مقاله اصیل پژوهشی

جداسازی و شناسایی میکروسکوپی آمیب‌های آزادزی در آب‌های سطحی شهر بیرجند، خراسان جنوبی

محمودرضا بهروان[1]، محمد ملکانه[2]، بهزاد مصباح‌زاده[3]، غلامرضا شریف‌زاده[4]، محمدحسن نمایی[5]، حامد بهنیافر[6]، زهره لاسجردی[7]

چکیده

زمینه و هدف: آمیب‌های آزادزی، به‌عنوان انگل‌های اختیاری، پاتوژن‌های فرصت‌طلب و آمیب‌های آمفی‌زوئیک توصیف شده‌اند که در محیط، به فراوانی منتشرمی شوند و در سیستم عصبی مرکزی انسان و حیوانات، ایجاد عفونت می‌کنند. هدف از انجام این مطالعه، شناسایی آمیب‌های آزادزی در آب‌های سطحی شهر بیرجند به روش کشت و بررسی میکروسکوپی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی بود.

روش تحقیق: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، تعداد 50نمونه آب، از آب‌های سطحی شهر بیرجند، از استخر پارک‌ها، میادین عمومی، آب‌نماها و ایستگاه‌های برداشت آب جمع‌آوری گردید و در آزمایشگاه، از فیلترهای کاغذی نیتروسلولز عبور داده شد. عناصر باقیمانده روی فیلترها، در محیط کشت آگار غیرمغذی کشت داده شد و پس از گذشت چند هفته، با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی، آمیب‌های رشدیافته شناسایی گردید.

یافته‌ها: از مجموع 50نمونه کشت داده‌شده بر روی محیط کشت آگار غیرمغذی، 19 (38%) نمونه آب، آلوده به آمیب جنس آکانتاموبا بود. در 2نمونه (4%) نیز آمیب آزادزی خانواده والکامفیده مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد، میزان قابل توجهی از آب‌های سطحی شهر بیرجند، به انگل آکانتاموبا آلوده می‌باشد؛ از این رو، توجه پزشکان به بیماری‌های ناشی از آن و توجه دست‌اندرکاران بهداشتی منطقه به نقش احتمالی آب‌های راکد سطحی در انتقال این عامل عفونی و نصب علایم خطر در این مکان‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: آمیب‌های آزادزی؛ آب سطحی؛ ریخت‌شناسی؛ بیرجند

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1394؛ دوره 22 (2): 161-168.

دریافت: 1393/04/11 **پذیرش: 1394/04/15**

[1] مربی، مرکز تحقیقات ژنومیک، گروه انگل‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران؛

[2] دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران؛

[3] استادیار، عضو مرکز تحقیقات آترواسکلروز و عروق کرونر، گروه فیزیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

[4] استادیار عضو مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران - - دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

[5] دانشیار، مرکز تحقیقات هپاتیت، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران؛

6دانشجوی دکتری، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران؛

7نویسنده مسؤول؛ دانشجوی دکتری، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

آدرس: تهران - بزرگراه شهید چمران- خیابان یمن - خیابان شهید اعرابی- جنب بیمارستان آیت الله طالقانی- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی- دانشکده پزشکی- گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی

تلفن: 021-23872564 پست الکترونیکی: Z.lasjerdi@sbmu.ac.ir

مقدمه

آکانتاموبا، جنسی از آمیب‌های آزادزی است که انتشار جهانی دارد و به‌طور فراگیر در آب، خاک، هوا، فاضلاب و سایر محیط‌ها پراکنده می‌باشد (1). این تک‌یاخته‌ها، زندگی دوگانه دارند و در صورت فراهم‌بودن شرایط می‌توانند زندگی انگلی پیدا کنند. آنها گونه‌های مختلفی دارند که برخی از آنها برای انسان و حیوانان بیماری‌زا هستند. گونه‌های آکانتاموبا در طی چرخه زندگی خود، به دو شکل کیست و تروفوزوئیت مشاهده می‌شوند (2، 3). با وجود انتشار بسیارگسترده گونه‌های بیماری‌زای جنس آکانتاموبا، گزارش‌های محدودی درباره بیماری ناشی از آنها وجود دارد. در واقع اکثر گزارش ها مربوط به سال‌های اخیر و پس از رایج‌شدن استفاده از لنزهای تماسی می‌باشد (4). افزایش موارد ابتلا به کراتیت ناشی از آکانتاموبا در دیگر کشورها و همچنین در ایران، مؤیّد این نکته می‌باشد. از آنجایی که یکی از زیستگاه‌های معمول آکانتاموبا و این باکتری‌ها آب است و باتوجه به اینکه آب‌های سطحی، منابع احتمالی انواع عفونت‌های انسانی هستند؛ بنابراین مطالعه این منبع محیطی از نظر آلودگی به آکانتاموبا از لحاظ بهداشت، حفظ و تأمین سلامت افراد جامعه بسیار ارزشمند است (5- 7).گونه‌های مختلف این آمیب می‌توانند بیماری‌های مختلفی را در افراد سالم یا دارای نقص سیستم ایمنی ایجاد کنند. از جمله این بیماری‌ها می‌توان به آنسفالیت گرانولوماتوز آمیبی، کراتیت آمیبی، زخم‌های پوستی و عفونت‌های دستگاه تنفس فوقانی اشاره نمود که بیشتر در افراد دارای نقص سیستم ایمنی دیده می‌شود (8- 10). کراتیت آکانتاموبایی، در افراد با سیستم ایمنی کامل هم رخ می‌دهد که اغلب پس از شناکردن در آب‌های آلوده یا استفاده از لنزهای تماسی در انسان ایجاد می‌گردد (9، 11). تروفوزوئیت‌های آکانتاموبا در طبیعت به‌عنوان مخزنی برای انواع باکتری‌های پاتوژن شناخته شده‌اند و سبب حفظ، تکثیر و انتقال این عوامل باکتریایی می‌شوند (1). بیشترین مطالعات صورت‌گرفته در این رابطه بر روی باکتری لژیونلا پنوموفیلا می‌باشد که می‌تواند در داخل گونه‌های مختلف آمیب‌های آزادزی رشد و تکثیر نموده و به این ترتیب در مقابل عوامل محیطی و غیرمحیطی ضدّ باکتریایی محفوظ بمان (8، 11). تکثیر و رشد آمیب‌های آزادزی در محیط‌های کشت، امکان مطالعه این تک‌یاخته‌ها را فراهم کرده است (12). یکی از روش‌های معمول شناسایی آکانتاموبا،کشت نمونه‌ها و بررسی میکروسکوپی بر اساس خصوصیات ساختاری کیست های آن می‌باشد (5). با توجه نقش این آمیب در گسترش میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا در منابع آبی و همچنین همزیستی برخی باکتری‌های بیماری‌زا با این آمیب‌ها، می‌توان با شناسایی منابع آلوده، اقدام مؤثّر برای حذف یا کنترل آن انجام داد و بدین‌ترتیب از بروز بیماری‌های احتمالی ناشی از آنها و یا گسترش باکتری‌های حمل‌شده توسط آنها پیشگیری کرد؛ از طرفی آمیب آزادزی خانواده والکامفیده، می‌تواند به همراه باکتری‌های پاتوژن مانند: لژیونلا، پسودوموناس و هلیکوباکتر، باعث خطراتی برای انسان شود (2، 10، 12). این مطالعه به‌منظور شناسایی آمیب‌های آزادزی در آب‌های سطحی شهر بیرجند به روش کشت و بررسی میکروسکوپی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی انجام گرفت.

روش تحقیق

نمونه‌گیری:

در این مطالعه توصیفی از نوع مقطعی که از آبان‌ماه تا دی‌ماه 1393 در شهر بیرجند صورت پذیرفت، تعداد 50نمونه از آب‌های سطحی که شامل 17نمونه آب استخر پارک‌ها، 35نمونه آب میادین عمومی، 5نمونه آب‌نما و 3نمونه ایستگاه‌های آب شیرین بود، به میزان 500میلی‌لیتر توسط بطری‌های استریل جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند منتقل گردید.

کشت:

به‌منظور کشت آمیب‌های آزادزی، از محیط کشت آگار غیرمغذی (Non Nutrient Agar, NNA) یک‌ونیم درصد استفاده شد. این محیط، با استفاده از پودر باکتو آگار (Difco) و بافر Amoeba Page Saline (PH=7/2-7/4) تهیه شد (13، 14). پس از تهیه محیط و در هنگام کشت نمونه‌ها، مقداری از سوسپانسیون باکتری اشرشیاکلی کشته‌شده به‌وسیله حرارت که در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند موجود بود، به محیط کشت اضافه گردید. برای انجام کشت نیز پس از همگن‌کردن بطری محتوی نمونه، مقدار 250 تا 500میلی‌لیتر از نمونه، از پارچه تنظیف استریل یا پارچه توری به‌منظور حذف پلانکتون‌های احتمالی عبور داده شد و در ادامه با استفاده از فیلترهای کاغذی استریل نیتروسلولزی با منافذ 0/45میکرون فیلتر شد؛ سپس فیلتر به‌وسیله پنس استریل و در کنار شعله به‌صورت وارونه روی محیط کشت قرار داده شد. اطراف پلیت با پارافیلم مسدود و سپس در دمای 25-30درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. به‌منظور تشخیص آمیب، از روز دوم هر روز به مشاهده میکروسکوپی محیط‌های کشت با بزرگنمایی 10X و 40X مبادرت شد تا نمونه مثبت از نظر آمیب بررسی شود. معمولاً پس از گذشت چهار روز، درون پلیت‌های مثبت تعداد زیادی کیست و تروفوزوئیت مشاهده می‌گردد. در ادامه از تمام پلیت‌های حاوی آمیب عکس گرفته شد. آمیب‌ها بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی کیست‌ها و تروفوزوئیت‌ها شناسایی شدند. معیار تشخیص، مشاهده اشکال کیست و تروفوزوئیت جنس آکانتاموبا و خانواده والکامفیده بود؛ به‌طوری‌که کیست آکانتاموبا دارای پاهای کاذب سوزنی و خارمانند (آکانتاپودیا) و کیست آن دوجداره، دارای اکتوکیست چروکیده یا صاف و اندوکیست ستاره‌ای، بیضی، چندگوشه و زاویه‌دار می‌باشند. مشاهده کیست‌های دوجداره گرد و صاف کوچکتر از آکانتاموبا و تروفوزوئیت‌های انفجاری هم بیانگر آمیب خانواده والکامفیده بود. بعد از گذشت یک‌ماه، در صورت عدم مشاهده آمیب، نتیجه کشت، منفی گزارش گردید (2، 12، 14- 16).

یافته‌ها

از مجموع 50نمونه کشت داده‌شده بر روی محیط کشت آگار غیرمغذی، 19 (38%) نمونه آب، آلوده به آمیب جنس آکانتاموبا بودند که بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی کیست و تروفوزوئیت تشخیص داده شدند (جدول 1). بیشترین فراوانی مربوط به آب‌های راکد میادین و آب‌نماها بود. لازم به ذکر است، در نمونه‌های گرفته‌شده از آب‌نمای پارک توحید و میدان امام خمینی (ره)، آمیب جنس آکانتاموبا مشاهده گردید که این دو مکان، از جمله مکان‌های تفریحی پربازدید و شلوغ بیرجند به‌شمار می‌روند؛ اما در 3 نمونه جمع‌آوری‌شده از ایستگاه‌های برداشت آب، آمیب جنس آکانتاموبا مشاهده نشد (شکل 1 و 2).

جدول 1-توزیع فراوانی آمیب جنس آکانتاموبا جداشده از آب‌های سطحی

محل نمونه‌گیری	تعداد کل	موارد مثبت Acanthamoeba spp	درصد
آب‌های راکد میادین	25	12	48
استخرها و حوضچه‌های پارک‌ها	17	5	29/41
آب نماها	5	2	40
ایستگاه‌های برداشت آب	3	0	0

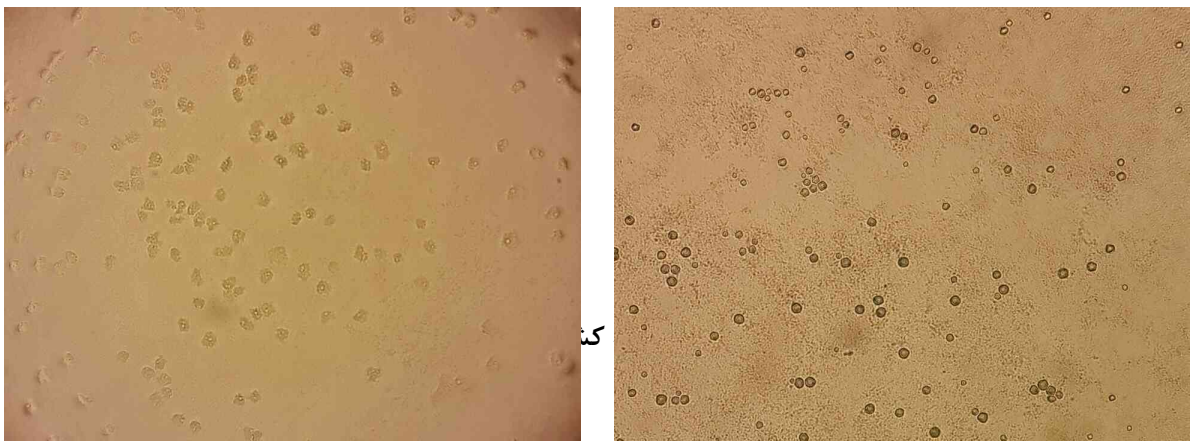
همچنین از 50 نمونه کشت داده شده، 2نمونه (4%) آمیب آزادزی خانواده والکامفیده مشاهده گردید؛ به‌طوری‌که آمیب جنس آکانتاموبا هم از آن جدا شده بود (جدول 2). در نمونه‌های کشت آب نماها و ایستگاه های برداشت آب هم آمیب خانواده والکامفیده مشاهده نشد (شکل 3).

جدول 2-توزیع فراوانی آمیب خانواده والکامفیده جداشده از آب‌های سطحی

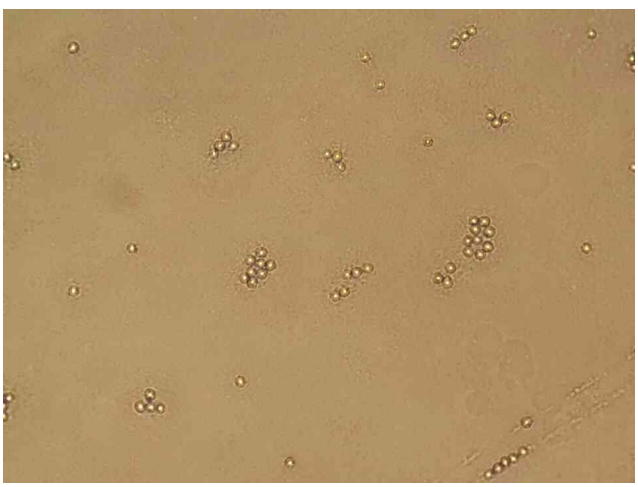
محل نمونه‌گیری	تعداد کل	موارد مثبت Vahlkampfiidae	درصد
آب‌های راکد میادین	25	1	4
استخرها و حوضچه‌های پارک‌ها	17	1	5/88
آب‌نماها	5	0	0
ایستگاه‌های برداشت آب	3	0	0



شکل 1-کیست چندضلعی جنس آکانتاموبا در محیط کشت آگار غیرمغذی غنی‌شده با اشرشیا کلی



شکل 2- تروفوزوئیت‌های جنس آکانتاموبا در محیط کشت آگار غیرمغذی غنی‌شده با اشرشیا کلی



شکل 3-کیست خانواده والکامفیده در محیط کشت آگار غیر مغذی غنی‌شده با اشرشیا کلی

بحث

در مطالعه حاضر که برای اولین‌بار به‌منظور شناسایی آمیب‌های آزادزی در آب‌های سطحی شهر بیرجند به‌روش کشت و بررسی میکروسکوپی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی انجام شد، از 50نمونه آب بررسی‌شده، 19نمونه (38%) از نظر وجود انگل جنس آکانتاموبا مثبت بودند؛ همچنین 2نمونه (4%) هم به انگل خانواده والکامفیده آلوده بودند که در مجموع حضور این آمیب‌ها در محیط می‌تواند عامل مهمی در ایجاد آلودگی‌های انسانی و بروز بیماری‌هایی همچون کراتیت آکانتاموبایی در افراد در معرض خطر باشد. نمونه‌ها از جاهایی تهیه گردید که فعالیت روزمره مردم در آن مناطق کاملاً مشهود بود. مطالعات قبلی در ایران، حضور آمیب آکانتاموبا را در آب، خاک و گرد و غبار به اثبات رساندند (17). در مطالعه‌ای که به‌منظور جداسازی آمیب‌های آزادزی در منابع آب شهر شیراز با روش کشت و بررسی میکروسکوپی انجام گرفت، 35% نمونه‌ها از نظر وجود آمیب آزادزی مثبت بود که این یافته با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (13)؛ اما با مطالعه افتخار و همکاران که شیوع آکانتاموبا در آب استخر پارک‌ها و میادین عمومی شهر تهران را 59/1% گزارش کرده بودند، مغایرت دارد (18). انتشار آکانتاموبا در مناطق مختلف و شرایط گوناگون آب و هوایی از استوا تا قطب گزارش شده است (19، 20). در مطالعه‌ای که در جامائیکا انجام گرفت، آلودگی آب لوله‌کشی، آب رودخانه‌ها و آب دریا به انگل آکانتاموبا به‌ترتیب: 36/1%، 26/4% و 49/6% گزارش شد (21). در مطالعه مشابهی که در شهر قزوین صورت پذیرفت، از 40نمونه آب‌های راکد میادین و آب‌نماهای پارک‌ها، به روش کشت 80% نمونه‌ها، از نظر وجود آمیب آزادزی مثبت تشخیص داده شد. این یافته با نتایج مطالعه حاضر مغایرت داشت که به پراکندگی متفاوت جغرافیایی آمیب‌های آزادزی بستگی دارد (22). در مطالعه شوف و همکاران، از 283 نمونه آب خانگی، 80 مورد (28/3%) آلوده به آمیب‌های آزادزی آکانتاموبا بودند که علاوه بر آکانتاموبا، والکامفیا نیز مشاهده شد (23). این یافته با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد؛ چرا که در فراوانی آمیب تشخیص داده شده و همچنین شناسایی آمیب والکامفیا مشابه است. در مطالعه نیتی و همکاران، پس از فیلتراسیون نمونه‌های آب، کاغذ فیلتر را به‌طور مستقیم بر روی محیط کشت قرار داده بودند که از این نظر با مطالعه حاضر مطابقت دارد (17). وجود این آمیب در آب‌های راکد میادین شهر بیرجند مثل: میدان طالقانی و میدان آزادی که جزء میادین ورودی شهر برای مسافرین و عابرین محسوب می‌شود و این امکان وجود دارد که با این آب برخورد داشته باشند، نقطه خطر به‌شمار می‌رود؛ از طرفی وجود این آمیب در برخی از آب‌نماهای موجود در شهر مثل آب نمای پارک توحید و میدان امام خمینی(ره) که محل‌های پر بازدید هستند، حائز اهمیت باشد. در این مطالعه، آمیب آزادزی از حوضچه‌ها و استخرهای پارک‌ها نیز جدا شد که به علت فعالیت تفریحی کودکان با این آب‌های آلوده و مواجهه آنها با آمیب، این موضوع می‌تواند تهدیدی برای سلامتی آنها باشد که نتیجه این مطالعه با نتایج محققین دیگر همخوانی دارد (24).

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه در مطالعه حاضر، درصد قابل توجهی از آب‌های سطحی شهر بیرجند به انگل آکانتاموبا آلوده بود و از آنجایی که این انگل می‌تواند آلودگی‌های انسانی ایجاد کند، توجه پزشکان به بیماری‌های ناشی از آن به‌ویژه در گروه‌های در معرض خطر بالا و توجه دست‌اندرکاران بهداشتی منطقه به نقش احتمالی آب‌های راکد سطحی در انتقال این عامل عفونی و نصب علایم خطر در این مکان‌ها ضروری به نظر می‌رسد. مطالعات مولکولی و شناسایی ژنوتایپ آکانتاموبا در

این آب‌ها نیز توصیه می‌شود که توسط نویسندگان این مطالعه در حال انجام است.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل قسمتی از طرح تحقیقاتی مصوب شماره 1018 معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند می‌باشد.

منابع:

1- Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp., Balamuthiamandrillaris, Naegleriafowleri, and Sappiniadiploidea. FEMS Immunol Med Microbiol. 2007; 50(1): 1-26.

2- Badirzadeh A, Niyyati 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.

3- Greub G, Raoult D. Biocides currently used for bronchoscope decontamination are poorly effective against free-living amoebae. Infect Control HospEpidemiol. 2003; 24(10): 784-6.

4- Marcino-Cabal F, Jamerson M, Kaneshiro ES. Free-living amoebae, Legionella and Mycobacterium in tap water supplied by a municipal drinking water utility in the USA. J Water Heal. 2010; 8(1): 71-82.

5- Rezaian M, Hooshyar H. Medical importance of free living Amoebas. J Med Council of Islamic Republic of Iran. 2011; 29(1): 69-83. [Persian].

6- Schroeder JM, Booton GC, Hay J, Niszl IA, Seal DV, Markus MB et al. Use of subgenic 18S ribosomal DNA PCR and sdequencing for genus and genotype identification of Acanthamoebae from humans with keratitis and from sewage sludge. J ClinMicrobiol. 2001; 39(5): 1903-11.

7- Niyyati M, Lasjerdi Z, Nazar M, Haghighi A and NazemalhosseiniMojarad E. Screening of recreational areas of rivers for potentially pathogenic free-living amoebae in the suburbs of Tehran, Iran. J of Water and Health. 2011; 10(1): 140.

8- Lasjerdi Z, Niyyati M, Haghighi A, Shahabi S, Tahvildar Biderouni FT, Taghipour N, et al. Potentially pathogenic free-living amoebae isolated from hospital wards with immunodeficient patients in Tehran, Iran. Parasitol Res. 2011; 109(3): 575-580.

9- Hsu BM, Ma PH, Liou TS, Chen JS, Shih FC. Identification of 18s ribosomal DNA genotype of Acanthamoeba from hot spring recreation areas in the central range, Taiwan. J Hydrol (Amst)Journal of Hydrology. 2009; 367(3-4): 249-254.

10- Bonilla-Lemus P, Ram?rez-Bautista GA, Zamora-Mu?oz C, Ibarra-Montes Mdel R, Ram?rez-Flores E, Hern?ndez-Mart?nez MD. Acanthamoeba spp. In domestic tap water in houses of contact lens wearers in the metropolitan area of Mexico City. Exp Parasitol. Experimental Parasitology. 2010; 126(1): 54-58.

11- Mosayebi M, Ghorbanzadeh B, Eslamirad Z, Ejtehadifar M , Rastad B. The Isolation and Detection of Acanthamoeba Keratitis in Rural Water Sources of Arak, Iran. Medical Laboratory Journal, Golestan University Of Medical SciencesMLJ. 2014; 7(4): 66-71. [Persian].

12- Huang SW, Hsu BM. Isolation and identification of Acanthamoeba from Taiwan spring recreation areas using culture enrichment combined with PCR. Acta TropActaTropica. 2010; 115(3): 282-87.

13- Ghadar-ghadr Sh, Solhjoo K, Norouz-nejad MJ, Rohi R, Zia-Jahromi S. Isolation and identification of free living amoeba (Naegleria and Acanthamoeba) in Shiraz water resources by morphological criteria. J Jahrom Univ Med SciPars Journal Of Medical Sciences.. 2012; 10(3): 26-3333-42.

14- Schuster FL. Cultivation of pathogenic and opportunistic free-living amebas. ClinMicrobiol Rev 2002; 15(3): 342-54.

15- Hammersmith KM. Diagnosis and management of Acanthamoeba Keratitis. CurrOpinOpthalmol 2006; 17(4): 327-31.

16- Tsvetkova N, Schild M, Panaiotov S, Kurdova-Mintcheva R, Gottstein B, Walochnik J, et.al. The identification of free-living environmental isolates of amoebae from Bulgaria. Parasitol Res 2004; 92(5): 405-13.

17- Niyati M, Lorenzo Morales J, Rezaie S, Rahimi F, Mohebali M, Maghsoud AH, et al. Genotyping of Acanthamoeba isolates from clinical and environmental specimens in Iran. Exp Parasitol. 2009; 121(3): 242-5.

18- Eftekhar M, Nazemalhosseini Mojarad A, Haghighi A, Sharifi Sarasiabi Kh, Nochi Z, Athari A. Detection of Acanthamoeba from fresh water using polymerase chain reaction. Journal of the Faculty of Medicine. 2009; 33(1): 43-46. [Persian]

19- Khan NA. Pathogenesis of Acanthamoeba infections. Microb Pathog. 2003; 34: 277-85.

20- Schuster FL, Visvesvara GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. Int J Parasitol. 2004; 34: 1001-27.

21- Lorenzo-Morales J, Lindo JF, Martinez E, Calder D, Figueruelo E, Valladares B, et al. Pathogenic Acanthamoeba strains from water sources in Jamaica, West Indies. Ann Trop Med Parasitol. 2005; 99(8): 751-58.

22- Hosseinbigi B, Saraie SahnehSaraie M, Alizadeh S.A. Rasti S, Eftekhar M, Khosro-Shahi N and Hooshyar H. Isolation and molecular identification of Acanthamoeba in surface stagnant waters of Qazvin. Qazvin Uni of Med Sci. 2012; 16(3): 2627-32.

23- Shoff ME, Rogreson A, Kessler K, et al. Prevalence of Acanthamoeba and other naked amoebae in south Florida domestic water. J water Health. 2008; 6(1): 99-104.

24- Rahdar M, Niyyati M, Salehi M, Feghhi M, Makvandi M, Pourmehdi M, Farnia S. Isolation and Genotyping of Acanthamoeba strains from Environmental Sources in Ahvaz City, Khuzestan Province, Southern Iran. Iran J Parasitol. 2012; 7(4): 22-6.

Abstract *Original Article*

Microscopic isolation and characterization of free living amoebae (FLA) from surface water sources.in Birjand, the capital city of the South Khorasan

Mahmoodreza Behravan[1], Mohammad Malekaneh[2], Behzad Mesbahzadeh[3], Golamreza Sharifzadeh[4], Sharifzadeh[4], Mohammad Hasan Namaei[5], Hamed Behniafar[6], Zohreh Lasjerdi[7]

Background and Aim: Free living amoebae (FLA) are amphizoic protozoa that are widely found in various environmental sources. They are known to cause serious infections in human and animal nervous systems. . The aim of the current study was to determine the presence of *Acanthamoeba spp* in surface water sources in Birjand city employing microscopic culture analysis based on morphology features of the amoebae.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 50 samples of surface water sources in Birjand city. including . parks pools, public squares, waterfronts, and water stations were collected and .transferred to the laboratory and were passed through nitrocellulose filter paper. The remained elements in the filters were cultured on non-nutrient agar (NNA) with 100?l Escherichia coli suspension. After a few weeks of using morphological features,the amoeba grown were identified.

Results: Out of the total of 50 samples cultured on non-nutrient agar (NNA), 19 (38%) samples.were morphologically polluted with Acanthamoeba spp,. In 2 samples (4%) a colony of Vahlkampfiidae were observed.

Conclusion: The results indicated that a significant percentage of surface water sources in Birjand city was contaminated with Acanthamoeba spp. It is necessary for physicians, therefore, to take into account the diseases caused by these infectious agents. Besides, local regional health professionals should take into consideration the potential role of surface stagnant water sources in transferring these infectious agents. Placing warning signs in areas contaminated with these infectious agents seems a useful measure.

Key Words: Free living amoebae; Surface water; Morphology; Birjand

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2015; 22 (2): 161-168.

Received: July 2, 2014 ***Accepted: July 6, 2015***

[1] *Instructor, Genomic Research Center, School of Paramedicine, Birjand University of Medical Science, Birjand, Iran;*
[2] *Associate Professor, Department of Biochemistry, Birjand University of Medical Science, Birjand, Iran;*
[3] *Assistant Professor, Atherosclerosis and Coronary Artery Research Centre and Department of Physiology, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.*
[4] *Assistant professor, member of The Research Center of Effective Social Factors on Health, faculty of Health, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran*
[5] *Associate Professor, Hepatitis Research Center, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran;*
[6] *PhD Student, Department Parasitology and Mycology, faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Tehran, Iran;*
[7] *Corresponding Author; PhD Student, Department Parasitology and Mycology, faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran Z.lasjerdi@sbmu.ac.ir*