Research on Medicine *Original Article*

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Vol.44; No.1; 2020

Isolation and molecular identification of free-living amoeba from hot springs in the city of Mahallat located in the Central Province

Alireza latifi, Maryam Niyyati*, Ali Gajari, Zohreh Lasjerdi

Departmet of Parasitology and mycology, school of medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

(Received:2019/03/02 Accept: 2019/07/02)

Abstract

Background: *Free-living amoebae (FLA) include many genera such as Acanthamoeba spp., Naegleria spp., Balamuthia mandrillaris, and sapinia spp. These opportunistic FLA could be the causal agent of various diseases including Keratitis, Encephalitis and Cutaneous ulcers. These amoebae could be present in water sources. The aim of the present study is to isolate FLA from Hot springs samples collected from various districts in hot springs of Mahallat located in the Central Province by employing morphological and molecular method. This study was conducted for the first time in summer of 2016.*

Methods: *In this study, 87 samples were collected from 5 hot springs, 24 pools, and small pools. Three samples with 500 ml volume were taken in sterile bottles and transferred to the parasitology laboratory of Shahid Beheshti University of Medical Sciences. Based on culture and morphological and molecular criteria, hot springs contamination to free-living amoebae was examined And presented with descriptive statistics.*

Results: *Out of 77 collected samples, 33 (43%) samples were contaminated to free-living amoebae. The most prevalent amoebae out of 33 positive samples were Vermamoebae vermiformis 18 (54%), Acanthamoeba isolates belonging to T4 12 (36%) and Naegleria australiensis 3 (10%).*

Conclusion: *The results indicated the presence of potentially pathogenic Free-living amoeba in Hot springs of Mahallat located in the Central Province. Improved filtration and posting alarm signs are necessary to improve the situation and awareness of endemic people, tourists, and travelers.*

Keywords: *Free living, Hot springs, Acanthamoeba spp,, Vermamoeba vermiformis, Naegleria australiensis, Mahallat, Central province*

* *Corresponding: Maryam Niyyati*
Email:maryamniyati@yahoo.com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور ٤٤، شماره ١، ١٣٩٩، صفحات ٣٠٨ تا ٣١٣

ایزولاسیون و شناسایی ملکولی آمیب های آزادزی در چشمه های آب گرم محلات در استان مرکزی در تابستان سال ۱۳۹۵

علیرضا لطیفی، مریم نیتی*، علی قجری، زهره لاسجردی

گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت مقاله:۱۳۹۷/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش مقاله:۱۳۹۸/۰۴/۱۱

چکیده:

سابقه و هدف: آمیب های آزادزی شامل جنس های گوناگونی می باشند که در میان آن ها جنس های آکانتامبا، نگلریا، بالاموثیا و ساپینیا در شمار آمیب های پاتوژن برای انسان ها به شمار می روند. این آمیب های آزادزی به صورت فرصت طلبانه ای می توانند موجب بیماری های مختلف از جمله کراتیت، انسفالیت و زخم های پوستی شوند. آمیب های ذکر شده در مطالعات مختلفی در منابع آبی مشاهده شده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی فراوانی آمیب های آزادزی در چشمه های آب گرم محلات در استان مرکزی در تابستان سال ۱۳۹۵ با استفاده از روش های مورفولوژی و مولکولی می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه که به صورت مقطعی انجام پذیرفت، ۸۷ نمونه آب از ۵ چشمه آب گرم، ۲۴ استخر و حوضچه کوچک در بطري هاي استريل با حجم ۵۰۰ ميلي ليتر جمع آوری و به آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي منتقل گردید. سپس براساس ویژگی های مورفولوژی و مولکولی، آلودگی چشمه ها، حوضچه ها و استخرهای آب گرم به آمیب های آزادزی مورد بررسی قرار گرفت. و با آماره های توصیفی ارائه گردید.

یافته‌ها: از ۵ چشمه آب گرم، ۲۴ استخر و حوضچه کوچک ۳ نمونه از محل های مختلف جمع آوری گردید و مشاهده شد که هر ۳ نمونه دارای ایزوله های یکسانی از آمیب های آزادزی می باشند. از ۸۷ نمونه جمع آوری شده ۳۳ نمونه (۴۳٪) به آمیب های آزادزی آلوده بودند. بیشترین آمیب های جدا شده از ۳۳ نمونه آلوده به آمیب های آزادزی، آمیب های ورم آمبا ورمی فورمیس با فراوانی (۵۴٪) ، آکانتامبا با ژنوتایپ T۴ (۳۶٪) و نگلریا استرالینسیس (۱۰٪) بودند.

نتیجه گیری: در این مطالعه مشاهده شد که چشمه های آب گرم محلات واقع در استان مرکزي به آمیب های پاتوژن بالقوه ای از جمله ورم آمبا ورمی فورمیس، آکانتامبا و نگلریا استرالینسیس آلوده می باشند. آلودگی چشمه های آب گرم به آمیب های آزادزی می تواند به عنوان تهدیدی جدی برای مصرف کنندگان این چشمه ها به شمار رود. به همین جهت فیلتر کردن آب ها قبل از استعمال و استفاده و نصب علائم هشدار دهنده در کنار این حوضچه ها و استخر ها امری ضروری به شمار می رود.

واژگان کلیدی: آمیب های آزادزی، چشمه های آب گرم، آکانتامبا، ورم آمبا ورمی فورمیس، نگلریا استرالینسیس، محلات، استان مرکزی

مقدمه:

آمیب های آزادزی دارای انواعی گوناگون، با پراکندگی وسیع بوده و در برگیرنده خانواده های مختلف از جمله، "والکامفیده"، "هارتمنلیده" ، "ونلیده" ، "آکانتاموبیده" و"تکاموبیده" می باشند. اما چهار جنس آن ها شامل، ژنوتایپ هایی از آمیب آکانتامبا و جنس بالاموثیا مندریلاریس از خانواده آکانتاموبیده، نگلریا فاولری از خانواده والکامفیده و "ساپینیا پداتا" از خانواده تکاموبیده به عنوان پاتوژن های فرصت طلب به شمار می روند و با بیماری زایی در انسان در ارتباط می باشند (۱). بالاموثیا مندریلاریس نیز می تواند موجب بیماری انسفالیت گرانولوماتوز مغزی مخصوصا در کودکان با سیستم ایمنی سالم گردد. نگلریا فاولری نیز موجب بروز بیماری حاد و کشنده منگو انسفالیت آمیبی اولیه در افراد با سیستم ایمنی کارآمد به ویژه کودکان و نوجوانان می شود (۳-۱). چشمه های آب گرم به دلیل داشتن درصد بالایی از مواد معدنی حل شده و همچنین دمای بالا به منظور آب درمانی

نویسنده مسئول: مریم نیتی
پست الکترونیک: *maryamniyati@yahoo.com*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

(هیدروتراپی) مورد استفاده قرار می گیرند. استفاده از چشمه های آب گرم در بهبودی بعضی از بیماری ها، عملکرد بهتر سیستم قلبی و عروقی، آرامش ذهنی و کاهش استرس تاثیر مطلوبی دارد (۴). در بررسی که بر روی بیماران مبتلا به دردهای مزمن در ستون فقرات کمری، مفصل ران و زانو و نیز آرتروز انجام گرفت، پس از سه هفته آب درمانی در چشمه های آب گرم نتایج مطلوبی از بهبودی این بیماران گزارش گردید (۵). چشمه های آب گرم ممکن است آلودگی میکروبی به ویروس ها، باکتری ها، انگل ها و قارچ ها که اکثر آنها تحمل دمای بالا را دارند و به عبارتی ترموتولرانت هستند را داشته باشند (۶). از انگل های موجود در این چشمه ها می توان از "آمیب های آزادزی" همچون" نگلریا فاولری" به عنوان یک آمیب آزادزی بیماری زای ترموتولرانت که باعث بیماری کشنده "مننگو انسفالیت اولیه" در افراد با ایمنی کار آمد نیز می شود نام برد. این آمیب آزادزی به عنوان خطرناک ترین میکروارگانیسم درون این چشمه ها به شمار می رود (۷). از دیگر آمیب های ترموتولرانت می توان به آمیب فرصت طلب "آکانتامبا" اشاره نمود که موجب کراتیت های آمیبی در افراد با سیستم ایمنی کار آمد و بیماری های پوستی و "انسفالیت گرانولوماتوز آمیبی" در افراد دارای نقص سیستم ایمنی می گردد (۸،۹). تک یاخته های "ژیاردیا" و "کریپتوسپوریدیوم" نیز به عنوان انگل های تک یاخته ای روده ای در این چشمه ها گزارش شده است (۱۰). لازم به یادآوری است که بعضی از میکروارگانیسم ها توسط افراد آلوده وارد آب شده و به افراد دیگر منتقل می شود (۱۱). به همین منظور فیلتراسیون و ضد عفونی وپاک سازی این چشمه ها امری مهم به شمار می رود. در خصوص آلودگی چشمه های آب گرم محلات در استان مرکزی به آمیب های آزادزی تا کنون اطلاعات دقیقی در دسترس نمی باشد به همین منظور و با توجه به افزایش کراتیت آمیبی در ایران و مطالعاتی که توسط حاجی علی لو و همکاران در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت، ژنوتایپ های T4, T9, T11 آکانتامبا از بیماران مبتلا به کراتیت آکانتامبایی جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفت و همچنین در مطالعه لنزهای تماسی بیماران، از ۶۲ لنز مورد بررسی ۱۰ لنز به آکانتامبا و یک لنز به دو آمیب ورم آمبا و آکانتامبا به صورت همزمان آلوده بودند (۱۲،۱۳). در مطالعه مقصود و همکاران از میان ۱۳ ایزوله بالینی مبتلا به کراتیت آکانتامبایی، ۸ نمونه متعلق به ژنوتایپ T4، ۲ نمونه متعلق به ژنوتایپ T3 و ۳ نمونه متعلق به ژنوتیپ T2 بودند (۱۴). گزارشی از ابتلای یک فرد به آمیب نگلریا فاولری توسط موحدی و همکاران نیز به ثبت رسیده است (۱۵) لازم به یادآوری است که در شرح حال بیماران مبتلا به آمیب های آزادزی سابقه تماس با منابع آبی آلوده خصوصا چشمه ها و استخرهای آب گرم موجود می باشد (۱۹-۱۲)، به همین منظور، تعیین فراوانی آمیب های آزادزی چشمه های آب گرم محلات در استان مرکزی با استفاده از روش های مورفولوژی و مولکولی در تابستان ۱۳۹۵ برای اولین بار مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها:

این تحقیق با روش مطالعه مقطعی (cross-sectional) در تابستان ۱۳۹۵ انجام گرفت. متغیر های مورد بررسی در این مطالعه آمیب های آزادزی شامل تروفوزئیت و کیست های آمیب های آکانتامبا و والکامفیده بودند که با روش های مورفولوژی و مولکولی و توالی یابی مورد شناسایی قرار گرفتند. در ابتدا محل چشمه های آب گرم استان بر اساس اطلاعات به دست آمده از سازمان گردشگری و آب و فاضلاب استان مرکزی تعیین گردید. شهرستان محلات دارای ۵ چشمه آب گرم، ۲۴ استخر و حوضچه کوچک می باشد (نقشه شماره۱).

جمع آوری نمونه ها:

از ۵ چشمه آب گرم، ۲۴ استخر و حوضچه کوچک با نظر مشاوره آماری و با در نظر گرفتن شیوع % 50 و ضریب خطای ۱۲ % برآورد گردید که ۳ نمونه از محل های مختلف مورد مطالعه قرار گیرد. سپس نمونه ها در بطری های استریل با حجم ۵۰۰ میلی لیتر جمع آوری و در همان روز به آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی منتقل شد. دمای چشمه ها از طریق دماسنج و میزان اسیدیته و قلیایی بودن هر چشمه توسط pH متر تعیین شد.

کشت و بررسی مورفولوژی نمونه ها:

از هر نمونه جمع آوری شده، میزان۲۵۰ سی سی با استفاده از فیلتر نیترو سلولزی ۰/۴۵ درصد شرکت واتمن آلمان و با استفاده از دستگاه پمپ خلا فیلتر شد. سپس فیلتر ها در محیط کشت باکتو آگار ۱/۵ درصد که از پودر باکتو آگار شرکت دیفکو تهیه گردیده بود قرار داده شدند. همچنین برای رشد بهتر آمیب ها مقداری از سوسپانسون باکتری اشرشیا کلای به محیط کشت اضافه گردید. پلیت ها در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند. دو روز بعد از کشت نمونه ها با میکروسکپ نوری بر اساس ویژگی های مورفولوژی بررسی و همچنین در ادامه نمونه ها به مدت دو ماه هر روز مورد بررسی قرار گرفتند (۲۰). (تصویر شماره ۲و۱). پلیت هایی که از نظر حضور آمیب های آزادزی مثبت بودند وارد مراحل کلونینگ و خالص سازی و برای انجام آزمایشات و بررسی های مولکولی آماده سازی شدند.

استخراج DNA، تجزیه و تحلیل PCR و توالی یابی:

روش فنل کلروفرم اصلاح شده برای استخراج DNA از کیست ها و تروفوزوئیت ها در نمونه های مثبت مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از جفت پرایمر های JDP1,2 برای شناسایی آمیب آکانتامبا، منطقه DF3 از ژن 18SrRNA تکثیر گردید. توالی پرایمرهای JDP1,2 به شرح زیر بود (۲۱):

JDP1 5′-GGCCCAGATCGTTTACCGTGAA-3′

JDP2 5′-TCTCACAAGCTGCTAGGGAGTCA-3′

جفت پرایمر های دیگری که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت پرایمرهای NA1,2 برای شناسایی آمیب ورم آمبا ورمی فورمیس بود که از پرایمرهای مطالعه چانگ و کنگ اصلاح شده و یک قطعه از ژن 18SrRNA ورم آمبا ورمی فورمیس (هارتمنلا) را تکثیر می کند و توالی آن ها به شرح زیر بود (۲۲):

NA1: 5′-GCT CCA ATA GCG TAT ATT AA-3′

NA 2 5’- AGA AAG AGC TAT CAA TCT GT-3’

و همچنین پرایمر ITS1,2 برای شناسایی آمیب های خانواده والکامفیده که توالی آن ها به شرح زیر می باشد (۲۳).

Forward ITS1 5′- GAACCTGCGTAGGGATCATTT - 3′

Reverse ITS2 5′- TTTCTTTTCCTCCCCTTATTA- 3′

در این مطالعه، از کیت Ampliqone 2X (Taq DNA Polymerase Master mix RED, Denmark) و حجم ۳۰ میکرولیتری جهت واکنش PCR استفاده گردید. به طور خلاصه، ۲۵ میکرولیتر از Ampliqone 2X با ۵ نانوگرم از سوسپانسیون DNA، ۰/۱ میکرومول از جفت پرایمرهای مورد نظر و آب مقطر مخلوط گردید. در این مطالعه به دلیل یکسان بودن ایزوله های شناسایی شده از هر نمونه جمع آوری شده یک عدد و در مجموع ۱۱ نمونه برای تعیین توالی نوکلئوتیدها به شرکت تکاپو زیست ارسال گردید. تعیین توالی نوکلئوتیدی نمونه ها توسط شرکت بایونیر BIONEER کره جنوبی صورت گرفت. در مرحله بعد توالی نوکلئوتیدی تمامی نمونه های مثبت با استفاده از برنامه کروماس ویرایش شدند و در برنامه Blast سایت Pubmed مورد آنالیز قرار داده شدند. جنس و گونه ایزوله ها با استفاده از ژن های ویرایش شده بر اساس بالاترین هومولوژی با ژن های موجود در بانک اطلاعات ژن، تعیین گردیدند.

یافته‌ها:

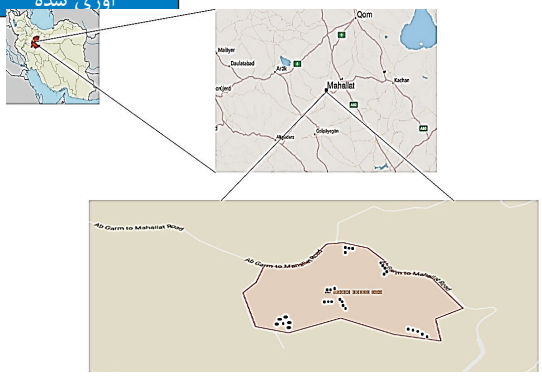
از ۵ چشمه آب گرم، ۲۴ استخر و حوضچه کوچک ۳ نمونه از محل های مختلف جمع آوری گردید و مشاهده شد که هر۳ نمونه دارای ایزوله های یکسانی از آمیب های آزادزی می باشند. از ۸۷ نمونه جمع آوری شده ۳۳ نمونه به آمیب های آزادزی آلوده بودند. بیشترین آمیب های جدا شده به ترتیب شامل ورم آمبا ورمی فورمیس با فراوانی (54%)، آکانتامبا با ژنوتایپ T4 (36%) و نگلریا استرالینسیس (10%) بودند (نمودار شماره ۱) (جدول شماره ۱). هومولوژی ژن های ایزوله های این مطالعه با ژن های موجود در بانک جهانی ژن (۹۵-۱۰۰ درصد) بود. لازم به ذکر است که میانگین دما و pH چشمه های آب گرم، استخر ها و حوضچه های آب گرم به ترتیب ۳۹ درجه سانتیگراد و ۷ ثبت گردید. این آب ها به عنوان آب های هیپوترم طبقه بندی می شوند.

نمودار شماره ۱ : فراوانی آمیب های آزادزی جداشده از چشمه های آب گرم محلات در استان مرکزی

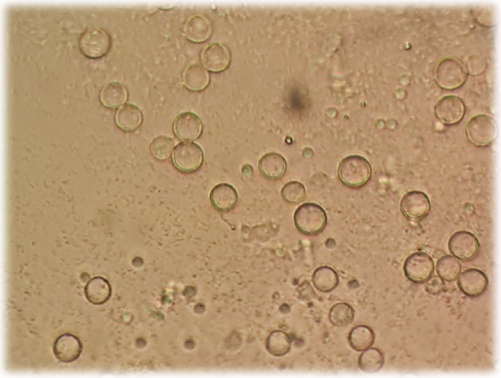
جدول شماره ۱: تعداد و درصد آمیب های جدا شده از چشمه های آب گرم محلات

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

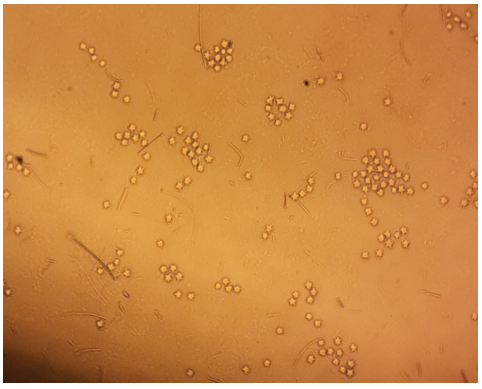
نام آمیب / تعداد	نگلریا استرالینسیس	آکانتامبا (T4)	ورم آمبا ورمی فورمیس
تعداد و درصد نمونه‌های آلوده	(10%) 3	(36%) 12	(54%)18
تعداد نمونه‌های مثبت	33		
تعداد نمونه‌های جمع آوری شده	87		



نقشه شماره ۱: محل چشمه ها، حوضچه ها و استخرهای آب گرم محلات در استان مرکزی



شکل۱: کیست های والکامفیده ایزوله شده از چشمه ها، حوضچه ها و استخرهای آب گرم محلات در استان مرکزی با بزرگنمایی 40X



شکل۲) کیست های آکانتامبا ایزوله شده از چشمه ها، حوضچه ها و استخرهای آب گرم محلات در استان مرکزی با بزرگنمایی 10X

بحث:

در این مطالعه پس از بررسی های انجام شده بیشترین آمیب های جدا شده به ترتیب شامل ورم آمبا ورمی فورمیس، آکانتامبا با ژنوتایپ T4 و نگلریا استرالینسیس بودند. این آمیب های آزادزی پاتوژن و فرصت طلب، مسبب بیماری های نوپدید در انسان و حیوانات هستند. در مطالعات سال های اخیر در ایران آمیب آزادزی پاتوژن آکانتامبا از بیماران مبتلا به کراتیت جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفت (۱۲-۱۴،۱۹). همچنین یک بیمار مبتلا به مننگو انسفالیت ناشی از نگلریا فاولری نیز توسط موحدی و همکاران مورد تایید و گزارش و به ثبت رسید (۱۵). در مطالعات دیگر آمیب پاتوژن ورم آمبا در بیو فیلم های بیمارستانی گزارش گردید (۲۲). این بیماری ها، اگر چه نادر هستند اما می توانند به عفونت های وخیم و کشنده درافراد دارای ایمنی سالم و خصوصا افراد مبتلاء به نقص ایمنی منتهی گردند. در خصوص آلودگی چشمه های آب گرم محلات در استان مرکزی به آمیب های آزادزی تا کنون اطلاعات دقیقی در دسترس نمی باشد. به همین منظور بررسی چشمه های آب گرم این منطقه از نظر آلودگی به آمیب های آزادزی پاتوژن امری ضروری به شمار می رفت . همچنین با توجه به افزایش استفاده از چشمه های آب گرم برای درمان زخم ها و ضایعات و ناراحتی های پوستی و توجه به این موضوع که بیماران مبتلا به آمیب های آزادزی دارای سابقه تماس با منابع آبی آلوده خصوصا چشمه ها و استخرهای آب گرم می باشند ضرورت انجام این مطالعه را تاکید نمود (۴-۷،۲۳). آمیب آزادزی پاتوژن آکانتامبا (ژنوتایپ T4) درقالب پاتوژن های فرصت طلب، عامل بیماری مزمن یا تحت حاد آنسفالیت گرانولومایی آمیبی در بیماران ایدزی و گیرندگان پیوند بوده، همچنین این آمیب ها می توانند موجب بروز اختلالاتی چون درگیری ریه ها، عفونت سینوس ها و درماتیت پوستی در این افراد گردند (۱۶). در ایران در زمینه آمیب های آزادزی در خصوص جنس آکانتامبا مطالعات متعددی صورت گرفته است. از مطالعات انجام شده میتوان به جداسازی ژنوتایپ های آکانتامبا از چشمه های آب گرم سرعین و ایلام و نیز آب های آشامیدنی کیش و آب های تفریحی و محیطی تهران، اصفهان و اهواز و سایر شهرهای ایران اشاره نمود (۸،۲۳،۲۶،۲۷). همچنین لازم به ذکر است که در سال های اخیر استفاده از چشمه های آب گرم به منظور درمان بیماری های مفصلی، آرتریت، سیاتیک و ترمیم صدمات و جراحات ورزشی افزایش یافته است و همچنین در بین مردم باور این موضوع که این آب ها دارای قدرت درمانی می باشند، شکل گرفته است (۶-۴). در خصوص آمیب نگلریا تا کنون ۴۷ گونه مختلف از این آمیب توصیف شده است که در میان آن ها جنس نگلریا فاولری هم برای انسان ها و هم برای حیوانات عامل پاتوژن کشنده ای به شمار می رود. پاتوژنسیته نگلریا استرالینسیس که در این بررسی مورد شناسایی قرار گرفت و نگلریا ایتالیکا بر روی حیوانات آزمایشگاهی به تایید رسیده است. در خصوص سایر گونه های غیر پاتوژن اطلاعات کمی در دسترس می باشد (۲۸،۲۹). در همین راستا در سال های اخیر گزارش ها از مرگ افراد که به بیماری مننگو انسفالیت آمیبی اولیه ناشی از نگلریا فاولری مبتلا شده اند و در شرح حال آن ها شنا و یا فعالیت های آبی در آب های تفریحی، برکه ها، استخرها و چشمه های آب گرم به ثبت رسیده است، افزایش یافته است (۳۰،۳۱). همچنین شناسایی سایر آمیب های آزادزی پاتوژن، همچون بالاموثیا مندریلاریس و بیماری های مرتبط با آن ها و نیز حضور این آمیب های آزادزی در منابع محیطی در چند سال اخیر مورد توجه قرار گرفته است (۳۲،۳۳). در مطالعه Sandi و همکاران در سال ۲۰۱۴، فوت یک پسر ۱۱ ساله اهل فلوریدا که دچار مننگو انسفالیت آمیبی ناشی از نگلریا فاولری گردیده بود را گزارش نمودند. در شرح حال این بیمار، یک هفته قبل از فوت، سابقه شنا در آب های گرم کاستاریکا ثبت شده بود. (۷). همچنین در مطالعه دیگر، این امر مورد تایید قرار گرفت که گونه نگلریا پاگئی، نگلریا استرالینسیس و نگلریا لوانسیس می توانند با باکتری پاتوژن لژیونلا پنوموفیلا زندگی همزیست داشته باشند (۳۴). Fabres و همکاران در سال ۲۰۱۶ در طی مطالعه و بررسی برای جدا سازی آکانتامبا از ۷۲ استخر و وان های آب گرم از شهرستان پورتو الگره در جنوب برزیل پس از آزمایش های میکروسکوپی و مولوکولی توزیع ژنوتیپ در گروه T3(12%) و T4 (25%) و T15 (50%) را نشان دادند (۳۵). Thammaratana و همکاران در سال ۲۰۱۶ در بررسی ۶۳ نمونه جمع آوری شده از آب های طبیعی از ۱۱ استان در شمال شرق تایلند پس

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

از کشت در محیط آگار غیر مغذی و انجام آزمایش های میکروسکوپی و تکنیک های مولکولی، با استفاده از PCR و تعیین توالی DNA نشان دادند که ۱۰ نمونه از ۶۳ نمونه مورد مطالعه معادل (۹,۱) درصد مثبت بودند. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک نشان داد که هفت نمونه شامل ژنوتایپ T4، یک نمونه مشابه ژنوتایپ T3 بود، و دو نمونه دیگر شبیه به ژنوتایپ T5 بود. این اولین گزارش آلودگی منابع آب طبیعی در شمال شرق تایلند به آکانتامبا می باشد (۳۶). Reyes-Batlle و همکاران در طی بررسی منابع آبی در جزایر قناری در اسپانیا در ۲ نمونه از ۲۰ نمونه جمع آوری شده موفق به شناسایی آمیب ورم آمبا ورمی فورمیس شدند و این آمیب را به عنوان یک ناقل پاتوژن در منابع آبی ایسلند معرفی نمودند (۳۷). آمیب ورم آمبا ورمی فورمیس می تواند یک پناهگاه برای ویروس ها، باکتری ها و سایر میکروارگانیسم های بیماری زا باشد و به انتقال پاتوژن ها کمک کند. به همین دلیل شناسایی حضور این آمیب ترموتولرانت در چشمه های آب گرم امری ضروری به شمار می رود (۳۸). در مطالعه ای دیگر آمیب ورم آمبا ورمی فورمیس از نمونه های بیوپسی قرنیه بیماران مبتلا به کراتیت به تنهایی و به صورت ترکیبی با آکانتامبا جداسازی و شناسایی شده است (۳۹). مطالعه حاضر که به منظور شناسایی آمیب های آزادزی در چشمه های آب گرم محلات در استان مرکزی انجام گردید بیانگر حضور آمیب های آزادزی بالقوه پاتوژن همچون آکانتامبا و نگلریا استرالینسیس و ورم آمبا ورمی فورمیس در چشمه های آب گرم محلات در استان مرکزی می باشد. در مطالعات آینده باید در خصوص آب آشامیدنی این منطقه و همچنین بررسی آلودگی آب این چشمه ها در فصول مختلف مطالعات و بررسی های گسترده تری انجام داد که به دلیل کمبود بودجه در این پژوهش بررسی های ذکر شده انجام نپذیرفت.

نتیجه گیری: با توجه به آلودگی چشمه های آب گرم این استان به آمیب های آزادزی پاتوژن ، ایجاد و بهبود فیلتراسیون توسط تجهیزات و مواد ضد عفونی کننده امری ضروری به شمار می رود. همچنین آگاه سازی افراد بومی و ساکن در این مناطق و نیز توریست ها و گردشگرانی که از این چشمه ها استفاده می نمایند، با خطرات ناشی از این آمیب های آزادزی، امری لازم می باشد. نصب علائم هشدار دهنده و استفاده از تجهیزات مناسب قبل از شنا و استفاده از این چشمه ها، از دیگر مواردی است که باید مورد توجه قرار گیرد.

منابع:

1.Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL; Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp., Balamuthia mandrillaris, Naegleria fowleri, and Sappinia diploidea. FEMS Immunol Med Microbiol. 2007; 50(1): 1-26.

2.Visvesvara GS; Infections with free-living amebae. Handb Clin Neurol. 2013; 1(14):153-68.

3. Qvarnstrom Y, da Silva AJ, Schuster FL, Gelman BB, Visvesvara GS. Molecular confirmation of Sappinia pedata as a causative agent of amoebic encephalitis. J Infect Dis. 2009; 199(8): 1139-42.

4. Jonathan B. Hot water and healthy living. 1th ed. Colorado: Southwestern state of America. National pool swimming pool fondation press; 2008.

5. Nguyen M, Revel M, Dougados M. Prolonged effects of 3 week therapy in a spa resort on lumbar spine, knee and hip osteoarthritis: follow-up after 6 months. A randomized controlled trial Br J Rheumatol. 1997; 36(1):77-81.

6. Broadbent C, Guidance on water quality for heated spas. 1th ed. Printed by Open Book Publishers; 1996.

7. Abrahams-Sandí E, Retana-Moreira L, Castro-Castillo A, Reyes-Batlle M, Lorenzo-Morales J. Fatal meningoencephalitis in child and isolation of Naegleria fowleri from hot springs in Costa Rica. Emerg Infect Dis. 2015; 21(2): 382-4.

8. Solgi R1, Niyyati M, Haghighi A, Taghipour N, Tabaei SJ, Eftekhar M, Nazemalhosseini Mojarad E. Thermotolerant Acanthamoeba spp. isolated from therapeutic hot springs in Northwestern Iran. J Water Health. 2012; 10(4): 650-656.

9. Crossland NA, Ali I, Higbie C, Jackson J, Pirie G, Bauer R. Neurologic amebiasis caused by Balamuthia mandrillaris in an Indian flying fox (Pteropus giganteus). J Vet Diagn Invest. 2016; 28(1): 54-8.

10. Levy DA, Bens MS, Craun GF, Calderon RL, Herwaldt BL. Surveillance for waterborne-disease outbreaks--United States, 1995-1996. MMWR CDC Surveill Summ. 1998; 47(5):1-34.

11. Hsu BM, Chen CH, Wan MT. Prevalence of enteroviruses in hot spring recreation areas of Taiwan. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008; 52(2): 253-9.

12. Hajialilo E, Niyyati M, Solaymani M, Rezaeian M. Pathogenic Free-Living Amoebae Isolated From Contact Lenses of Keratitis Patients. Iran J Parasitol. 2015 Oct-Dec;10(4):541-6.

13. Hajialilo E, Behnia M, Tarighi F, Niyyati M, Rezaeian M. Isolation and genotyping of Acanthamoeba strains (T4, T9, and T11) from amoebic keratitis patients in Iran. Parasitol Res. 2016 Aug;115(8):3147-51.

14. Maghsood AH, Sissons J, Rezaian M, Nolder D, Warhurst D, Khan NA. Acanthamoeba genotype T4 from the UK and Iran and isolation of the T2 genotype from clinical isolates. J Med Microbiol. 2005 Aug;54(Pt 8):755-9.

15. Zahra Movahedi, Mohammad Reza Shokrollahi, Mohammad Aghaali, Hosein Heydari. Primary Amoebic Meningoencephalitis in an Iranian Infant. Case Rep Med. 2012;2012:782854.

16. khan NA, Acanthamoeba: biology and increasing importance in human health. FEMS Microbiol Rev. 2006;30(4):564-95.

17. Niyyati M, et al, Genotyping of Acanthamoeba isolates from clinical and environmental specimens in Iran. Exp Parasitol. 2009;121(3):242-5

18. Cabral FM, Cabral G. Acanthamoeba spp. as Agents of Disease in Humans. Clin Microbiol Rev. 2003; 307–273

19. Current Status of Acanthamoeba in Iran: A Narrative Review Article. Iran J Parasitol. Niyyati M, Rezaeian M. 2015; 10(2):157-63.

20.Page FC. A New Key to Freshwater and Soil Gymnoamoebae. Freshwater Biological Association Ambleside; 1988

21. Niyyati M, et al. Isolation of Balamuthia mandrillaris from urban dust, free of known infectious involvement. Parasitology Research 2009; 106: 279–281.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

22. Lasjerdi Z, Niyyati M, Haghighi A, Shahabi S, Biderouni FT, Taghipour N, Eftekhar M, Nazemalhosseini Mojarad E. Potentially pathogenic free-living amoebae isolated from hospital wards with immunodeficient patients in Tehran, Iran. Parasitol Res. 2011 Sep;109(3):575-80.

23. Latifi AR, Niyyati M, Lorenzo-Morales J, Haghighi A, Tabaei SJ, Lasjerdi Z, Azargashb E. Occurrence of Naegleria species in therapeutic geothermal water sources, Northern Iran. Acta Parasitol. 2017 Mar 1;62(1):104-109.

24. Booton G, Kelly D, Chu Y-W, et al., editors. 18S ribosomal DNA typing and tracking of Acanthamoeba species isolates from corneal scrape specimens, contact lenses, lens cases, and home water supplies of Acanthamoeba keratitis patients in Hong Kong. J Clin Microbiol. 2002;40(5):1621–5.

25. Schroeder JM, Booton GC, Hay J, et al. Use of subgenic 18S ribosomal DNA PCR and sequencing for genus and genotype identification of Acanthamoebae from humans with keratitis and from sewage sludge. J Clin Microbiol. 2001;39(5):1903–11.

26. Shokri A, Sarvi S, Daryani A, Sharif M. Isolation and Genotyping of Acanthamoeba spp. as Neglected Parasites in North of Iran. Korean J Parasitol. 2016; 54(4): 447-53.

27. Mohammadi Manesh R, Niyyati M, Yousefi HA, Eskandarian AA. Isolation of Acanthamoeba spp. from different water sources in Isfahan, central Iran, 2014. J Parasit Dis. 2016; 40(4): 1483-1486.

28. De Jonckheere JF. What do we know by now about the genus Naegleria? Exp Parasitol. 2014 Nov;145 Suppl:S2-9.

29. Latifi A, Niyyati M, Seyed tabaeei SJ, Tahvil dari biderouni F, Haghighi A, Lasjerdi Z. An Experimental Model of Primary Amoebic Meningoence phalitis Due to Naegleria australiensis in Iran. IJPA. 13(3):369-72.

30. Capewell LG, Harris AM, Yoder JS, Cope JR, Eddy BA, Roy SL. Diagnosis, Clinical Course, and Treatment of Primary Amoebic Meningoencephalitis in the United States, 1937-2013. J Pediatric Infect Dis Soc. 2015; 4(4): 68-75.

31. Sood A, Chauhan S, Chandel L, Jaryal SC. Prompt diagnosis and extraordinary survival from Naegleria fowleri meningitis: a rare case report. Indian J Med Microbiol. 2014; 32(2): 193-6.

32. Baquero RA, Reyes-Batlle M, Nicola GG, Martin-Navarro CM, Lopez-Arencibia A, Guillermo Esteban J. Presence of potentially pathogenic free-living amoebae strains from well water samples in Guinea-Bissau. Pathog Glob Health. 2014; 108(4): 206-211.

33. Schuster FL, Dunnebacke TH, Booton GC, Yagi S, Kohlmeier CK, Glaser C. Environmental isolation of Balamuthia mandrillaris associated with a case of amebic encephalitis. J Clin Microbiol. 2003; 41(7): 3175-80.

34. Huang SW, Hsu BM. Survey of Naegleria and its resisting bacteria-Legionella in hot spring water of Taiwan using molecular method. Parasitol Res. 2010; 106(6): 1395-13402.

35. Fabres LF, Rosa Dos Santos SP, Benitez LB, Rott MB. Isolation and identification of Acanthamoeba spp. from thermal swimming pools and spas in Southern Brazil. Acta Parasitol. 2016 Jun 1;61(2):221-7. doi: 10.1515/ap-2016-0031.

36. Thammaratana T, Laummaunwai P, Boonmars T; Neglected, zoonosis and vector-borne disease research group. Isolation and identification of Acanthamoeba species from natural water sources in the northeastern part of Thailand. Parasitol Res. 2016 Apr;115(4):1705-9. doi: 10.1007/s00436-016-4911-y.

37. Reyes-Batlle M, Wagner C, Zamora-Herrera J, Vargas-Mesa A, Sifaoui I, González AC, López-Arencibia A, Valladares B, Martínez-Carretero E, Piñero JE, Lorenzo-Morales J. Isolation of thermotolerant Vermamoeba vermiformis strains from water sources in Lanzarote Island, Canary Islands, Spain. Acta Parasitol. 2016 Sep 1;61(3):650-3. doi: 10.1515/ap-2016-0088.

38. Delafont V, Rodier MH, Maisonneuve E, Cateau E. Vermamoeba vermiformis: a Free-Living Amoeba of Interest. Microb Ecol. 2018 May 8.

39. Aitken D, Hay J, Kinnear FB, Kirkness CM, Lee WR, Seal DV. Amebic keratitis in a wearer of disposable contact lenses due to a mixed Vahlkampfia and Hartmannella infection. Ophthalmology. 1996 Mar;103(3):485-94.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]