مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاورد سلامت)
دوره ۱۳ شماره ۳ مرداد و شهریور ۱۳۹۸، ۲۰۰-۱۹٤

مقاله پژوهشی

بررسی میزان آلودگی آب‌های راکد و خاک به *ورمامباورمیفورمیس* در پارک‌های اراک، ایران، سال ۹۷-۱۳۹۶

حمیده سادات اطیابی[۱]، سیما راستی[۲]، مریم نیتی[۳]، زهرا اسلامی راد[٤]، مهدی دلاوری[٥]، سیدغلام عباس موسوی[٦]

دریافت مقاله : دی ۱۳۹۷
پذیرش مقاله : اردیبهشت ۱۳۹۸

* نویسنده مسئول :
سیما راستی؛
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

Email :
rasti_s@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: *ورمامباورمیفورمیس* آمیب آزادزی فرصت طلبی است که در منابع محیطی وجود دارد و سبب کراتیت آمیبی یا آنسفالیت گرانولوماتوز آمیبی در افراد نقص ایمنی می‌شود. مطالعه‌ی حاضر به منظور تعیین آلودگی به *ورمامباورمیفورمیس* در آب‌های راکد و خاک اراک صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی توصیفی، ٦۰ نمونه آب راکد و ۳٦ نمونه خاک پارک‌های اراک جمع آوری گردید. پس از عبور دادن نمونه‌ها از فیلترهای نیتروسلولز ۰/٤٥ میکرونی، در محیط آگار غیرمغذی ۱/۵ درصد (NNA) کشت و از نظر آمیب آزادزی بررسی شدند. پس از استخراج DNA، *ورمامباورمیفورمیس* با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و پرایمرهای NA1، NA2 شناسایی شد. ۸ ایزوله *ورمامباورمیفورمیس* تعیین توالی نوکلئوتید گردید و پس از بلاست و تایید گونه، در بانک ژن ثبت گردید. اطلاعات با نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری فیشر و مجذورکای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: از ۹٦ نمونه منابع محیطی موردبررسی ۲۹/۲ درصد آلوده به آمیب آزادزی بودند. میزان آلودگی آب راکد و خاک به این آمیب به‌ترتیب ۲۸/۳ درصد و ۳۰/٦ درصد بود(P<۰/۰۰۱). همچنین آلودگی به *ورمامباورمیفورمیس* به‌ترتیب در ۱۰ درصد و ۱٦/۷ درصد آب راکد و خاک تایید شد(P<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: آب‌های راکد و خاک این منطقه، آلوده به آمیب‌های آزادزی و ورمامبا است. با توجه به بیماری زا بودن این آمیب و امکان وجود اندوسیمبیونت بیماریزا در آن، آموزش بهداشت جهت کنترل و پیشگیری از بیماری به‌خصوص در بیماران مستعد از جمله افراد استفاده کننده از لنزهای تماسی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آمیب آزادزی، *ورمامبا ورمیفورمیس*، آب راکد، خاک، اراک

۱ کارشناس ارشد انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۲ استاد گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۳ دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
٤ دانشیار گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
۵ دانشیار گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
٦ مربی، گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-01]

مقدمه

آمیب‌های آزادزی، تک یاخته‌های دوگانه زی(با دو زندگی آزاد و انگلی) هستند که قادر به تغذیه از میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها می‌باشند. این آمیب‌ها در منابع مختلف محیطی همچون آب، خاک و گرد و غبار گزارش شده اند(۲و۱). آمیب‌های آزادزی، شامل خانواده‌های هارتمنلیده(ورمامبیده)، آکانتامبیده و والکامفیده هستند و برخی از گونه‌های آنها بالقوه برای انسان پاتوژن هستند. این آمیب‌ها می‌توانند سبب بیماری‌هایی همچون کراتیت آمیبی (AK: Amoebic keratitis) و آنسفالیت گرانولوماتوز آمیبی (GAE: Granulomatous Amoebic Encephlitis) شوند(٤و ۳و ۱).*ورمامباورمیفورمیس*(هارتمنلاورمیفورمیس)شایع‌ترین آمیب خانواده ورمامبیده است که به‌طور گسترده در طبیعت وجود دارد و از خاک، آب‌های شیرین و گرد و غبار جدا شده است(۵). ورمامبا در چرخه‌ی زندگی خود دارای دو شکل تروفوزوئیت و کیست است که در شکل کیستی خود قادر به تحمل شرایط نامساعد محیطی همچون دما و pH نامناسب، خشکی و عوامل شیمیایی می‌باشد(٦). این آمیب قادر به ایجاد کراتیت آمیبی (AK) و آنسفالیت گرانولوماتوز آمیبی (GAE) در افراد سالم و افرادی با اختلال در سیستم ایمنی است(۸و۷).

از ایران گزارش‌هایی از وقوع کراتیت آمیبی در افرادی که لنزهای تماسی استفاده می‌کنند وجود دارد که دلیل آن عدم رعایت اصول بهداشتی در استفاده از لنزهای نرم است(۹).

همچنین *ورمامباورمیفورمیس* به علت توانایی انتقال میکروارگانیسم‌های پاتوژن از جمله باکتری لژیونلا پنوموفیلا(عامل بیماری پنومونی در انسان) تهدید مهمی برای سلامت انسان محسوب می‌شود(۱۰).

شهر اراک منطقه کوهستانی است و آب و هوای سرد و خشک و در منطقه باد و گرد و غبار زیاد دارد. این شهر، به‌دلیل مجاورت با کویرمیقان و وجود ارتفاعات، کمبود پوشش گیاهی و رطوبت، از نظر آب و هوایی دارای نوسانات اقلیمی است(۱۱). با توجه به اطلاعات اندک در زمینه‌ی آلودگی منابع محیطی به *ورمامباورمیفورمیس* در ایران و جهان (۱۵-۱۲) و عدم بررسی این آمیب در اراک، مطالعه‌ی حاضر به‌منظور تعیین آلودگی آب‌های راکد و خاک به *ورمامباورمیفورمیس* در پارک‌های شهر اراک انجام شده است.

روش بررسی

تحقیق به روش مقطعی انجام گرفت. در این مطالعه، ۹٦ نمونه شامل ٦۰ نمونه آب راکد و ۳٦ نمونه خاک پارک‌های اراک(از تمامی مناطق شمال، جنوب، شرق و غرب به‌صورت تصادفی) جمع آوری گردید. نمونه‌های آب راکد به میزان ۵۰۰ میلی‌لیتر در بُتری‌های درپوش‌دار استریل و نمونه‌های خاک به میزان ۲۰ گرم در نایلون استریل جمع‌آوری گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی اراک، از نظر آمیب‌های آزادزی و در گروه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی کاشان از نظر *ورمامباورمیفورمیس* بررسی شد. ارتباط pH و دما با رشد آمیب‌های آزادزی و ورمامبا نیز بررسی گردید. همچنین تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار spss، با آمارهای توصیفی و کای اسکوئر و فیشر انجام گرفت.

● فیلتراسیون و کشت نمونه‌ها

نمونه‌های آب راکد از فیلترهای نیتروسلولزی با قطر منافذ ۰/٤۵ میکرون (Sartorius Stedim، آلمان) و با استفاده از دستگاه پمپ خلا (WHITLEY DG۲۵۰، چین) فیلتر شدند. نمونه‌های خاک نیز ابتدا در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل سوسپانسیون شده و سپس محلول رویی فیلتر گردید. فیلترها روی محیط کشت آگار غیرمغذی (NNA) ۱/۵ درصد محتوی ۱۰ درصد Pages saline غنی شده با اشرشیاکلی در دمای ۲٦-۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ماه انکوبه و سپس از نظر ترفوزوئیت یا کیست آمیب آزادزی بررسی شدند(۱۲). همچنین جهت خالص سازی نمونه‌های مثبت آمیب‌های آزادزی از آلودگی باکتریایی و قارچی، مجددا پاساژ داده شدند وکلنی‌های آمیب آزادزی پس از شست وشو با سرم فیزیولوژی استریل، جمع آوری و رسوب آمیب تا زمان استخراج DNA در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

● استخراج DNA

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-01]

DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت DynaBio TM DNA Extraction Mini Kit شرکت تکاپوزیست و طبق دستورالعمل مربوط استخراج شده و تا زمان PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

● شناسایی *ورمامباورمیفورمیس* با PCR

ورمامباورمیفورمیس با روش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی NA1، NA2 (با توالی NA1 5'-GCT CCA ATA GCG TAT ATT AA-3' و NA2 5'-AGA AAG AGC TAT CAA TCT GT-3') و با تکثیر ژن srRNA ۱۸ شناسایی گردید.

PCR طبق برنامه انجام شد؛ دناتوراسیون اولیه در ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۰ سیکل در دناتوراسیون ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، آنیلینگ ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل سازی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۵ ثانیه و طویل سازی نهایی در ۵ دقیقه(۱۲).

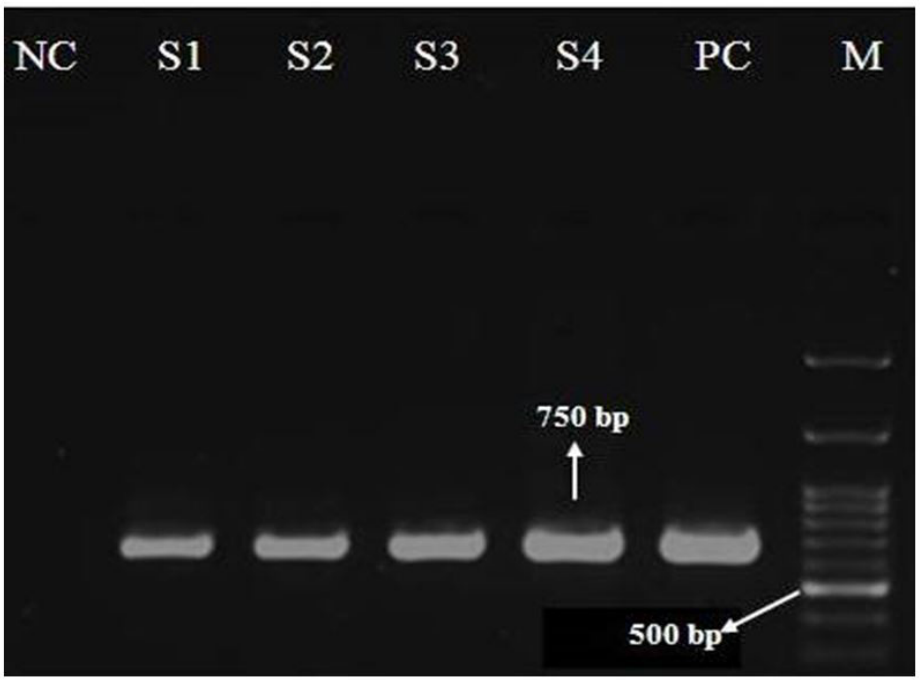
محصول PCR ایزوله‌ها با ژل آگاروز ۱/۵ درصد رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید، الکتروفورز و با ترانس لومیناتور بررسی شدند. همچنین از کنترل مثبت ورمامبا و کنترل منفی(آب مقطر استریل) استفاده گردید. با مشاهده باند ۷۵۰bp *ورمامبا ورمیفورمیس* تایید گردید.

● تعیین توالی

محصول PCR ۸ ایزوله مثبت ورمامبا از آب راکد و خاک، جهت تعیین توالی به شرکت تکاپوزیست(کره جنوبی) ارسال شد. سپس توالی‌ها در سایت NCBI بلاست شده و با نتایج ثبت شده در بانک ژن مقایسه گردید. سپس جهت مقایسه و تعیین درصد مشابهت ایزوله‌های مورد بررسی، توالی‌ها با استفاده از نرم افزار Clustalw2 آنالیز شدند.

یافته‌ها

به‌طورکلی با روش کشت از ۹٦ نمونه آب‌های راکد و خاک مورد بررسی، ۲۸ نمونه(۲۹/۲ درصد)، از نظر آمیب آزادزی مثبت بودند. میزان آلودگی آب‌های راکد و خاک به تفکیک ۲۸/۳ درصد و ۳۰/٦ درصد بود. از نظر آماری تفاوت آلودگی به آمیب آزادزی در آب راکد و خاک معنی دار بود(P.value<۰/۰۰۱).



*** NC** کنترل منفی، **S1-S4** نمونه‌های مثبت ورمامبا، **PC** کنترل مثبت، **M** مارکر وزنی **۱۰۰ bp (Ladder)**

شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR نمونه‌های مثبت *ورمامبا* با استفاده از پرایمر NA1، NA2 از آب راکد و خاک بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-01]

در بررسی مولکولی (PCR) به‌طورکلی میزان آلودگی به *ورمامباورمیفورمیس* در آب راکد و خاک ۱۲ نمونه(۱۲/۵ درصد) و به تفکیک آلودگی آب راکد ٦ نمونه(۱۰ درصد) و خاک ٦ نمونه(۱٦/۷ درصد) بود. از نظر آماری تفاوت آلودگی به ورمامبا در آب راکد و خاک معنی‌دار بود(P.value<۰/۰۰۱)(تصویر ۱ و جدول ۱).

جدول ۱: توزیع فراوانی آلودگی منابع محیطی به آمیب آزادزی و *ورمامبا* بر حسب نوع نمونه در اراک ۹۷-۱۳۹۶

تک یاخته	آمیب آزادزی(کشت)		*ورمامبا* (PCR)		جمع
نوع نمونه	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	تعداد(درصد)
آب راکد	۱۷(۲۸/۳)	٤۳(۷۱/۷)	٦(۱۰)	٥٤(۹۰)	٦۰(۱۰۰)
خاک	۱۱(۳۰/٦)	۲٥(٦۹/٤)	٦(۱٦/۷)	۳۰(۸۳/۳)	۳٦(۱۰۰)
جمع	۲۸(۲۹/۲)	٦۸(۷۰/۸)	۱۲(۱۲/٥)	۸٤(۸۷/٥)	۹٦(۱۰۰)
p.value	<۰/۰۰۱		<۰/۰۰۱		

بیشترین زمان مورد نیاز جهت جداسازی آمیب آزادزی در روز چهاردهم کشت(۷۷/۳ درصد) و کمترین آن در روز هفتم کشت(۱٦ درصد) بود. بیشترین میزان آلودگی به آمیب آزادزی و *ورمامباورمیفورمیس* در pH:۷ و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد.

جدول ۲: شماره ثبت ایزوله‌های ورمامباورمیفورمیس در بانک ژن

شماره ثبت	نوع نمونه
LC433880.1, LC430989.1, LC430990.1, LC433779.1, LC431240.1	آب‌های راکد
LC430991.1, LC433881.1, LC456710.1	خاک

میزان تشابه ایزوله‌های *ورمامباورمیفورمیس* با ایزوله‌های بانک ژن ۱۰۰-۹٥ درصد بود و ۸ ایزوله با جزییات کامل در بانک جهانی ژن ثبت گردید.

بحث

در تحقیق حاضر، میزان آلودگی آب‌های راکد به آمیب‌های آزادزی با روش کشت در پارک‌های شهر اراک ۲۸/۳ درصد بود (CI- ۰/۱٥٥-۰/٤٥۷) که با روش PCR ۱۰ درصد از نظر *ورمامباورمیفورمیس*(CI- ۰/۰۲٥-۰/۱۷٤) تایید گردید.

نیتی و همکاران(۱۳۹٤) در کیش، محمودی و همکاران(۱۳۹٤) در شمال و مرکز ایران، آرمند و همکاران(۱۳۹٥) در شیراز، گلستانی و همکاران(۱۳۹٦) و مصطفایی و همکاران(۱۳۹۷) در کاشان، میزان آلودگی منابع آبی به آمیب آزادزی را به‌ترتیب ۳۸ درصد، ٥۸/۸ درصد، ۷۷ درصد، ۸۸/٤ درصد و ۳٥/۲ درصد گزارش نمودند که در مقایسه با نتایج مطالعه‌ی حاضر بیشتر است(۱۸-۱٦و۱٤و۱۲).

همچنین در مطالعات نیتی و همکاران(۱۳۹٤)، محمودی و همکاران(۱۳۹٤)، آرمند و همکاران(۱۳۹٥) و جوانمرد و همکاران(۱۳۹٦) میزان آلودگی به *ورمامباورمیفورمیس* در آب‌های سطحی کیش، آب دریا و رودخانه شمال و مرکز کشور، آب‌های شیرین شیراز و آب‌های آشامیدنی سمنان ۱۱-٦درصد گزارش گردید که تقریبا با نتایج مطالعه حاضرمطابقت دارد(۱۹و۱٦و۱٤و۱۲).

سلگی و همکاران(۱۳۹۰) میزان آلودگی به ورمامبا (هارتمنلا) را در چشمه‌های آب گرم اردبیل ۱۷ درصد گزارش کردند(۱۳) که در مقایسه با مطالعه‌ی اخیر میزان آلودگی بیشتر بوده است، که به‌دلیل گرمادوست بودن آمیب می‌باشد(۲۰و۱۳) .

Garsia و همکاران(۲۰۱۳) در اسپانیا میزان آلودگی آب تصفیه خانه‌ها به ورمامبا را ۲٥ درصد گزارش نمودند که از مطالعه‌ی حاضر بیشتر است. با توجه به نوع نمونه و وجود مواد مغذی برای رشد آمیب در این نمونه، نتایج به‌دست آمده تایید می‌گردد(۱٥). Rohr و همکاران(۱۹۹۸) در آلمان با استفاده از روش کشت، میزان آلودگی به آمیب آزادزی در سیستم‌های آب گرم بیمارستانی را ٥۲ درصد و با روش مرفولوژی، میزان ورمامبا را ٤۱ درصد گزارش نمودند که در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر، بیشتر بود(۲۱) که با توجه به روش مطالعه‌ی فوق(کشت) نتایج دقیق نمی‌باشد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-01]

بر اساس نتایج مطالعه‌ی اخیر، میزان آلودگی خاک پارک‌های اراک به آمیب آزادزی ۳۰/٦ درصد بود(CI- ۰/۱۷۰-۰/۳۹٦) که با PCR ۱٦/۷ درصد(CI- ۰/۰٤٥-۰/۲۸۸) ورمامبا تایید گردید.

نتایج مطالعه‌ی حاضر با نتایج مطالعه‌ی میقانی و همکاران(۱۳۹۷) که میزان آلودگی خاک به آمیب آزادزی در اراک ۳۳/۳ درصد گزارش نمودند، مشابه می‌باشد(۲۲).

محقق و همکاران(۱۳۹٥) در ساری میزان آلودگی خاک به ورمامبا را ٥ درصد گزارش نمودند که از نتایج مطالعه کنونی کمتر است، روش مطالعه این محقق(شناورسازی، شیتر) و رنگ آمیزی گیمسا بوده که دقیق نیست(۲۳). همچنین Reyes-Batlle و همکاران(۲۰۱٦) میزان آلودگی خاک به ورمامبا را در جزایر قناری در اسپانیا ۲۱ درصد گزارش نمودند که در مقایسه با نتایج مطالعه‌ی اخیر، بیشتر است(۲٤). بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، بیشترین میزان آلودگی(۷۰/٦ درصد) به آمیب آزادزی در آب‌های راکد با pH:۷ و کمترین میزان آلودگی(٥/۹ درصد) در آب‌هایی با pH:٥ مشاهده گردید که با نتایج گلستانی و همکاران(۱۳۹٦) مطابقت دارد(۱۷). بر اساس مطالعات انجام شده بهترین محدوده‌ی pH جهت رشد آمیب(۹-۸) است که در آن بالاترین فرایند سرعت تبدیل تروفوزوئیت به کیست وجود دارد و کاهش تبدیل این سرعت در pH های پایین‌تر(۷-٥) نشان داده شده است(۲٥).

از محدودیت‌های مطالعه، کافی نبودن منابع مالی جهت شناسایی سایر آمیب‌های آزادزی در نمونه‌های مورد مطالعه بود. همچنین بررسی آلودگی نمونه‌های گرد و غبار و بیوفیلم به این آمیب آزادزی نیز توصیه می‌شود.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، میزان آلودگی به *ورمامبا ورمیفورمیس* در آب‌های راکد و خاک اراک تقریبا مشابه سایر مطالعات انجام شده در ایران بود ولی در مقایسه با نتایج مطالعات خارج از کشور، کمتر بود. این اولین مطالعه در زمینه‌ی بررسی آلودگی منابع محیطی به ورمامبا در اراک بود. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که آب‌های راکد و خاک این منطقه، آلوده به آمیب فرصت طلب *ورمامباورمیفورمیس* بود که یک هشدار جدی برای سلامت عمومی به ویژه در بیماران نقص ایمنی و مصرف کنندگان لنز می‌باشد. با توجه به اطلاعات اندک در زمینه‌ی آلودگی منابع محیطی به ورمامبا در ایران و جهان و بیماری زا بودن این آمیب، آموزش بهداشت و بهسازی محیط جهت کنترل و پیشگیری از ابتلای انسانی و بروز بیماری توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان به‌خاطر حمایت مالی(طرح پژوهشی ۹٦۲۱۹) قدردانی می‌گردد. کد اخلاق مقاله: IR.kaums.MEDNT.REC.۱۳۹٦,۱۱۳ و تاریخ کمیته اخلاق: ۱۳۹٦/۱۲/۱٤ می‌باشد. بدین‌وسیله از همکاری سرکار خانم زهره لاستجردی قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Hooshyar H & Rezaeian M. Amoebas. Isfahan: Mani; 2011: 27-31,208-10[Book in Persian].

2. Niyyati M & Behniafar H. Isolation, cultivation and identification of free living amoebae from enviromental and clinical sources. Tehran: Shahid Beheshtei Univercity of Medical S ciences; 2017: 11[Book in Persian].

3. Edrisiyan GH, Rezeeian M, Ghorbani M, Keshavarz H, Mohebali M. Medical protozoology. Tehran: Tehran Univercity of Medical Sciences 2015: 121,142[Book in Persian].

4. Rezaeian M & Niyyati M. Pathogenic free living Amoeba in human. Chapter 5(Acanthomeba). Tehran: Tehran University of Medical Sciences; 2009: 13[Book in Persian].

5. Scheid PL. *Vermamoeba vermiformis*-A free-living Amoeba with public health and environmental health significance. The Open Parasitology Journal 2019; 7(1): 40-7.

6. Fouque E, Yefimova M, Trouilhé MC, Quellard N, Fernandez B, Rodier MH, et al. Morphological study of the encystment and excystment of *Vermamoeba vermiformis* revealed original traits. The Journal of Eukaryotic Microbiology 2015; 62(3): 327-37.

7. Kinnear FB. Non-Acanthamoeba amoebic keratitis. The Journal of Infection 2001; 42(3): 218-9.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-01]

8. Centeno M, Rivera F, Cerval L, Tsutsumi V, Gallegos E, Calderon A, et al. Hartmanella vermiformis isolated from the cerebrospinal fluid of a young male patient with meningoencephalitis and bronchopneumonia. Archives of Medical Research 1996; 27(4): 579-86.

9. Abedkhijasteh H, Niyyati M, Rahimi F, Heidari M, Farnia S & Rezaian M. First report Hartmanella keratitis in a cosmetic soft contact lens wearer in Iran. Iranian Journal of Parasitology 2013; 8(3): 481-5.

10. Kuiper MW, Wullings BA, Akkermans AD, Beumer RR & Van der Kooij D. Intracellular proliferation of Legionella pneumophila in Hartmanella vermiformis in aquatic biofilms grown on plasticized polyvinyl chloride. Applied and Environmental Microbiology 2004; 70(11): 6826-33.

11. Asgari S & Abdoli S. Arak city a historical review and geographical view. Arak: Nevisandeh; 2018: 4,13[Book in Persian].

12. Niyyati M, Lasjerdi Z & Lorenzo-Morales J. Detection and molecular characterization of potentially pathogenic free-living Amoebae from water sources in Kish island, southern Iran. Microbiology Insights 2015; 8(1): 1-6.

13. Solgi R, Niyyati M, Haghighi A & Nazemalhosseini Mojarad E. Occurance of thermotolerant Hartmanella vermiformmis and naegleria Spp. in hot springs of Ardebil province, north-west Iran. Iranian Journal of Parasitology 2012; 7(2): 47-52.

14. Mahmoudi MR, Rahimi B, Seyedpour SH & Karanis P. Occurrence and molecular characterization of free-living Amoeba species (Acanthamoeba, Hartmannella, and Saccamoebalimax) in various surface water resources of Iran. Parasitology Research 2015; 114(10): 4669-74.

15. Garcia A, Goñi P, Cieloszyk J, Fernandez MT, Calvo-Beguería L, Rubio E, et al. Identification of free-living Amoebae and Amoeba-associated bacteria from reservoirs and water treatment plants by molecular techniques. Environmental Science & Technology 2013; 47(7): 3132-40.

16. Armand B, MotazedianMH & Asgari Q. Isolation and identification of pathogenic free-living Amoeba from surface and tap water of Shiraz city using morphological and molecular methods. Parasitology Research 2016; 115(1): 63-8.

17. Golestani MH, Rasti S, Hooshyar H, Delavari M, Mousavi GA, Iranshahi L, et al. Molecular identification and genotyping of Acanthamoeba isolated from environmental sources in Kashan, central Iran. Jundishapur Journal of Microbiology 2018; 11(4): e55582.

18. Mostafaei G, Bidgoli MS, Rasti S, Moosavi SG & Iranshahi L. Genotyping of acanthamoeba in rural drinking water sources in Kashan and Aran-Bidgol, Iran. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 2019; 28(169): 130-9[Article in Persian].

19. Javanmard E, Niyyati M, Lorenzo-Morales J, Lasjerdi Z, Behniafar H & Mirjalali H. Molecular identification of waterborne free living Amoebae (Acanthamoeba, Naegleria and Vermamoeba) isolated from municipal drinking water and environmental sources, Semnan province, north half of Iran. Experimental Parasitology 2017; 183(1): 240-4.

20. Lorenzo-Morales J, Martinez-Carretero E, Batista N, Alvarez-Marin J, Bahaya Y, Walochnik J, et al. Early diagnosis of amoebic keratitis due to a mixed infection with Acanthamoeba and Hartmanella. Parasitology Research 2007; 102(1): 167-9.

21. Rohr U, Weber S, Michel R, Selenka F & Wilhelm M. Comparison of free-living Amoebae in hot water Systems of hospitals with isolates from moist sanitary areas by identifying genera and determining temperature tolerance. Applied and Environmental Microbiology 1998; 64(5): 1822-4.

22. Meighani M, Eslamirad Z, Hajihossein R, Ahmadi A & Saki S. Isolation and genotyping of Acanthamoeba from soil samples in Markazi province, Iran. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences 2018; 6(12): 2290-4.

23. Mohaghegh MA, Azimi Resketi M, Mohammadimanesh R, Azami M, Mirzaie F, Falahati M, et al. Soil contamination with free-living Amoeba in North of Iran. International Journal of Infection 2016; 3(4): e37923.

24. Reyes-Batlle M, Wagner C, Zamora-Herrera J, Vargas-Mesa A, Sifaoui I, Gonza´lez AC, et al. Isolation and molecular identification of *Vermamoeba vermiformis* strains from soil sources in El Hierro island, Canary islands, Spain. Current Microbiology 2016; 73(1): 104-7.

25. Fouque E, Trouilhe MC, Thomas V, Humeau P & Hechard Y. Encystment of Vermamoeba (Hartmannella) vermiformis: Effects of environmental conditions and cell concentration. Experimental Parasitology 2014; 145(1): 62–8.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-01]

Survey on the Contamination Rate of Stagnant Water and Soil to *Vermamoeba vermiformis* in Arak Parks, Iran, 2017-2018

Hamideh Sadat Atyabi[1] (M.S.) - Sima Rasti[2] (Ph.D.) - Maryam Niyyati[3] (Ph.D.) - Zahra Eslamirad[4] (Ph.D.) - Mahdi Delavari[5] (Ph.D.) - Gholam Abbass Moosavi[6] (M.S.)

1 Master of Science in Parasitology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

2 Professor, Department of Medical Parasitology, Infectious Disease Research Center, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3 Associate Professor, Department of Medical Parasitology & Mycology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4 Associate Professor, Department of Medical Parasitology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

5 Associate Professor, Department of Medical Parasitology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

6 Instructor, Department of Biostatistics, School of Health, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Abstract

Received: Dec 2018

Accepted: Apr 2019

Background and Aim: *Vermamoeba vermiformis* is an opportunistic free living amoeba(FLA) that is ubiquitous in different environmental sources. This Amoeba can cause Amoebic Keratitis(AK) and Granulomatous Amoebic Encephlitis(GAE) in immunocompromised patients. This study was conducted to determine the rate of *Vermamoeba vermiformis* in stagnant water and soil in Arak.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, stagnant water(60) and soil samples(36) were collected from Arak parks. The samples were filtered in 0.45µm nitrocellulose paper and cultured on to 1.5% NNA for the presence of free living amoeba(FLA). After DNA extraction, *Vermamoeba vermiformis* was identified by Polymerase Chain Reaction(PCR) using primers NA1 and NA2. Eight isolates of *Vermamoeba vermiformis* were sequenced, blasted and after confirmation, recorded in the Gene Bank. The data were recorded in SPSS and analyzed using X^2 and Fischer Exact test.

Results: Out of 96 environmental sources, 29.2% were positive for free living amoeba. The rate of FLA pollution in stagnant water and soil were 28.3 and 30.6% respectively($P<0.001$). The contamination rate of stagnant water and soil with *Vermamoeba vermiformis* were 10% and 16.7%, respectively($P<0.001$).

Conclusion: The results of the present study revealed that stagnant water and soil resources were contaminated to FLA and *Vermamoeba*. Due to the Pathogenic ability of this Amoeba and the possibility of endosymbian pathogens in it, health education is recommended for controlling and preventing the disease, especially in susceptible patients, including those who use contact lenses.

Keywords: Free Living Amoeba, *Vermamoeba vermiformis*, Stagnant Water, Soil, Arak

*** Corresponding Author:**
Rasti S
Email:
rasti_s@yahoo.com

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-01]