

Original Article

Contamination of Swimming Pools and Park Ponds with Free Living Amoebae in Tehran

Mahyar Mafi, Maryam Niyiyati*, Ali Haghghi, Zohreh Lasjerdi

Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 24 Dec, 2014 Accepted: 14 Mar, 2015

Abstract

Background & Objectives: Free-living amoebae (FLA) include various genera habitat in water sources; some FLA can lead to severe complications in high risk people. The present study aimed to isolate free living amoebae using morphological methods in recreational water sources of Tehran.

Materials & Methods: This cross sectional study was performed during 8 months in 2014. Seventy five samples from Tehran were collected and filtered. Samples were cultured in 1.5 % non-nutrient bacto-agar. Plates were then monitored for the presence of amoebae daily and positive plates were cloned. In the present study, identification was based on morphological criteria and page key. The page key is based on morphological character of free living amoebae such as trophozoites shape, pseudopodia shape, amoebae nucleus, and endo and ecto-cysts in the cystic form. These criteria could lead to identification of amoeba at the family and genus level.

Results: Out of 75 water samples, 18 (24 %) were positive for free living amoebae. Of 40 pond waters, 13 (32.5%) were positive including *Acanthamoeba*, *Hartmannella* and *Vahlkampfiids (Naegleria)* and out of 35 samples 5 (14.2%) strain belonging to *Acanthamoeba* were identified based on morphological criteria.

Conclusion: According to the presence of free living amoebae in recreational water sources, it is necessary to alert swimming pools authorities and high risk people. Additionally, posting alarming signs and educating the high risk people is of utmost importance to prevent free living amoebae-related infections.

Keywords: Acanthamoeba, Naegleria, Hartmannella, Water Sources

***Corresponding author:**

E-mail: maryamniyati@yahoo.com

مقاله پژوهشی

آلودگی آب استخرهای عمومی و حوضچه های پارک های تفریحی به آمیب های آزادی در شهر تهران

مهیار مافی، مریم نیتی*، علی حقیقی، زهره لاسجردی

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

دریافت: ۹۳/۱۰/۳ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۳

چکیده

زمینه و اهداف: آمیب های آزادی شامل جنس های مختلفی هستند که در منابع آبی می توانند حضور داشته باشند و برخی از آنها عوارض وخیمی را در افراد مستعد خطر ایجاد می کنند. این پژوهش با هدف جداسازی آمیب های آزادی با استفاده از روش های مرفولوژیک در آب های تفریحی شهر تهران انجام شد.

مواد و روش ها: این تحقیق به روش مطالعه مقطعی در سال ۱۳۹۳ به مدت هشت ماه انجام گرفت. تعداد ۷۵ نمونه از آب های تفریحی شهر تهران انتخاب و فیلتر شدند. نمونه ها در محیط باکتریا آگار غیر مغذی ۱.۵٪ کشت داده شدند. پلیت ها روزانه از نظر رشد آمیب ها مورد بررسی قرار گرفتند و نمونه های مثبت خالص سازی شدند. تشخیص در این مطالعه براساس معیارهای مورفولوژیک و با استفاده از کلید Page بود. در این کلید با توجه به معیارهای تشخیصی مرفولوژیک آمیب های آزادی از جمله شکل تروفوزوئیت آمیب، شکل پاهای کاذب و هسته آمیب، شکل اندوکیست و اکتوکیست در کیست های آمیب می توان به تشخیص قطعی در سطح خانواده و جنس پرداخت.

یافته ها: از ۷۵ نمونه آب های استخرها و حوضچه های پارک ها، ۱۸ (۲۴ درصد) نمونه از نظر آلودگی به آمیبهای آزادی مثبت بودند. بدین ترتیب که از ۴۰ نمونه آب حوضچه های پارکها، ۱۳ (۳۲/۵ درصد) ایزوله آمیب آزادی شامل جنس های آکانتامبا، هارتمنلا و آمیب های والکامفیده (جنس نگلریا) شناسائی شد و از بین ۳۵ نمونه مربوط به آب استخرها، ۵ ایزوله (۱۴/۲ درصد) آمیب آزادی که شامل جنس آکانتامبا بود، در محیط کشت از نظر مرفولوژیک ردیابی گردید.

نتیجه گیری: با توجه به حضور آمیب های آزادی در آب های تفریحی از جمله استخرهای عمومی باید هشدارهای لازم به مسئولین بهداشتی استخرهای عمومی و افراد مستعد خطر داده شود. بعلاوه، نصب تابلوهای هشدار دهنده در پارک ها می تواند راهکار مناسبی در جهت پیشگیری از عفونت های مرتبط با آمیب های آزادی باشد.

کلید واژه ها: آکانتامبا، نگلریا، هارتمنلا، منابع آبی

* ایمیل نویسنده رابط: maryamniyati@yahoo.com

مقدمه

آمیب های فرصت طلب آزادی، آمیب هایی هستند که معمولاً به صورت آزاد زندگی نموده و به شکل همزیست با انسان مشاهده می شوند (۱). این تک یاخته ها از عوامل مهم ایجاد عفونت در قرینه چشم و سیستم اعصاب مرکزی انسان هستند و در اکثر موارد منجر به نایبایی و مرگ می شوند (۲). این آمیب ها شامل خانواده های مختلف از جمله والکامفیده (Vahlkampfiidae)، ونلیده (Vannellidae) و آکانتامبیده (Acanthamoebidae) هستند. در خانواده آکانتامبیده، جنس های آکانتامبا (Acanthamoeba) و بالاموتیا (Balamuthia) وجود دارد، که در این میان جنس آکانتامبا بدلیل فراوانی و انتشار گسترده در طبیعت از اهمیت ویژه ای برخوردار است. آکانتامبا تک یاخته ای فرصت طلب است که به طور وسیع در محیط پراکنده می باشد (۳). از عفونت های مهم این آمیب می توان به کراتیت آکانتامبایی اشاره کرد. اخیراً آلودگی به کراتیت آکانتامبایی در ایران رو به

آمیب های فرصت طلب آزادی، آمیب هایی هستند که معمولاً به صورت آزاد زندگی نموده و به شکل همزیست با انسان مشاهده می شوند (۱). این تک یاخته ها از عوامل مهم ایجاد عفونت در قرینه چشم و سیستم اعصاب مرکزی انسان هستند و در اکثر موارد منجر به نایبایی و مرگ می شوند (۲). این آمیب ها شامل خانواده های مختلف از جمله والکامفیده (Vahlkampfiidae)، ونلیده (Vannellidae) و آکانتامبیده (Acanthamoebidae) هستند. در خانواده آکانتامبیده، جنس های آکانتامبا (Acanthamoeba) و بالاموتیا (Balamuthia) وجود دارد، که در این میان جنس آکانتامبا بدلیل فراوانی و انتشار گسترده در طبیعت از اهمیت ویژه ای برخوردار است. آکانتامبا تک یاخته ای فرصت طلب است که به طور وسیع در محیط پراکنده می باشد (۳). از عفونت های مهم این آمیب می توان به کراتیت آکانتامبایی اشاره کرد. اخیراً آلودگی به کراتیت آکانتامبایی در ایران رو به

به مطالب فوق به نظر می‌رسد مطالعه و تحقیقات بیشتری در خصوص این آمیب‌ها در منابع آبی تفریحی لازم و ضروری است. هدف از بررسی حاضر مطالعه آلودگی آب استخرهای عمومی و حوضچه های پارک های تفریحی به آمیب های آزادزی در شهر تهران بود. در طی این مطالعه از استخر های عمومی و حوضچه های پارک های تفریحی مناطق مختلف شهر تهران نمونه گیری انجام شد و با استفاده از روش های مرفولوژیک و با توجه به کلید page آمیب های آزادزی مورد بررسی قرار گرفتند. این اولین مطالعه در خصوص حضور آمیب های آزادزی در استخرهای عمومی شهر تهران می باشد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر یک تحقیق مقطعی (Cross sectional) بود که از روش نمونه گیری تصادفی جهت نمونه برداری از آب استخرهای عمومی و حوضچه‌های موجود در پارک‌ها از مناطق ۲۲ گانه شهر تهران استفاده شد. این تحقیق به مدت ۸ ماه از فروردین لغایت آبان ۱۳۹۳ بطول انجامید. جهت تعیین حجم نمونه به منظور دستیابی به نمونه های مثبت آمیب های آزادزی و با توجه به مطالعات گزارش شده و با نسبت ۶۰ درصد و خطای نسبی ۴۰ درصد و در سطح اطمینان ۹۰ درصد، تعداد ۷۵ نمونه مد نظر قرار گرفت. بدین منظور، تعداد ۴۰ نمونه از آب حوضچه های پارک های تفریحی و تعداد ۳۵ نمونه از استخرهای عمومی مناطق ۲۲ گانه شهر تهران جمع آوری گردید. نمونه های مذکور به میزان ۲۵۰ الی ۳۰۰ میلی لیتر در ظروف استریل از ۲ تا ۳ سانتی متری سطح آب جمع آوری شدند و به فاصله چند ساعت به آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی منتقل گردیدند. سپس ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه ها از فیلتر نیتروسولوزی ۰/۴۵ میکرونی عبور داده شدند. فیلترها در محیط کشت آگار غیرمغذی ۱/۵ درصد که ترکیبی از پودر باکتو آگار شرکت دیفکو و آب مقطر بود و توسط اتوکلاو استریل شده بود، قرار داده شدند. برای رشد بهتر آمیب ها قبل از قرار دادن فیلتر به محیط کشت، مقداری از سوسپانسیون باکتری اشرشیا کلای تهیه و به محیط اضافه گردید (۱۱، ۴). دمای تمامی آب‌های جمع آوری شده نیز از طریق دماسنج و در عمق آب تعیین شد. بعد از گذشت دو روز پلیت ها روزانه مورد بررسی قرار می گرفتند. جهت بررسی رشد آمیب ها حاشیه فیلتر در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد. به علت ماهیت دیر رشد بودن برخی سویه های آمیب، پلیت ها به مدت یک ماه مورد بررسی قرار گرفتند. در صورتی که بعد از یک ماه آمیبی مشاهده نمی شد، آنها منفی گزارش می شدند. لازم به ذکر است در سطح پلیت های کشت به جز آمیب های آزادزی، قارچ-ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌توانند حضور داشته باشند. به منظور دستیابی به کشت خالص آمیب های آزادزی، عمل تخلیص صورت پذیرفت. از این رو، پلیت‌های حاوی آکانتامبا به زیر میکروسکوپ انتقال داده شدند و در شرایط استریل و کنار شعله به کمک آنس استریل چند کیست از آمیب که اطراف آن باکتری و قارچ وجود نداشت، به محیط کشت دیگر منتقل گردیدند. این

افزایش است (۴). این بیماری در نتیجه درگیری لایه های مختلف قرنیه چشم بروز می کند و در موارد شدید، بیماری می‌تواند منجر به از دست رفتن بینایی فرد شود. در واقع، آمیب می‌تواند سد اپیتلیوم قرنیه را از بین ببرد و خود را به لایه های عمیق تر قرنیه از جمله استروما برساند و با تشکیل کیست در بافت قرنیه بقای خود را تضمین نماید (۱). مطالعه نیتی و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داد که از میان ۵۰ نمونه از افراد مبتلا به کراتیت چشمی تعداد ۱۵ (۳۰ درصد) نفر به آکانتامبا مبتلا بوده اند (۴). مطالعه دیگری نیز توسط مقصود و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان داد که از میان ۵۲ فرد مبتلا به کراتیت، در ۱۳ نفر آکانتامبا به عنوان عامل بیماریزا ردیابی شده است (۵). لازم به توضیح است که تاکنون گزارشی از بیماری آنسفالیت آکانتامبایی یا بالاموئیایی در کشور وجود ندارد. آنسفالیت آکانتامبایی از طریق استنشاق کیست آمیب و یا خراش های پوستی می‌تواند بروز کند و با عوارض شدید مغزی همراه است (۶).

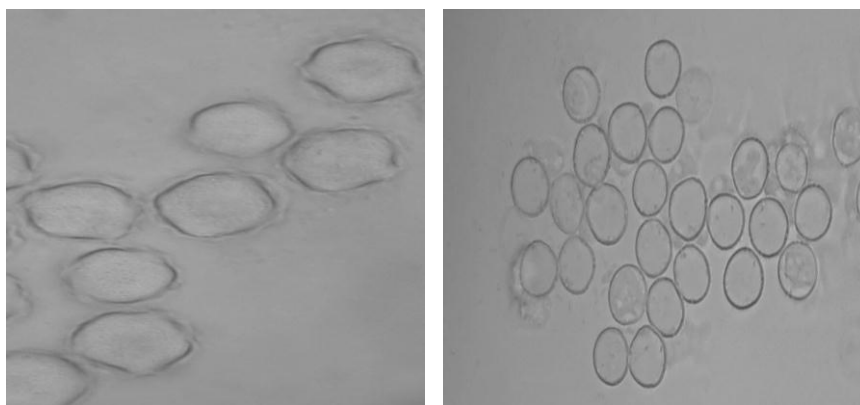
جالب توجه آنکه اخیراً بیماران مبتلا به کراتیت گزارشاتی از شنا و تماس با منابع آبی تفریحی داشته اند (۶). نتایج مطالعه ای که توسط نیتی و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی ۵۵ نمونه آب از ۱۰ رودخانه تفریحی اطراف تهران از نظر آلودگی به آمیب های آزادزی انجام گرفت، نشان داد که ۲۷/۳ درصد آب‌ها آلوده به آمیب های آزادزی بودند، که از این تعداد ۸۰ درصد متعلق به جنس آکانتامبا تشخیص داده شد (۷). بعلاوه، در مطالعه بدیر زاده و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی ۲۸ نمونه از چشمه های آب گرم شهر سرعین استان اردبیل مشخص شد که ۱۲ (۴۲/۹ درصد) نمونه آلوده به آمیب های آزادزی است (۸). در مطالعه ای که توسط Lorenzo و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی نمونه های خاک انجام شده بود، از میان ۱۱۴ نمونه خاک، ۴۳ نمونه از نظر وجود آکانتامبا مثبت بودند و طی تحقیقات انجام شده در ۳۹ (۹۰/۶ درصد) سویه از ۴۳ سویه مثبت، مقاومت آمیب به حرارت و اسمولاریته مشاهده شده که نشان دهنده توان بالقوه پاتوژنیک بودن سویه های موجود در خاک است (۹). همانطور که اشاره شد در بررسی های انجام شده مشخص گردیده که اغلب بیماران مبتلا قبل از شروع بیماری با منابع آبی ارتباط داشته اند. غالباً آمیب های آزادزی شرایط سخت از جمله وجود ضد عفونی کننده ها را تحمل می کنند و این موضوع می‌تواند در بقاء آنها در آب های تصفیه شده کمک نماید. وجود آمیب های آزادزی به ویژه آکانتامبا در آب یکی از ریسک فاکتورهای مهم در انتقال بیماری به خصوص در افراد مستعد که شامل افراد مصرف کننده لنز تماسی، کودکان و افراد با ایمنی ناکارآمد هستند، محسوب می شود. در واقع لنز های تماسی و ظروف لنز همراه با عدم رعایت بهداشت در نگه داری از لنز می‌تواند جاذب آمیب های آزادزی پاتوژن باشد. از طرفی کودکان به علت سیستم ایمنی ضعیف مستعد ابتلا به عفونت های آمیب های آزادزی از جمله عفونت های آکانتامبایی می‌باشند (۱۰). از آنجائیکه انتقال آکانتامبا به انسان از طریق آب های تفریحی می‌تواند صورت گیرد، بنابراین بهداشت و سلامت آب های تفریحی به ویژه استخرها اهمیت دارد، و با توجه

آزادزی نگلریا (۵/۵۵ درصد)، ۱ نمونه آمیب آزادزی هارتمنلا (۵/۵۵ درصد)، ۱ نمونه آمیب آزادزی آکانتامبا، تکامبا و نگلریا (۵/۵۵ درصد) تشخیص داده شد. لازم به ذکر است که پلیت حاوی آمیب های متنوع (آکانتامبا، تکامبا و نگلریا) در نمونه گرفته شده از استخر مشاهده گردید، در حالی که سه پلیت حاوی آمیب های مخلوط مربوط به حوضچه های پارک ها بودند (جدول ۱ و ۲). با استفاده از بررسی های میکروسکوپی که بر پایه شکل و اندازه کیست و تروفوزوئیت ها، دو جداره بودن کیست، شکل اندوسیست و اکتوکیست بعد از گذشت چند روز صورت گرفت، آکانتامبا در ۱۶ محیط کشت مشاهده گردید (شکل ۱) که در دو محیط کشت به دلیل آلودگی زیاد، خالص سازی از دیگر آمیب های آزادزی میسر نشد. تعداد ۱۰ نمونه از آب حوضچه های پارکها (۲۵ درصد) و تعداد ۴ نمونه از آب استخرها (۱/۴ درصد) در محیط کشت آگار غیر مغذی بعد از گذشت ۶ تا ۱۰ روز از نظر آکانتامبا مثبت گردیدند و خالص شدند. در دو مورد نمونه هایی که آکانتامبا بصورت مخلوط با سایر آمیبها مشاهده گردیدند، حتی با پاساژهای متوالی آمیب و بعد از دو ماه بصورت خالص جدا نشد. بنابراین در ۱۴ پلیت آکانتامبای خالص شده، ردیابی شد. لازم به توضیح است که نگلریا با وجود کیست های دو جداره کروی، تروفوزوئیت های کشیده و اشکال تازکداری ردیابی شد (شکل ۱) و هارتمنلا نیز با کیست های کروی با اندازه ای در حدود ۸ میکرون و تروفوزوئیت های کرمی شکل مورد شناسایی قرار گرفت (شکل ۲). در تحقیق انجام شده از استخرهای واقع در جنوب تهران ۹ نمونه گرفته شد که در چهار نمونه آلودگی به آمیب های آزادزی مشاهده گردید. این منطقه بالاترین آلودگی به آمیب های آزادزی را داشت. همچنین بالاترین میزان آلودگی در پارک های نمونه گیری شده در شرق تهران مشاهده گردید که از ۱۰ نمونه گرفته شده، در چهار نمونه آلودگی وجود داشت.

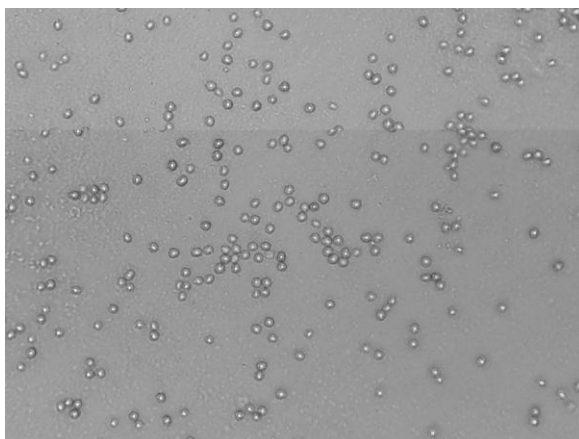
عمل تا ده پاساژ و یا بیشتر به منظور بدست آوردن پلیت کاملا خالص و عاری از آلودگی مورد نظر ادامه یافت (۴). این فرایند حدوداً ۲ ماه بطول انجامید و پلیت ها پس از این مدت خالص و عاری از هر گونه آلودگی شدند. تشخیص آمیب ها بر اساس معیارهای مرفولوژیک و با استفاده از کلید Page و اشکال تروفوزوئیت و کیست آنها بود (۱۲). در این کلید با توجه به معیارهای تشخیصی مرفولوژیک آمیب های آزادزی از جمله شکل تروفوزوئیت آمیب و پاهای کاذب آن و هسته آمیب، شکل اندوکیست و اکتوکیست در کیست های آمیب می توان به تشخیص قطعی در سطح خانواده و جنس پرداخت. جهت تشخیص جنس نگلریا در خانواده والکامفیده از تست تازکدار شدن استفاده شد (۱۳). بدین منظور آمیب ها در مجاورت ۱-۲ میلی لیتر بافر فسفات در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و در عرض دو ساعت بر روی لام اشکال تازکداری ردیابی گردیدند.

یافته ها

در این بررسی تعداد ۷۵ نمونه از آب های تفریحی که شامل ۳۵ نمونه از آب استخرهای عمومی و ۴۰ نمونه از آب حوضچه های پارک های کلیه مناطق ۲۲ گانه شهر تهران بودند، گرفته شد. از این تعداد ۱۸ (۲۴ درصد) پلیت از نظر وجود آمیب های آزادزی از نظر مرفولوژیک بعد از گذشت ۱۰ روز مثبت گردید. محیط های کشت منفی به مدت دو ماه در دمای محیط نگهداری شدند و مجدداً از نظر آمیب های آزادزی مورد بررسی قرار گرفتند، زیرا ممکن است بعضی از آمیب های آزادزی دیر رشد باشند که در این مطالعه آمیب های آزادزی دیر رشد مشاهده نشدند. از تعداد ۱۸ پلیت مثبت در محیط کشت، ۲ نمونه مخلوط آمیب آزادزی آکانتامبا و نگلریا (۱۱/۱ درصد)، ۱ نمونه مخلوط آمیب آزادزی هارتمنلا و نگلریا (۵/۵۵ درصد)، ۱ نمونه آمیب



شکل ۱: پلیت های حاوی کیست های آکانتامبا (چپ) و کیست های نگلریا (راست) (بزرگنمایی ۱۰۰X) ایزوله شده از آب های تفریحی در شهر تهران سال ۱۳۹۳



شکل ۲: کیست های هارتمنلا ایزوله شده از آب های تفریحی در شهر تهران سال ۱۳۹۳ (بزرگنمایی X۴۰)

جدول ۱: توزیع فراوانی نمونه های مثبت از نظر آمیب های آزادزی ایزوله شده از استخرها و حوضچه های پارک ها مناطق مختلف در شهر تهران سال ۱۳۹۳

کشت	مرفولوژی	دما (درجه سانتی گراد)	مکان نمونه گیری	کد ایزوله مثبت
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی ستاره ای شکل	۲۳	پارک افسریه	MN(AC)7-PW-IR*
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی بیضی شکل	۲۵	پارک شقایق	MN (AC)10- PW- IR
+	آمیب آزادزی آکانتامبا و نگلریا	۲۳	پارک شکوفه	MN (AC)12- PW- IR
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی مثلثی شکل	۲۰	پارک نهج البلاغه	MN (AC)14- PW- IR
+	آمیب آزادزی آکانتامبا و نگلریا	۲۲	پارک خیام	MN (AC)15- PW- IR
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی مربعی شکل	۲۱	پارک کوهسار	MN (AC)18 – PW- IR
+	آمیب نگلریا با کیست کروی با دو دیواره کاملا متمایز	۲۰	پارک معلم	MN (AC)2 – PW- IR
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی نامنظم (چروکیده)	۲۲	پارک نبوت	MN (AC)21- PW- IR
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی مربعی شکل	۱۷	پارک شفق	MN (AC)25- PW- IR
+	میگس آمیب آزادزی هارتمنلا و نگلریا	۱۹	پارک فرحزاد	MN (AC)30- PW- IR
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی مثلثی شکل	۲۱	پارک غزل	MN (AC)33 – PW- IR
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی مربعی شکل	۲۱	پارک دانشجو	MN (AC)35- PW- IR
+	آمیب آکانتامبا با کیست دو جداره با دیواره خارجی مربعی شکل	۲۰	پارک طالقانی	MN (AC)39- PW- IR
+	آمیب آکانتامبا(کیست دوجداره با دیواره مثلثی شکل)	۲۸	استخر تختی	MN (AC)8- SPW- IR
+	آمیب آکانتامبا(کیست دوجداره با دیواره مثلثی شکل)	۲۷	استخر قیانوری	MN (AC)15- SPW- IR
+	آمیب آکانتامبا(کیست دوجداره با دیواره مربعی شکل)	۲۸	استخر فیروزه	MN (AC)19- SPW- IR
+	آمیب هارتمنلا(کیست دو جداره صاف و کروی)	۳۰	استخر توحید	MN(AC)1-SPW-IR
+	آمیب آزادزی آکانتامبا، نگلریا و تکامبا	۲۸	استخر درفشی فر	MN (AC)22- SPW- IR

جدول ۲: توزیع فراوانی آلودگی آبهای حوضچه های پارک ها و استخر های شهر تهران به آکانتامبا

آلودگی آب های حوضچه پارک ها و استخرها به آکانتامبا بر اساس روش کشت					
محل نمونه گیری	کشت مثبت		کشت منفی		جمع
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	درصد
استخر	۴	۱۱.۴٪	۳۱	۸۸.۶٪	۳۵
حوضچه پارک ها	۱۲	۳۰٪	۲۸	۷۰٪	۴۰
جمع	۱۶	۲۱.۳٪	۵۹	۷۸.۷٪	۷۵

بحث

میان ۲۸ نمونه آب چشمه گرم در ۱۲ نمونه آمیب آزادزی ردیابی شد (۸). بعلاوه مطالعه سلگی و همکاران در سال ۲۰۱۲ در کل چشمه های آب گرم استان اردبیل نشان داد که ۲۰ درصد از چشمه های آب گرم این استان به آکانتامبا آلوده بودند (۱۴). لازم به ذکر است که در مطالعه آنها هارتمنلا و نگلریا نیز ایزوله شده بود (۱۵). از تفاوت های دو مطالعه ذکر شده با مطالعه کنونی می-توان به این مورد اشاره داشت که در مطالعات مذکور آمیب های

امروزه بیماری های ناشی از آمیب های آزادزی از جمله آنسفالیس ها و کراتیت های آکانتامبایی رو به افزایش است (۹). در کشور ما مطالعات مختلفی در زمینه آمیب های آزادزی در منابع محیطی و از جمله آب های تفریحی انجام گرفته است. از جمله مطالعه بدیرزاده و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داد که آمیب های آزادزی می توانند در چشمه های آب گرم شهر سرعین استان اردبیل حضور داشته باشند. مطالعه این محققین نشان داد که از

های مرفولوژیک ۱۸ جنس از آمیب های آزادی با استفاده از کلید Page شناسایی شدند. فراوانترین آمیب ها ونلا، روسکولوس و آکانتامبا بود (۱۳). در مطالعه ای نیز که توسط Ozçelik و همکاران در سال ۲۰۱۲ به انجام رسید، مشخص شد که از ۲۵۰ نمونه آب منازل و منابع محیطی ۷۵ (۳۰ درصد) نمونه به آکانتامبا، هارتمنلا و نگلریا آلوده بودند (۱۸) که نتایج این محققین با مطالعه ما از نظر نوع آمیب ایزوله شده مطابقت دارد.

در مطالعه ای که توسط Coşkun و همکاران در سال ۲۰۱۳ در سیواس ترکیه انجام شد، در مجموع ۱۵۰ نمونه آب از شش بخش سیواس جمع آوری گردید. نمونه ها فیلتر شدند و فیلترها در محیط کشت باکتریا آگار که حاوی باکتری اشرشیا کلی بود قرار داده شدند. سی و سه (۲۲ درصد) نمونه از ۱۵۰ نمونه از نظر وجود آمیب های آزادی مثبت شدند. لازم به ذکر است که آمیب ها با توجه به ویژگی های مورفولوژیک مورد تحلیل قرار گرفتند و بیشترین آمیب جدا شده آکانتامبا گزارش شد (۱۹). در مطالعه حاضر نیز بیشترین آمیب ایزوله شده متعلق به جنس آکانتامبا بود. مطالعه ای نیز توسط Shoff و همکاران در سال ۲۰۰۸ جهت بررسی فراوانی آکانتامبا و دیگر آمیب های آزادی در آب های منازل انجام گرفت. در این مطالعه تعداد ۲۸۳ نمونه آب از منازل مناطق اطراف Broward در ساحل فلوریدا جمع آوری شدند و آمیب ها از نظر مشخصات مورفولوژیک در محیط کشت مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد ۸۰ مورد از نظر آمیب آزادی مثبت بوده و در ۸ مورد (۲/۸ درصد) آکانتامبا دیده شد (۲۰).

از نقاط قوت مطالعه حاضر این بود که تحقیق برای اولین بار در استخرهای تفریحی شهر تهران صورت گرفت و همچنین در این مطالعه اقدام به شناسایی مرفولوژیک تمامی آمیب های آزادی ایزوله شده، گردید. آب های تفریحی از جمله استخرها از مراکز تفریحی بسیار مهم برای اکثریت مردم بشمار می آیند. بنابراین حضور آمیب آزادی آکانتامبا، هارتمنلا و نگلریا در آب های استخرها تهدیدی بالقوه برای سلامت افرادی می باشد که به قصد سلامت بیشتر و تفریح مناسب از این مکان ها بهره می برند. جالب توجه آنکه آلودگی استخرها در قیاس با حوضچه های پارک ها در این تحقیق بطور معنی داری پایین تر بود که می تواند به دلیل کلرینه بودن و تصفیه آب های استخرها و رسیدگی بیشتر به آب و شرایط بهداشتی آنها باشد. بعلاوه تعداد پلیت های مخلوط به آمیب های آزادی در آب استخرها یک عدد بود که در قیاس با آب حوضچه ها کمتر می باشد.

از محدودیت های مطالعه حاضر، عدم امکان انجام روش های ملکولی و تعیین توالی بود، چراکه انواع متنوعی از آمیب ها ایزوله شدند که برای هر جنس باید از پرایمرهای اختصاصی استفاده می

ایزوله شده ترموتولرانت بودند، زیرا دمای آب چشمه های آب گرم بسیار بالاتر از آب های استخرها و حوضچه های پارک ها می باشد. رضائیان و همکاران در سال ۲۰۰۷ در تهران بر روی ۸۰ نمونه از منابع محیطی مختلف تحقیق انجام دادند، که در ۳۷ (۴۶/۲۵ درصد) نمونه آمیب آکانتامبا را شناسایی کردند (۱۶). لیکن تفاوت مطالعه رضائیان با مطالعه حاضر در این بود که این محققین تنها به بررسی جنس آکانتامبا در منابع محیطی پرداخته بودند، در حالیکه در مطالعه حاضر سعی بر شناسایی تمامی آمیب های آزادی شد.

در بررسی حاضر به جداسازی آمیب های آزادی در آب های استخرهای عمومی و حوضچه های پارک ها پرداخته شد تا اطلاعات دقیق تری در مورد پراکندگی این آمیب ها در آب های تفریحی در شهر تهران بدست آید. لازم به ذکر است که تاکنون تحقیقی در زمینه آب های استخر حاوی کلر در ایران صورت نگرفته بود. نتایج حاضر نشان می دهد آب های کلردار و تصفیه شده نیز می توانند به آمیب های آزادی آلوده شوند و سبب در خطر قرار دادن افراد مستعد گردند. در این میان به دلیل مقاومت بالای کیست های آکانتامبا به مواد ضد عفونی کننده خطر جدی برای استفاده کننده ها منجمله کودکان که از نظریستم ایمنی در سطح پایین تری هستند، می باشد. در مطالعه حاضر، نمونه آب های استخر های عمومی و حوضچه های پارک ها در چهار منطقه شمال، جنوب، شرق و غرب، از نظر وجود آمیب های آزادی از جمله آکانتامبا مورد بررسی قرار گرفت که ۱۶ ایزوله آکانتامبا با استفاده از خصوصیات منحصر به فرد این آمیب از جمله وجود کیست های دو جداره با اندوکیست ستاره ای یا مثلثی در زیر میکروسکوپ تائید شد. همچنین نتایج نشان می دهد که بیشترین آلودگی مربوط به آب استخرهای منطقه جنوب تهران می باشد که از تعداد ۹ نمونه، ۴ استخر آلوده شناسایی شد و کمترین آلودگی مربوط به آب استخر های منطقه شمال تهران بود که هیچ آلودگی یافت نشد.

در مطالعه دیگری که توسط Ramirez و همکاران در سال ۲۰۱۴ صورت گرفت، بر اساس روش های مرفولوژیک و کلید Page آمیب های متنوعی از جمله آکانتامبا، اکاینامبا، نگلریا، ونلا و تکامبا شناسایی شدند. این آمیب ها از آب های سیستم تصفیه آب و فاضلاب کارخانه ها ایزوله شده بودند (۱۷). اما جالب آنکه در مطالعه مذکور آمیب هایی که توانایی تشکیل کیست را ندارند از جمله ونلا و تکامبا نیز ایزوله شد. در حالیکه در مطالعه حاضر تمامی آمیب ها قادر به تشکیل کیست هستند. مطالعه دیگری توسط Bonilla-lemus در سال ۲۰۱۴ بر آب رودخانه های کشور مکزیک صورت گرفت. در مطالعه این محققین با استفاده از روش

آمیب های آزادزی صورت گیرد تا از بروز عفونت های مرتبط پیشگیری کرد. همچنین توصیه می شود که آب های حوضچه های میدین و پارک ها نیز در فواصل منظم تعویض شود تا از رشد و کلونیزه شدن آمیب های مذکور جلوگیری شود. امید است نتایج حاصل از این مطالعه گامی در جهت رسیدن آب های تفریحی خصوصا استخرها و حوضچه های پارکها به بالاترین استانداردهای خود باشد.

تقدیر و تشکر

از گرنت متعلق به دکتر مریم نیتی مربوط به بنیاد ملی نخبگان کشور تشکر می شود. این مقاله حاصل قسمتی از پایان نامه آقای مهیار مافی (طرح مصوب مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با شماره 1391-1-125-1092) می باشد.

References

1. Mariciano-Cabral F, Cabral C. *Acanthamoeba* As agents of disease in humans. *J Clin Microbiol Rev* 2003; **16**(2): 273-307.
2. Hua L Young, Ran HA, Sung-Tae'Yean, ChulH'Hyun-Hee K, Dong Ch. Genetic Diversity of *Acanthamoeba* isolates from ocean sediments. *Korean J Parasitol* 2006; **44**(2): 117-125.
3. Khan NA. Pathogenesis of *Acanthamoeba* infections. *Microb Pathog* 2003; **34**(6): 277-285.
4. Niyiyati M, Lorenzo-Morales J, Rezaie S, Rahimi F, Mohebbali M, Maghsood AH, et.al. Genotyping of *Acanthamoeba* isolates from clinical and environmental specimens in Iran. *Exp Parasitol* 2009; **121**(3): 242-245.
5. 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; **54**: 755-759.
6. Rezaeian M, Niyiyati M. Pathogenic free-living amoeba in humans. Published by tehran university of medical sciences. 2009.
7. Niyiyati M, Lasjerdi Z, Nazar N, Haghghi A, Nazemalhosseini Mojarad E. Screening of recreational areas of rivers for potentially pathogenic free-living amoebae in the suburbs of Tehran, Iran. *J Water Health* 2012; **10**(1): 140-146.
8. Badirzadeh AL, 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; **6**(2): 1-8.
9. Lorenzo-Morales J, Miranda CA, Jimenez C, Tejedor ML, Valladares B, Ortegerivas A. Evaluation of *Acanthamoeba* isolates from environmental sources in Tenerife, Canary Island, Spain. *Ann Agric Environ Med* 2005; **12**: 233-236.
10. Siddiqui R, Khan NA. Biology and pathogenesis of *Acanthamoeba*. *Parasit Vectors* 2012; **5**(6): 111-113.
11. Lorenzo-Morales J, Ortega-Rivas A, Mar tinez E, Foronda P, Valladares B. Isolation and Identification of pathogenic *Acanthamoeba* strain in Tenerife, Canary Islands, Spain from Water Sources. *Parasitol Res* 2007; **95**: 273-277.
12. Page FC. A New Key to Freshwater and Soil Gymnoamoebae. Freshwater Biological Association Ambleside; 1988.
13. Bonilla-Lemus P, Caballero Villegas AS, Carmona Jiménez J, Lugo Vázquez A. Occurrence of free-living amoebae in streams of the Mexico Basin. *Exp Parasitol* 2014; **145**: 28-33.
14. Solgi R, Niyiyati M, Haghghi A, Taghipour N, Tabaei SJ, Eftekhari M, et.al. Thermotolerant *Acanthamoeba* spp. isolated from therapeutic hot springs in Northwestern Iran. *J Water Health* 2012; **10**(4): 650-656.
15. Solgi R, Niyiyati M, Haghghi A, Mojarad EN. Occurrence of Thermotolerant *Hartmannella vermiformis* and *Naegleria Spp.* in Hot Springs of Ardebil Province, Northwest Iran. *Iran J Parasitol* 2012; **7**(2): 47-52.
16. Rezaeian M, Niyiyati M, Farnai Sh, Rahimi F & Motevalli haghgi A (2008) Isolation of *Acanthamoeba*

شد که بدلیل مشکلات مالی در این تحقیق مقدر نبود. به هر حال امید است که در آینده با دستیابی به امکانات بیشتر به هدف فوق دست یابیم. در مطالعه حاضر با بهره گیری از کتب مرجع در خصوص شناسایی آمیب های آزادزی از جمله کلید Page، تمامی آمیب ها در سطح جنس مورد شناسایی قرار گرفتند. نهایتا، با توجه به حضور بالای آمیب ها در منابع آبی، احتمال ابتلا افراد مستعد به آمیب های آزادزی بالقوه پاتوژن وجود دارد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که آلودگی بالای آب های تفریحی به خصوص استخرهای عمومی می تواند به عنوان یک خطر بهداشتی برای افراد مستعد از جمله استفاده کنندگان لنزهای تماسی باشد. لذا باید هشدار های لازم به مسئولین بهداشتی از نظر ضد عفونی دقیق استخرها و راهکار مناسب در جهت مقابله با

- Spp. from Different Environmental Sources. *Iranian J of Parasitol* 2008; **3**: 44-47.
17. Ramirez E, Robles E, Martinez B, Ayala R, Sainz G, Martinez ME, Gonzalez ME .Distribution of free-living amoebae in a treatment system of textile industrial wastewater. *Exp Parasitol* 2014; **145**: 34-38.
18. Ozçelik S, Coşkun KA, Yünlü O, Alim A, Malatyalı E. The prevalence, isolation and morph typing of potentially pathogenic free-living amoebae from tap water and environmental water sources in Sivas. *Turkiye Parazitol Derg* 2012; **36**(4): 198-203.
19. Coşkun KA, Ozçelik S, Tutar L, Elaldı N, Tutar Y. Isolation and identification of free-living amoebae from tap water in Sivas, Turkey. *Biomed Res Int* 2013; **67**: 145.
20. Shoff ME, Rogreson A, Kessler K, Schatz S, Seal DV. Prevalence of *Acanthamoeba* and other naked amoebae in South Florida domestic Water. *J water Health* 2008; **6**(1): 99-104.