جدا سازی آمیب های آزاد زی بیماریزا (نگلریا و آکانتاموبا) از آب و خاک حاشیه رودخانه ها و دریاچه های مناطق مختلف کازرون

دکتر مصطفی رضائیان [1]، فریدون باقری[1]، شهره فرنیا[1] و زهرا بابایی[1]

چکیده :

در عملیاتی که روی آب و خاک درمنطقه کازرون طی دوسال از ۱۳۷۸ الی ۱۳۸۰ به عمل آمد، مجموعاً ۳٥٤ نمونه آب و خاک از رودخانه ها و دریاچه پریشان تهیه گردید که ۱۰ مورد آمیب آکانتاموبا و ۳ مورد نگلریا جداسازی شد این موارد مثبت براساس نمونه گیریهای متعدد که در فصول مختلف سال و در شرایط اکولوژیک متفاوت به عمل آمد، حاصل گردید. نمونه های آبی با روشهای فیلتراسیون و عبور از صافیها برای جداسازی میکروارگانیسمها و با کمک سانتریفوژ آماده شد و سدیمانهای حاصله با مشاهده در زیر میکروسکوپ با بزرگ نمایی ۱۰ و ٤۰ و کشت در محیطهای آگار غیرمغذی که توسط اشرشیاکلی تقویت می گردید مورد بررسی قرار گرفتند. ضمن این بررسی یک مورد کراتیت آمیبی ناشی از آکانتاموبا در بین بیماران چشمی نیز جدا و مورد شناسایی قرار گرفت، بیمار دختری ۲۲ ساله و ساکن شهرستان کازرون می باشد که جهت درمان به پزشک معالج معرفی شد.

واژگان کلیدی : *نگلریا ، آکانتاموبا ، آب و خاک ، کراتیت آمیبی ، ایران*

[1] گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی ، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران ، صندوق پستی ۶۴۴۶ – ۱۴۱۵۵

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-26]

مقدمه :

در بین تک یاخته هایی که زندگی آزاد دارند و در آب و خاک به سر می برند انواعی هستند که از نظر پزشکی اهمیت زیادی دارند و در سالهای اخیر با توجه به پیشرفتهایی که در روشهای تشخیص و آزمایشگاهی آنها حاصل گردیده است موارد گزارش شده رو به افزایش نهاده است (Markel E.K. 1996 and Martinez A.J. 1985). این گونه تک یاخته ها را در اصطلاح بیولژیکی آمفی زوئیک می گویند چون ضمن اینکه زندگی آزاد دارند می توانند به طور اتفاقی به انسان نیز منتقل شوند. این تک یاخته ها با این که در سیر زندگی خود اصولا هیچ مرحله انگلی ندارند ولی وقتی به طور اتفاقی وارد بدن انسان می شوند ، در آنجا مستقر شده و تاثیر نموده و ناهنجاریهایی را برای حیوان یا انسان ایجاد می نمایند (رضائیان و دیباجی ۱۹۷۵) . در جنس نگلریا گونه مهم نگلریا فاولری مورد توجه است که در آبها بسر می برد. تک یاخته در هنگام شنا وارد مجرای بینی انسان شده از استخوان غربالی شکل می گذرد و خود را به پیاز بویایی می رساند و از طریق پیاز بویایی در سطح مغز مستقر گردیده و ایجاد لزیونهای پیشرونده می نماید (Markel E.K. 1996, McGill R.J. et al. 1974, page F.C. 1967). بدین ترتیب ایجاد بیماری کشنده و حادی به نام منینگوآنسفالیت اولیه آمیبی یا PAM (Primary Amebic Meningoencephalitis) می نماید (Markel E.K. 1996 و رضائیان ۱۳۷۵). این بیماری سیری کوتاه دارد و در مدت کوتاهی قربانی را به کام مرگ می کشد. جنس آکانتامبا شامل گونه های متعددی است . این گونه ها در آب و خاک به سر می برند و تروفوزوئیت های آنها درانسان و حیوانات از همان مسیر فوق الذکر وارد مغز شده و ایجاد بیماری مزمن با سیر طولانی تر و مرگباری را بنام آنسفالیت گرانولومایی آمیبی یا GAE (Granulomatouse Amebic Encephalitis) می نماید. از طرفی دیگر با توجه به مقاومت زیادی که گونه های این جنس در مقابل خشکی و غیره از خود نشان می دهند، قادرند بر روی زخمها و خراشهای پوستی به خصوص خراشهای قرنیه ای ، مستقر گشته پس از رشد و تکثیر ایجاد کراتیت های آمیبی بنمایند (Markel E.K. 1996, Martinez A.J. 1985). این زخمها در قرنیه انسان باعث تیره شدن قرنیه و از بین رفتن آن می شود که در صورت عدم درمان موجب کوری می گردد (Markel E.K. 1996, Volker K. et al. 1981). هدف از این مطالعه شناسایی این عوامل در آب و خاکهای حاشیه رودخانه و دریاچه های منطقه بود که با توجه به گرم بودن منطقه و عادت مردم به شنا موارد انسانی آن نیز مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها :

الف) نمونه گیری : نمونه گیری در چهارفصل سال (بهار، تابستان ، پائیز و زمستان) به عمل آمد. نمونه ها براساس تجربه های قبلی بیشتر در گرمترین ساعات روز به وسیله یک بطری دسته دار از آب مورد نظر جمع آوری می گردید.

به طورکلی چهار نوع نمونه گیری به عمل آمد، از سطح آب ، از عمق نیم متری آب ، از رسوبات کف دریاچه، از خاک مرطوب ساحل. درجه حرارت آب در نقاط مختلف با یک ترمومتر اندازه گیری شده و یادداشت می گردید.

ب) جداسازی آمیب ها : نمونه های آب و رسوب بلافاصله به آزمایشگاه منتقل می گردید و مورد بررسی قرار می گرفت. نمونه توسط یک فیلتر کاغذی با منافذی به ابعاد یک میکرومتر عبور داده می شد. محتویات روی فیلتر ابتدا با میکروسکوپ نوری با عدسیهای ۱۰ و ۴۰ مورد

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-26]

آزمایش قرار می گرفت و سپس اشکال آمیبی مشاهده شده ترسیم و تشخیص داده می شد. تشخیص تک یاخته ها با توجه به کلید تشخیص تک یاخته های بازندگی آزاد پاترسون صورت پذیرفت (Patterson D.J. 1992).

ج) کشت : آنگاه باقیمانده رسوب روی فیلتر در محیطهای کشت اختصاصی شامل محیطهای نلسون (برای نگلریا) و کولبرتسون (برای آکانتامویا) کشت داده می شد و درصورت مثبت بودن مورد بررسی و تشخیص قرار می گرفت (Patterson D.J. 1992).

نتایج :

جمعا ۳۵٤ نمونه آب و خاک از رودخانه و دریاچه های پریشان و دشت ارژن تهیه گردید. نمونه ها در فصول مختلف سال تهیه شدند. به طوری که جمعا ٥٦ نمونه در بهار، ۸۲ نمونه در تابستان، ۱۳۵ نمونه در پائیز و ۸۱ نمونه در زمستان بودند (جدول ۱). در بین نمونه ها ۱۰ مورد آکانتامویا و ۳ مورد نگلریا جداسازی شد اشکال آنها ترسیم گردیدند و تشخیص نهایی پس از کشت دادن نمونه ها در محیطهای اختصاصی عملی گردید. موارد مثبت آکانتامویا از آب و خاک حاشیه رودخانه های اردشیری، تنگ چوگان، چشمه ساسان، شاهپور و نهر از دریاچه پریشان جهت قریه آب کنارون و دریاچه های پریشان و دشت ارژن بوده اند و موارد مثبت نگلریا از رودخانه های اردشیری، تنگ چوگان و دریاچه پریشان جدا شدند (جدول ۱).

در بررسی موارد انسانی فقط به یک مورد زخم قرنیه چشم برخورد کردیم که بیمار خانم دانشجوی ۲۲ ساله ساکن شهر کازرون بود که باتوجه به ناراحتی و تاری چشم به چشم پزشک مراجعه نموده پس از تهیه تراشه و کشت در محیط آگار، غیر مغذی (کولبرتسون) آکانتامویا رشد و تکثیر نمود، در ضمن بیمار از لنز استفاده می کرد.در رابطه با موارد انسانی قبلا نیز یک مورد در کنگره بیماریهای گرمسیری در ژاپن، سال ۱۹۹٦ گزارش شده و طبق اظهارات شفاهی دکتر رضائیان موارد متعددی نیز در آزمایشگاه تک یاخته شناسی دانشکده بهداشت در بیماران مبتلا به کراتیت تشخیص داده شده است (Rezaian M. 1996).

در بررسی از رودخانه ها، معمولا نمونه هایی که از قسمتهای جاری آب گرفته شده بودند نمونه های زیاد مناسبی نبودند و عملا هیچ کدام از این نمونه ها مثبت نشدند بلکه بیشتر سعی در گرفتن نمونه هایی که از قسمتهای ساکن در بخشهایی از رودخانه ها که معمولا از زنجیره غذایی کاملی برخوردار بودند، داشتیم.

بحث :

به طورکلی در فصول سرد نمونه های رسوبات کف دریاچه نتایج بهتری را دارند. در فصل زمستان باتوجه به اینکه هوا سرد است این تک یاخته ها به صورت کیست درآمده و در کف جایگزین می شوند. با گرم شدن هوا کیستها به تروفوزوئیتها تبدیل می گردند (Kwang W.J. 1973, Vivesvara G.S. 1975, Sawyer T.K. et al. 1977, Zsuxunna Z. et al. 1998). لذا نمونه های کف بیشتر حاوی کیست ها بوده اند. در حالی که تروفوزوئیتها در کف مشاهده نمی شوند. این اشکال فعال باتوجه به این که بسیار نیازمند به اکسیژن هستند ترجیحا در سطح آب بیشتر موجودند و نمونه هایی که از اعماق مختلف دریاچه پریشان تهیه گردید، موید این موضوع است. ما به منظور مطالعه اکولوژی این تک یاخته ها از نقاطی که از نظر آمفی زوئیک ها مثبت بوده اند. نمونه های متعدد از اعماق مختلف آب تهیه نمودیم ولی صرفا در سطح توانستیم این تک یاخته ها را بیابیم که با کار محققین دیگر همخوانی دارد (Huizinga W. et al. 1990, Dejonkeere J. et al. 1977).

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-26]

از طرفی این تک یاخته ها ترموفیل (حرارت دوست) هستند و ترجیحاً در درجه حرارتهای بالا از جمعیت بیشتری برخوردارند. در ساعات گرم روز بین ساعت ۲ تا ٤ بعدازظهر که در اثر تابش خورشید آب سطح دریاچه گرم می گردد، احتمال یافتن آمیب نیز افزایش می یابد. ولینگز مواردی از نگلریا را در دریاچه های فلوریدا جداسازی نموده است و بیشترین سطوح آمینی را در ماههای گرم تابستان به خصوص در ساعات گرم بدست آورده است (Klye D.E. et al. 1982, Welliges F.M. et al. 1997). به منظور بررسی این احتمال بعضاً در ساعات مختلف روز از صبح تا عصر که در درجه حرارت سطحی آب تفاوت چشمگیر وجود داشت نمونه گیری به عمل آوردیم، درواقع بهترین جوابهای ما از نظر جمعیتی تک یاخته ها در گرمترین ساعات به دست می آمد که بررسیهای محققین مختلف موید این واقعیت است (Wellinges F.M. et al., 1977) و همچنین در اکثر بررسیها آمیب های آمفی زوئیک بیشتر در دریاچه ها یا استخرهای شنا و آبهای آلوده به پساب سیستم های صنعتی گزارش شده است (Huizinga W. et al. 1990, Wellinges F.M. et al. 1997).

درآبهای معمولی این آمیبها را کمتر گزارش می نمایند. به طورکلی آبهای با درجه حرارت بالا ممکن است به عنوان مخازنی قوی برای ادامه حیات همیشگی و انتشار آنها عمل نمایند وعملاً وقتی درجه حرارت از ۳۰درجه سانتی گراد تجاوز می کندگونه ای نگلریا رشد و تکثیربهتری می یابند (Wellinges F.M. et al. 1997, Dejenkheere J. et al. 1997). این موضوع در بررسیهای متعدد در یک نقطه خاص از دریاچه پریشان انجام شد. چون منطقه ای خاص از دریاچه پریشان را مورد نمونه برداری در فصول متفاوت و اعمال مختلف درنظرگرفتیم عملاً تنها مورد نگلریا که در این نقطه جدا گردید در فصل تابستان و در سطح آب و درساعت ٤ بعدازظهر بود. مورد دوم نگلریا از رسوبات کف دریاچه درفصل زمستان دریافت شد که به صورت کیست بود.

منطقه ای ازدریاچه که ما تروزوئیت نگلریا و آکانتامویا را جدا نمودیم منطقه ای با پوشش گیاهی در عمق آب ، انواع خزه های آبی، انواع تک یاخته ها و جلبکهای سبز فتوسنتز کننده بود. و این گویای این مطلب است که تکثیر فراوان و افزایش جمعیت این تک یاخته ها وابسته به زنجیره غذایی غنی آب می باشد. هرچه این زنجیره غذایی به خصوص از نظر فتوسنتز کننده های تک سلولی غنی تر باشد اکوسیستم حاصله برای جمعیت تک یاخته ای مناسب ترمی شود (Wellinges F.M. et al. 1997, Lawandre R.V. et al. 1979, Klye D.E. et al. 1982). نمونه هایی را که به آزمایشگاه منتقل می گردیدند پس از بررسی میکروسکوپی به روشهایی مانند افزایش مواد غذایی، غنی نمودیم. پس از چندروز ملاحظه شد که انواع تک یاخته ها که تعداد آنها قبلا کم بودند، به شدت افزایش جمعیت یافتند و این کار نیز مجدداً تشخیص قبلی مارا تایید می کرد.

در بررسی از رودخانه ها معمولاً نمونه هایی که از قسمتهای جاری آب گرفته شده بودند نمونه های زیاد مناسبی نبودند و عملاً از هیچ کدام از این نمونه ها آمیب جدا نشد. بلکه بیشتر سعی داشتیم در نمونه هایی که از قسمتهای ساکن در بخشهایی از رودخانه ها که معمولاً از زنجیره غذایی کاملی برخوردار بودند نمونه گیری نماییم. درحواشی رودخانه ها گاهی قسمتی از آب به صورت یک مجموعه بسته درمی آید و جریان بسیار ضعیفی از آب از روی آن عبور می نماید. این مناطق معمولاً بهترین مکان برای مطالعه فون تک یاخته ای است (Penas - Ares M. et al. 1993). چون نجیره غذایی کاملی دارد و تک یاخته ها فرصت خوبی برای رشد

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-26]

و تکثیر خواهند داشت. مواردی از تروفوزوئیت ها را که از رودخانه های شاهپور و تنگ چوگـان جداسـازی شـدند از این گونه نقاط بودند. حتی یک مورد کیست آکانتاموبا کـه از کف رودخانه برداشت شده بود از رسوبات کـف همیـن قسـمت از رودخانـه بـوده اسـت. اسـپرانیزا و مونیکـا در چشـمه هـای گالیسیا در اسپانیا نیز مـواردی از نگلریـا و آکانتاموبا را جدا نموده انـد. آنـها نیز عـادات اکولـوژیکی مشابهی را برای تک یاخته ها گزارش نموده اند. (Lawande R.V. et al. 1993, Panas-Ares M. et al. 1993).

در بررسـی روی قسـمتهایی از کـف رودخانـه هـا و دریاچه ها که از نظر کیست این تـک یاختـه مثبـت بودنـد، مشاهده شد که هیچ یک از آنها شنی نبـوده بلکـه اغلـب از رسوبات کاملا نرم پوشیده شده بـود. بررسیهای دیگـر نیـز ایـــن موضـــوع را تـــایید مـــی نمـــاید (Dejinkeere J. et al. 1977). نتایج این بررسـی می تواند هشداری جهت همکاران شبکه بهداشـت ودرمـان و پزشـکان و پیراپزشـکان منطقـه باشـد کـه احتمـال بـروز بیماریهای PAM و GAM را در منطقه بدهنـد و مـردم را از خطر آلوده شدن هنگام شنا درآبهای آلوده آگـاه نمـایند و پزشکان بیماری ناشی از آمیبهای بازندگی آزاد را جـدی بگیرند و موارد مشکوک را نیز مورد توجه قرار دهند.

تشکر و قدردانی :

- از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشـکی تـهران کـه بودجه لازم جـهت اجـرای ایـن پـــروژه را دراختیـار گذاشتند.
- از شبکه بهداشت ودرمان شهرستان کازرون
- از مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی کازرون به پاس همکاریهای لازم.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-26]

جدول ۱- فراوانی آمیبهای آکانتوموبا و نگلریای جدا شده در فصول مختلف سال و محلهای نمونه برداری در منطقه کازرون

محلهای نمونه برداری	نوع آب	تعداد				جمع نمونه	موارد مثبت	
		بهار	تابستان	پائیز	زمستان		آکانتاموبا	نگلریا
چشمه چنار	شیرین	٥	١٢	٤	١٨	٣٩	٠	٠
نهرآبیاری از رودخانه شاهپور	شیرین	٤	٣	٧	٢	١٦	٠	٠
رودخانه اردشیری	شیرین	٥	٤	٦	٨	٢٣	١	١
رودخانه تنگ چوگان	شیرین	٤	٧	١١	٧	٢٩	١	١
چشمه ساسان	شیرین	٨	١٤	١٢	٢	٣٦	١	٠
رودخانه بلبک	شور	٣	٥	١٨	١٤	٤٠	٠	٠
رودخانه بالاده	شور	٤	٨	١٨	١٢	٤٢	٠	٠
دادین علیا	شیرین	٣	٢	١١	٢	١٨	٠	٠
نهر از دریاچه پریشان جهت قریه آب کنارون	شیرین	١	٧	١٤	١	٢٣	٢	٠
پل آبگینه	شیرین	١	٦	٢	٢	١١	٠	٠
رودخانه شاهپور	شیرین	٩	٧	١٤	٢	٣٢	٢	٠
دریاچه پریشان	شیرین	٦	٤	١٦	٥	٣١	٢	١
دریاچه دشت ارژن	شیرین	١	٢	١	٣	٧	١	٠
دریاچه خشت	شور	٢	١	١	٣	٧	٠	٠
جمع		٥٦	٨٢	١٣٥	٨١	٣٥٤	١٠	٣

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-26]

منابع :

رضائیان ، مصطفی. دیباجی، رسول (۱۳۷۵). آمیبهای آزادزی ، انتشارات دانشگاه تهران.

Cursons Ray T.M., Brown TIM J., Keys E.A. (1980) Effect of Disenfectant on pathogenic free living Amoeba *APP, Environ Microbiology.* **40**(1):62-66.

Dejonkheere J. and H.van de voorde (1977) The distribution of Neagleria fowleri in manmad thermal waters *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **26:**10-15.

Huizinga Harry W. and Mclaughlin Gerald. L.M (1990) Thermal Ecology of Naegleria fowleri from a power plant cooling Reservoir. *APP .Environ Micro biology.* **56**(7): 2200-2205.

Klye D.E., Hoblet G.P. (1982) Seasonal distribution of thermotolerant free-living Amoebae. *J. Protozool.* **33:** 422-484.

Kwang W.J. (1973) The biology of amoeba. Academic press, New York.

Lawande R.V., Ogunkanmi A.E. and Egler L.J. (1979) Prevalence of pathogenic free-living amoeba in Zaria, Nigeria, *Annals of Tropical Medicine and parasitology.* **73**(1): 51-56.

Markell E.K. (1996) Medical parasitology.Saunders. Co. London.

Martrinez A.J. (1985) free living amoeba. CRC press, London.

McGill Barie R.J., MCG steels A.D. (1974) Amoebic infection of the eye . *Lancet.* **28:**1535-1539.

Page F.C. (1967) Taxonomic criteria for *Limax amoeba* with descriptions of three new species of Hartmanella and three of valkampfia. *J. Protozool.***24** : 499-521.

Patterson D.J. (1992) free-living freshwater protozoa (color guide). UNSW press.

Penas-Ares M., PaniGua-crespor E. (1993) Isolation of Free living pathogenic Ameoba. From thermal spas in N.W spain. *Water,Air and Soil Polltion.* **78:** 88-90.

Rezaian M., Begaie N. (1996) A case report of Keratitis due acanthamoeba in Iran. XIV inter cong. *Trop. Medical and malaria in Japon.*

Sawyer T.K., Vivesvara G.S., Herke B.A. (1977) Pathogenic Amoebae from brakish and ocean sediments. *Science.* **196:** 1324-1325,

Visvesvara G.S., Jones Dan B., Nettie M. (1975) Robinson Isolation, identification and Biological Characterization of *Acanthamoeba polyphaga* from A human Eye, *Am.J. Tropical Medicine and hygiene.* **45:** 784-790.

Volker – Dieben and Alphen K. (1981) A case of *acanthamoeba Reratitis* in the Netherlands. *Trans Royal Society Medicine and Hygiene.* **75**(1): 86-91.

Wellinges F. M., Amuse P.T., Chang S.L. and Lewis A.L. (1997) Isolation and identification of pathogenic Naegleria from Florida Lakes . *APP Environ. Microbiol.* **34**(6): 661-667.

Zsuxunna Z., Enelo T., Yagit A.K. and Nagy, E. (1998) Isolation, identification an increasing importance of Free-living amoebae causing human diseases. *J.Med. Microbiol.* **47:**5-16.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-26]

ISOLATION OF PATHOGENIC AMOEBA (NAEGLERIA AND ACANTHAMEOBA) FROM WATER SOURCESAND MARGIN SOILS OF REVEIRS AND LAKES IN KAZERUN

Rezaian. M.,[1] PhD; Bagheri F.,[1] MSPH; Farnia Sh.,[1] Babai Z.,[1] MSPH

In a survey from 1999 to 2001, a total of 354 samples of soil and water were colleted from different areas and examined for the presence of Acanthamoeba and Naegleria spp.
After sieving, filtration and centrifugation, samples were examined for the free living protozoa (amphizoic amoeba). Concurrently, a sediment of each sample was cultured in the non-nutrient agar medium enriched by E.coli. In the end, 10 Acanthomoeba spp. and 3 Naegleria sp. were isolated. Besides, we diagnosed one case of human Acanthomoeba infection in a person residing in the area.

Key words: *Naegleria, Acanthameoba, water and soil, amphizoic amoeba, Iran*

[1]Department of Parasitology, School of Public Health & Institute of Public Health, Tehran University of Medical Sciences. P.O.Box. 6446-14155, Tehran, Iran.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-26]