲). نتایج بررسی مولکولی بر روی ۱۴ نمونه‌ای که محیط کشت آنها مثبت شده بود فقط آلودگی ۵ نمونه ترشحات دهان و ۵ نمونه ترشحات بینی HIV^+ به انگل مذکور را تایید نمود و سایر نمونه‌هایی که محیط کشت آنها مثبت بود در روش مولکولی مورد تایید قرار نگرفتند (شکل ۲).

HIV^- ، ۲ نفر از لنز استفاده نموده، ۳ نفر مبتلا به دیابت بوده و ۴ نفر دچار بدخیمی بودند. نتایج بدست آمده از کشت نمونه‌ها نشان داد که از مجموع ۱۰۶ نمونه ترشحات بینی و دهان افراد HIV^+ ، جمعاً ۱۱ نمونه شامل ۵ نمونه ترشحات بینی و ۶ نمونه ترشحات دهان، آلوده به *آکانتامبا* بودند. همچنین از مجموع ۱۰۶ نمونه ترشحات بینی و دهان افراد HIV^- ، جمعاً ۳ نمونه که هر سه نمونه از

جدول ۲. فراوانی آلودگی به *آکانتامبا* در ترشحات بینی و دهان افراد HIV^+ و HIV^- در شهر اراک

نوع نمونه	HIV^+		HIV^-	
	موارد مثبت (%)	موارد منفی (%)	موارد مثبت (%)	موارد منفی (%)
بینی	۵ (۴/۷)	۴۸ (۴۵/۳)	۳ (۲/۸)	۵۰ (۴۷/۲)
دهان	۶ (۵/۷)	۴۷ (۴۴/۳)	۰ (۰)	۵۳ (۵۰)
مجموع	۱۱ (۱۰/۴)	۹۵ (۸۹/۶)	۳ (۲/۸)	۱۰۳ (۹۷/۲)



شکل ۲. ستون ۱ مارکر وزن مولکولی ۱۰۰ bp (شرکت فرمنتز به شماره SM0321)، ستون ۲ محصول PCR کنترل مثبت، ستون ۳ تا ۱۲ محصول PCR نمونه‌های دهان و بینی آلوده به انگل *آکانتامبا* در افراد HIV^+

آنها آلوده به انگل *آکانتامبا* بود از لنز تماسی استفاده کرده و همچنین مبتلا به دیابت و بدخیمی نبودند. نتایج تجزیه تحلیل آماری نشان داد که بین نوع نمونه (ترشحات بینی و دهان) و آلودگی به انگل تفاوت آماری معنی‌دار وجود ندارد، ولی بین جمعیت تحت مطالعه (گروه مورد HIV^+ و شاهد HIV^-) و آلودگی به انگل تفاوت آماری معنی‌دار وجود داشته و افراد گروه مورد بیش از گروه شاهد آلوده به انگل

نتایج این مطالعه نشان داد که در بین ۲۱۲ نمونه ترشحات بینی و دهان در مجموع، ۱۴ نمونه آلوده به این انگل بوده که به ترتیب، ۸ نمونه مثبت از ترشحات بینی و ۶ نمونه مثبت از ترشحات دهان افراد تحت مطالعه (HIV^+ و HIV^-) جدا شد.

تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده با توجه به بیماری‌های زمینه‌ای افراد تحت مطالعه نشان داد که هیچ یک از افرادی که نمونه ترشحات بینی یا دهان

آکانتامبا می‌شوند ($p < 0.05$). همچنین تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که ارتباط معنی‌دار بین عوامل دموگرافیک (جنسیت، سن، شغل، وضعیت تاهل) و میزان آلودگی وجود ندارد و همچنین بین عوامل زمینه‌ای (استفاده از لنز، ابتلا به دیابت و بدخیمی) و میزان آلودگی به آکانتامبا نیز ارتباط معنی‌دار وجود ندارد.

بحث

بینی و دهان از مهمترین راه‌های ورود آکانتامبا به بدن انسان بوده و کیست‌های مقاوم آکانتامبا از این طریق وارد بدن انسان می‌گردند [۵]. به دلیل انتشار فراوان انگل آکانتامبا در آب، هوا و خاک در اطراف انسان، ورود آنها به بدن انسان غیرمنتظره نیست [۱۰]. مطالعات انجام گرفته بر روی نمونه‌های آب سطحی و خاک اراک میزان آلودگی به آکانتامبا را به ترتیب ۶۱ و ۳۳ درصد نشان داده است [۱۱، ۱۰]. از طرف دیگر آکانتامبا یک انگل فرصت طلب نیز محسوب می‌شود زیرا اکثر موارد خطرناک آن از بیمارانی با اختلال سیستم ایمنی مانند افراد دریافت کننده عضو (پیوند عضو) و بیماران مبتلا به ایدز گزارش شده است [۱۲، ۱۳]. نتایج برخی از مطالعات ارتباط کلونیزه شدن این انگل با میزان حساسیت و وضعیت سیستم ایمنی فرد را نشان داده است [۶]. به عنوان مثال معماری و همکاران در سال‌های ۲۰۱۵ و ۲۰۱۶ میزان آلودگی ترشحات بینی و دهان به انگل آکانتامبا را در افراد دچار سرطان و اختلالات ایمنی به ترتیب ۴۵ و ۱۳/۴ درصد گزارش نمودند [۴، ۶]. از طرفی بیماران مبتلا به ایدز بسیار مستعد عفونت‌های فرصت طلب نظیر اختلال عصبی ناشی از آمیب‌های آزادزی هستند و کلونیزه شدن ژنوتایپ‌های بسیار پاتوژن آن برای سلامتی افراد مستعد بسیار خطرناک است [۱۴]. نتایج مطالعه کنونی نیز موید حساسیت بیشتر افراد دچار اختلال و تضعیف سیستم ایمنی در برابر این انگل بود، به طوری که در

مطالعه حاضر به ترتیب ۴/۷ و ۵/۷ درصد از محیط‌های کشت نمونه‌های بینی و دهان افراد گروه مورد (HIV+) مثبت بوده و آلوده به آکانتامبا گزارش شدند که در مقایسه با نتایج مطالعات مشابه دیگری که بر روی افراد مبتلا به سرطان و افراد دچار اختلال ایمنی در ایران انجام شد، بسیار کمتر است. احتمالاً علت تفاوت ذکر شده، مرحله بیماری افراد تحت مطالعه است زیرا در دو مطالعه ای که توسط معماری و همکاران انجام شد بیماران تحت مطالعه از بین افراد بستری در بیمارستان که تحت درمان‌های دارویی قرار داشتند انتخاب شدند ولی جمعیت مورد بررسی در مطالعه حاضر بستری نبوده و به غیر از درمان‌های اختصاصی مربوط به HIV (در گروه HIV+) تحت درمان دارویی دیگری قرار نداشتند.

نتایج برخی از مطالعات موید ارتباط بین شغل و میزان آلودگی به آکانتامبا است به طوری که کروز و همکاران گزارش نمودند که در افرادی که شغل آنها باعث تماس بیشتر با کیست آکانتامبا می‌گردد (نظیر رفتگران) میزان آلودگی به این انگل بیش از افرادی است که تماس کمتری با کیست انگل دارند [۵]. ولی نتایج مطالعه حاضر این نوع ارتباط بین شغل و میزان آلودگی را تایید نمی‌نماید.

تفکیک و شناسایی میکروسکوپی آمیب‌های آزادزی بسیار مشکل است. همانطور که می‌دانیم در محیط کشت آگار غیرمغذی جنس‌های مختلف آمیب‌های آزادزی از جمله آکانتامبا و ورمامبا رشد می‌نمایند [۱۵]. لذا تفاوت میزان موارد مثبت گزارش شده در روش کشت و مولکولی مطالعه کنونی می‌تواند ناشی از رشد سایر آمیب‌های آزادزی در پلیت‌های محیط کشت باشد. به عبارت دیگر ممکن است همه آمیب‌هایی که در محیط کشت رشد نموده اند، جنس آکانتامبا نبوده به همین دلیل در روش مولکولی که پرایمر اختصاصی جنس آکانتامبا استفاده شده، موارد مثبت کمتری نسبت به روش کشت گزارش شده است.

HIV⁻ است. همچنین با توجه به این که در گروه شاهد (افراد HIV⁻) فقط نمونه ترشحات بینی، آلوده به انگل مذکور بود به نظر می‌رسد در گروه مورد (افراد HIV⁺) آلودگی ترشحات دهان به این انگل در پی ورود کیست‌های آن به بینی و انتقال به دهان فرد انجام می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر گرفته از پایان نامه دکتری حرفه‌ای امید قانع عزآبادی با عنوان «بررسی توزیع فراوانی *آکانتامبا* در نمونه‌های بینی و دهان بیماران HIV⁺ و بیماران بخش عفونی بیمارستان‌های آموزشی و همراهان این بیماران در شهر اراک» مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک و با کد اخلاق IR.ARAKMU.REC.1396.196 است. مجریان این مطالعه از زحمات بی دریغ جناب آقای رضا حاجی حسین کارشناس ارشد آزمایشگاه گروه انگل و قارچ شناسی که در تمام مراحل انجام پایان نامه همکاری صمیمانه نموده اند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

با توجه به محدودیت اخلاقی، انجام تست‌های غربالگری HIV بر روی نمونه‌های گروه کنترل امکان‌پذیر نبود. از طرفی ژنوتایپ آکانتامبا در پتانسیل بیماریزایی آن در انسان موثر است ولی به علت محدودیت مالی در مطالعه کنونی امکان تعیین ژنوتایپ نیز فراهم نشد. لذا پیشنهاد می‌گردد جهت مطالعاتی با جمعیت بیشتر و با تعیین ژنوتایپ انگل انجام شود.

برخی از بیماران تحت مطالعه حاضر از اختلالات سیستم ایمنی رنج می‌بردند، لذا اطلاع از میزان آلودگی این افراد که در معرض خطر کلونیزه شدن این انگل در بدن بودند، می‌تواند در کنترل تبدیل عفونت آکانتامبایی به بیماری بسیار خطرناک و کشنده سیستم عصبی کمک نماید. همچنین با کسب اطلاع دقیق از میزان ورود این انگل به بدن انسان در گروه‌های جمعیتی مناطق مختلف کشور می‌توان برنامه‌هایی در جهت کنترل این بیماری خصوصاً در افراد دچار اختلال عملکرد سیستم ایمنی طراحی و پیشنهاد نمود.

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که میزان آلودگی افراد HIV⁺ به انگل *آکانتامبا* بیش از افراد

References

- 1- Marciano-Cabral F, Cabral G. *Acanthamoeba spp.* as agents of disease in humans. *Clinical Microbiol Rev.* 2003 Apr;16(2):273-307.
- 2- Kialashaki E, Daryani A, Sarvi S. *Acanthamoeba spp.* from water and soil sources in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Ann Parasitol.* 2019 Jan; 64: 285-97.
- 3- Rezaian M, Hoshyar H. Review of the free-living amoebae and their medical importance. *Journal of Medical Council of Islamic Republic of Iran.* 2011 Mar;29(1):69-83. [Full text in Persian]
- 4- Memari F, Niyayati M, Haghighi A, Seyyed Tabaei SJ, Lasjerdi Z. Occurrence of pathogenic *Acanthamoeba* genotypes in nasal swabs of cancer patients in Iran. *Parasitol res.* 2015 May;114:1907-12.
- 5- Cruz ARS, Rivera WL. Genotype analysis of *Acanthamoeba* isolated from human nasal swabs in the Philippines. *Asian Pac J Trop Med.* 2014 Sep;7(Supplement 1):S74-8.
- 6- Memari F, Niyayati M, Lorenzo-Morales J, Jonaydi Z. Isolation and molecular characterization of *Acanthamoeba* strains isolated from the oral cavity of immunosuppressed individuals in Tehran, Iran. *Acta parasitologica.* 2016 Sep;61(3):451-5.

- 7- Smith DJ, Timonen HJ, Jaffe DA, Griffin DW, Birmele MN, Perry KD, et al. Intercontinental dispersal of bacteria and archaea by transpacific winds. *Appl Environ Microbiol*. 2013 Feb; 79(4): 1134-9.
- 8- Griffine DW. Atmospheric movement of microorganisms in clouds of desert dust and implications for human health. *Clin Microbiol Rev*. 2007 Jul; 20(3): 459-77.
- 9- Badirzadeh A, Niyiyati M, Babaei Z, Amini H, Badirzadeh H, Rezaeian M. Isolation of free-living amoebae from Sarein hot springs in Ardebil Province, Iran. *Iran J Parasitol*. 2011 Jun;6 (2), 1 -8.
- 10- Meighani M, Eslamirad Z, Hajihosseini R, Ahmadi A, Saki S. Isolation and genotyping of *Acanthamoeba* from soil samples in Markazi Province, Iran. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018 Dec;6(12):2290-4.
- 11- Mosayebi M, Ghorbanzadeh B, Eslamirad Z, Ejtehadifar M, Rastad B. The isolation and detection of *Acanthamoeba* in rural water sources of Arak, Iran. *Med Lab J*. 2014 Sep-Oct;7(4):66-71. [Full text in Persian]
- 12- Cabrera-Rubio R, Garcia-Núñez M, Setó L, Antó JM, Moya A, Monsó E, et al. Microbiome diversity in the bronchial tracts of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J clin microbiol*. 2012 Nov;50(11):3562-8.
- 13- Khan NA. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. *FEMS microbiol rev*. 2006 Jul;30(4):564-95.
- 14- Arab-Mazar Z, Niyiyati M, Lasjerdi Z, Spotin A, Alavi Darzam I, Gachkar L. Isolation, identification, and phylogenetic analysis of potentially pathogenic free living amoebae isolated from nasal and oral mucosa of HIV/AIDS patients in Iran. *Parasitol Res*. 2019 Oct;118(10):3061-6.
- 15- Delafont V, Rodier MH, Maisonneuve E, Cateau E. *Vermamoeba vermiformis*: a free-living amoeba of interest. *Microbial ecology*. 2018 Nov;76(4):991-1001.