Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Isolation and determination of *Acanthamoeba* genotypes in surface water of Ilam city

Azadeh Ghadesi[1,2], Hamid Hasanpour[1,2], Razi Naserifar[1,2], Jahangir Abdi[1,2], Mohammad Reza Mahmoudi[3], Habibollah Turki[4], Omid Raiesi [1,2,5], Muhammad Ibrahim Getso[6], Asad Mirzaei[1,2*]

[1] Dept of Parasitology and Mycology, School of Allied Medical Sciences, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[2] Zoonotic Diseases Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[3] Dept of Microbiology, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[4] Infectious and Tropical Diseases Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
[5] Student Research Committee, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[6] Dept of Medical Microbiology and Parasitology, College of Health Sciences, Bayero University Kano, PMB 3011, Kano, Nigeria

Article Info

Article type:
Policy Brief

**** Correspondence to:***
Asad Mirzaei
Zoonotic Diseases Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

Email:
mirzaei-as@medilam.ac.ir

A B S T R A C T

Acanthamoeba, a widely distributed free-living amoeba with 20 genotypes identified through rRNA gene sequencing, exhibits varying degrees of pathogenicity influenced by its genotype. This study focuses on assessing the prevalence of *Acanthamoeba* species in the surface waters of Ilam, located in western Iran, utilizing morphological analysis and sequencing of the 18S rRNA gene through the PCR method. A total of 50 water samples were collected from various regions within Ilam city, situated in the southwest of Iran. To isolate *Acanthamoeba* parasites from the samples, a culture method was used, and all utilized culture media were scrutinized through microscopic and molecular techniques. The parasite's genotype was determined by sequencing a 500-bp fragment of the 18S rRNA gene. Using microscopic and molecular methods, 19 and 16 water samples tested positive, respectively. The 18S rRNA sequences revealed that the isolates belonged to the T4, T2, and T11 genotypes. This study emphasizes the presence and inclination for close contact with highly pathogenic genotypes of *Acanthamoeba* in the surface waters of Ilam City.

Keywords: *Acanthamoeba*, genotypes, Iran, water

HIGHLIGHTS • This study showed the widespread prevalence of *Acanthamoeba* in water resources.

• Using microscopic and molecular methods, 19 and 16 water samples were found positive, respectively.

• The 18S rRNA sequences showed that the isolates belong to the T4, T2, and T11 genotypes.
• The 18S rRNA gene sequence showed the presence of T4, a highly pathogenic genotype with the highest frequency in the surface water of Ilam

How to cite this paper: Ghadesi A, Hasanpour H, Naserifar R, Abdi J, mahmoudi MR, Turki H, et al. Isolation and determination of *Acanthamoeba* genotypes in surface water of Ilam city. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2024;32(4):133-136.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

© The Author(s)

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

جداسازی و تعیین ژنوتایپ‌های آکانتاموبا در آب‌های سطحی شهـر ایـلام

آزاده قادسی [۱و۲]، حمید حسن‌پور [۱و۲]، رازی ناصری‌فر [۱و۲]، جهانگیر عبدی [۱و۲]، محمدرضا محمودی [۳]، حبیب‌اله ترکی [۴]، امید رئیسی [۱و۲و۵]، محمد ابراهیم گتسو [۶]، اسد میرزائی [۱و۲*]

[۱] گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکدهٔ پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

[۲] مرکز تحقیقات بیماری‌های مشترک، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

[۳] گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

[۴] مرکز تحقیقات بیماری‌های گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

[۵] کمیتهٔ تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

[۶] گروه میکروبیولوژی و انگل‌شناسی، دانشکدهٔ علوم بهداشتی، دانشگاه بایرو، کانو، نیجریه

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: خلاصه سیاستی

نویسنده مسئول:
اسد میرزائی
مرکـــز تحقیقـــات بیماری‌هـــای مشـترک، دانشـگاه علـوم پزشـکی ایلام، ایلام، ایران

Email:
mirzaei-as@medilam.ac.ir

چکیده

مقدمه: آکانتاموبا تک‌یاخته‌ای بیماری‌زا و فرصت‌طلب است که می‌تواند باعث عوارضی همانند ابتلا به کراتیت چشمی آمیبی، آنسفالیت گرانولوماتوز آمیبی و بیماری‌های پوستی شود. علاوه بر این می‌تواند در افرادی که نقص دستگاه ایمنی بدن دارند، سبب عفونت شدید گردد. با توجه به اینکه بیماری‌های سرکوب‌کنندهٔ دستگاه ایمنی روزبه‌روز در حال افزایش هستند، توجه به این نوع انگل ضروری است. هدف از این مطالعه بررسی وجود آکانتاموبا و تعیین ژنوتایپ آن در منابع مختلف آب شهرستان ایلام بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۵۰ نمونهٔ آب از مناطق مختلف ایلام شامل رودخانه‌ها، میدان‌ها شهری، استخرهای شنا، چشمه‌ها، آب‌های راکد شهری و پارک‌ها جمع‌آوری شد. نمونه‌ها با کمک فیلتر نیتروسلوزی (۰/۴۵ میکرون) فیلتر گردیدند و سپس فیلتر در محیط کشت آگار غیرمغذی غنی‌شده با باکتری اشرشیا کلای کشت‌شده قرار گرفت و نمونه‌های مثبت به روش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر قطعهٔ 500 bp 18s rRNA انجام شد. درنهایت، توالی نمونه‌ها بررسی و درخت فیلوژنیک ژنوتایپ‌ها ترسیم گردید.

یافته‌های پژوهش: از مجموع ۵۰ نمونهٔ آب، ۱۹ مورد (۳۸ درصد) به روش میکروسکوپی از نظر آکانتاموبا مثبت تشخیص داده شدند و به کمک روش PCR نیز ۱۶ نمونه (۳۲ درصد) مثبت و تأیید گردیدند. بررسی ژنوتایپ این نمونه‌ها نشان داد که نمونه‌ها متعلق به ژنوتایپ‌های T4 (۶۲/۵ درصد)، T2 (۱۲/۵ درصد) و T11 (۱۲/۵ درصد) بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که منابع آبی ایلام به این انگل آلوده هستند و ژنوتایپ غالب آکانتاموبا T4 است که از سویه‌های بیماری‌زا است. با توجه به عوارض خطرناک ناشی از این آمیب، آموزش بهداشت برای افزایش آگاهی دربارهٔ انتقال و نیز اقدامات بهداشتی برای پیشگیری از آلودگی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: گونهٔ آکانتاموبا، آب، شهر ایلام، ژنوتایپ، s rRNA۱۸

استناد: قادسی آزاده، حسن‌پور حمید، ناصری‌فر رازی، عبدی جهانگیر، محمودی محمدرضا، ترکی حبیب‌اله و همکاران. جداسازی و تعیین ژنوتایپ‌های آکانتاموبا در آب‌های سطحی شهـر ایـلام. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، مهر ۱۴۰۳؛ (۴)۳۲: ۱۳۶-۱۳۳.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

CC BY NC

مقدمه

آکانتاموبا یک تک‌یاختهٔ فرصت‌طلب با انتشار جهانی است که به‌طور گسترده در آب، خاک، هوا و سایر منابع محیطی یافت می‌شود. عمده‌ترین زیستگاه این آمیب در آب‌های سطحی باز و محیط‌های آبی سرشار از مواد مغذی همچون فاضلاب‌ها و دستگاه‌های تصفیهٔ فاضلاب است. آمیب‌های آزادزی در محدودهٔ گسترده‌ای از محیط‌های آبی از چشمه‌های آب گرم تا لوله‌های شبکهٔ آب‌رسانی دیده می‌شوند. این تک‌یاخته نه به‌صورت کامل، بلکه تا حدودی توسط دستگاه‌های تصفیه‌کننده از آب‌های شرب حذف می‌گردد؛ اما ازآنجاکه آب آشامیدنی بخش فراوانی از مردم از آب‌های سطحی تهیه می‌شود؛ همچنین بسیاری از فعالیت تفریحی و کشاورزی و بهداشتی در آب‌های سطحی انجام می‌گردد، احتمال بالقوهٔ آلودگی بخش فراوانی از جامعه وجود دارد. مطالعات پیشین نشان میدهند که این تک‌یاخته‌ها علاوه بر زندگی آزاد قادرند در صورت مناسب بودن شرایط، حیوانات دیگر را به‌عنوان میزبان آلوده کنند و سبب ایجاد بیماری و ضایعات پاتولوژیک در آن‌ها گردد. این آمیب‌ها همچنین می‌توانند در دستگاه اعصاب مرکزی انسان و بسیاری از حیوانات عفونت ایجاد کنند.

اهداف

۱. جداسازی و تعیین هویت ژنوتیپ‌های آکانتاموبا از آب‌های سطحی شهرستان ایلام؛
۲. تعیین فراوانی گونه‌های آمیب‌های آزادزی در نمونه‌های آب‌های سطحی بر اساس کشت؛
۳. تعیین فراوانی آمیب آب‌های سطحی بر اساس PCR؛
۴. تعیین ژنوتایپ‌های انگل بر اساس PCR؛
۵. تعیین ژنوتایپ‌های غالب در نمونه‌های آب‌های سطحی مطالعه‌شده؛
۶. ایجاد بستری برای انجام تحقیقات بیشتر و بررسی بیماری‌های ناشی از آمیب‌های آزادزی در بیماران مبتلا به کراتیت چشمی در استان ایلام؛
۷. راه‌اندازی تکنیکی معتبر برای شناسایی و تعیین گونهٔ این انگل در نمونه‌های آب.

مواد و روش‌ها

مناطق مطالعه و نمونه‌گیری: درمجموع، ۵۰ نمونه از منابع مختلف آب سطحی شامل آب‌های سطحی، چشمه‌ها و استخرها با استفاده از بطری‌های استریل ۵۰۰ میلی‌لیتری، به‌صورت تصادفی جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها متعاقباً به آزمایشگاه منتقل گردیدند. همهٔ مراحل تحقیق در گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایلام انجام شد.

فیلتراسیون نمونه‌ها: همهٔ ظروف حاوی نمونه به مدت ۳ دقیقه هم زده شدند تا از همگنی محتویات اطمینان حاصل گردد و فیلتراسیون آب با استفاده از یک فیلتر نیتروسلولز با قطر منافذ ۴۵ میکرومتر، همراه با یک پمپ خلأ صورت گرفت.

کشت آمیب، شبیه‌سازی و جداسازی؛ کشت انگل آکانتاموبا: پس از فیلتراسیون، فیلترهای نیتروسلولزی به‌صورت وارونه روی سطح یک محیط استریل غیرمغذی آگار پوشش داده‌شده قرار گرفتند. برای کاهش تبخیر محیط کشت، پلیت‌ها با پارافیلم مهروموم شدند و در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند.

پس از آن، فیلترها از محیط کشت حذف شدند تا از تکثیر ساپروفیت‌های قارچی جلوگیری گردد. بررسی میکروسکوپی برای حضور تروفوزوئیت‌های آکانتاموبا، به‌ویژه در امتداد حاشیهٔ محیط کشت، ۴ روز پس از شروع کشت انگل انجام شد. با توجه به رشد آهستهٔ گونه‌های خاصی از آکانتاموبا، محیط کشت به مدت یک ماه با ارزیابی میکروسکوپی در فواصل زمانی مختلف انکوبه گردید؛ سپس آکانتاموباها از محیط کشت جدا و رنگ‌آمیزی شدند و سپس توسط روش‌های مولکولی نمونه تست و تجزیه‌وتحلیل گردیدند. درنهایت، همهٔ نمونه‌ها تعیین توالی و توسط نرم‌افزارهای مولکولی، ژنوتایپ‌های انگل تعیین شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

به‌طورکلی در این مطالعه گزارش شد که ۳۸ درصد از نمونه‌های آب بررسی‌شده در شهرستان ایلام از نظر آمیب آزادزی مثبت بودند که از این تعداد بر اساس روش PCR و تکثیر قطعهٔ s rRNA۱۸ و تجزیه‌وتحلیل توالی‌های

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

به‌دست‌آمده به‌ترتیب متعلق به ژنوتایپ‌های T4، T2 و T11 بود که T4 ژنوتایپ غالب بود. با توجه به پاتوژن بودن نوع ژنوتایپ آکانتاموبای شناسایی‌شده در منابع آب شهرستان ایلام و امکان بروز عفونت ناشی از این آمیب و سایر گونه‌های آمیب آزادزی در افراد مستعد و در معرض خطر و همچنین در نظر گرفتن این مسئله که آمیب‌های آزادزی ازجمله آکانتاموبا می‌توانند به‌عنوان حامل عوامل میکروبی پاتوژن عمل کنند؛ بنابراین، شناسایی ژنوتایپ‌های آکانتاموبا در آب هر منطقهٔ جغرافیایی و تعیین ژنوتایپ غالب بسیار ارزشمند است؛ زیرا آگاهی‌های لازم را برای مسئولان بهداشتی فراهم می‌کند. در مناطق آلوده، به‌ویژه منابع آب آلوده که در تماس مستقیم با افراد هستند؛ نظیر استخرها و چاه‌های روباز و حوضچه‌های خصوصی و عمومی آب، با توجه به اینکه امکان آلودگی از طریق گردوخاک و طوفان‌های خاک و شن و گردباد وجود دارد، استفاده از روش‌های ضدعفونی‌کنندهٔ پیشرفته ضروری به‌نظر می‌رسد. هرچند کلرینه کردن روتین منابع آبی و استخرها باعث حذف کامل این انگل نمی‌شود؛ اما در عمل، امکان کلرینه کردن همهٔ منابع و چشمه‌های آبی مورد استفادهٔ مردم وجود ندارد و این انگل به‌عنوان یک پاتوژن خطرناک مرتباً سلامت انسان را تهدید می‌کند.

پیشنهادها

۱. . بررسی امکان وجود سویه‌های باکتری‌های پاتوژن موجود در آمیب آکانتاموبای جداسازی‌شده در نمونه‌های بالینی و محیطی؛
۲. مطالعهٔ میزان شیوع و ژنوتایپ سایر آمیب‌های آزادزی مانند نگلریا در منابع آب، خاک و غبار در شهرستان ایلام؛
۳. مطالعهٔ میزان آگاهی پزشکان ایلام دربارهٔ اهمیت بالینی و خطر آمیب‌های آزادزی به‌ویژه جنس آکانتاموبا و ارائهٔ راهکارهایی برای افزایش دانش و آگاهی کادر پزشکی و درمانی (شامل برگزاری دوره‌های بازآموزی و برگزاری کارگاه‌های یک‌روزه دربارهٔ نحوهٔ انتقال انگل، منابع و مخازن انگل، پاتوژنسیته و روش و تکنیک‌های تشخیصی نوین...)؛
۴. مقایسهٔ کارایی و سرعت و دقت تشخیص روش‌های مولکولی مختلف ازجمله روش PCR، روش RT-PCR و LAMP در شناسایی و تشخیص ایزوله‌های مختلف آکانتاموبا؛
۵. مطالعهٔ اثر انواع ضدعفونی‌کننده بر ماندگاری و بقای تروفوزیت و کیست آمیب‌های آزادزی به‌منظور ارائهٔ بهترین روش ضدعفونی مناطق آلوده به آمیب‌های آزادزی؛
۶. آگاه‌سازی برای جامعه به‌منظور اجتناب از مواجهه با انگل و راه‌های پیشگیری از ابتلا به آن.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]