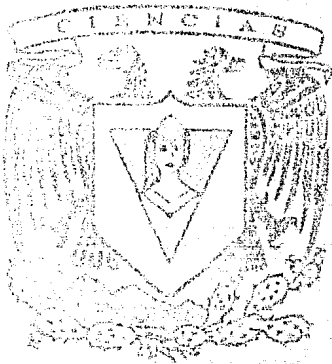


1.7w.
Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS



ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL COMPARATIVO ENTRE DISTINTAS CEPAS DE
Naegleria gruberi
(Alexeief 1926) (Protozoa Sarcodina)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A

DELFINA RAMIREZ OCHOA

México, D. F.

1970

6415

21

99



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

1. RESUMEN

2. INTRODUCCION

3. MATERIAL Y METODOS

4. RESULTADOS Y DISCUSION

5. ILUSTRACIONES

6. BIBLIOGRAFIA

ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL COMPARATIVO ENTRE
DISTINTAS CEPAS DE Naegleria gruberi
(Alexeieff 1926) (Protozoa Sarcodina)

1. Resumen:

Se realizó un estudio comparativo entre la ultraestructura de Naegleria gruberi Schardinger 1898, cepa local Z-1 y cepa extranjera CCAP 1518.

Se comparan las estructuras existentes en ambos grupos de amibas como son: pseudópodos, retículo endoplásmico, vacuolas digestivas, vacuola pulsátil, glóbulos de lípidos, mitocondrias, peroxisomas, partículas tipo virus y núcleo.

El material obtenido se procesó por métodos de rutina para Microscopio Electrónico según Sabatini (1) y Luft (2).

Se discuten los hallazgos originales en la cepa regional Z-1 y se comenta la importancia que estas variaciones estructurales puedan tener en la fisiología y taxonomía de estos organismos.

2. INTRODUCCION

Una serie de publicaciones relacionadas con las amibas de vida libre, fueron descritas después de su primera observación por Von Rosenhoff (3). Posteriormente Dujardin describe por vez primera una amiba de vida libre y le da el nombre de Amoeba limax. Este nombre fue repetido-constantemente por otros autores para designar amibas pertenecientes-inclusive a géneros distintos.

Las primeras descripciones adecuadas sobre las amibas "Limax" fueron-realizadas por Leidy (4) y Penard (5).

La identificación específica de las amibas de vida libre dentro del -Orden Amoebida, Kent (6) ha sido siempre uno de los problemas más difíciles dentro de la Zoología.

La historia de las amibas de vida libre que nos interesan en este trabajo se remonta a Schardingner (7), que describió la Amoeba gruberi. -Esta especie fue colocada dentro del grupo de los Amebo-flagelados --por Awerinzew (8) y Rafalko (9). Dentro del término amebo-flagelar se incluyen aquellas especies que poseen la capacidad de transformarse -en formas flageladas, las cuales a su vez, pueden revertir a la fase-trofozoide.

El dimorfismo de estos organismos pertenecientes o incluidos en el --grupo de amibas de vida libre determinó durante mucho tiempo la incertidumbre de su clasificación dentro del grupo de los Sarcodarios y --otros dentro del grupo de los Flagelados.

Hollander (10) consideraba que los amebo-flagelados representaban las formas más evolucionadas de los sarcomastigóforos. Por otro lado - --Chaeffer (11) los considera las formas más primitivas del grupo de --

las amibas ya que han conservado la capacidad, aún cuando transitoria-
de formar flagelos.

Los organismos del Género Vahlkampfia, Chatton y Bonnaire (12), no pa-
recen diferir mucho de las formas amibianas de los amebo-flagelados, -
excepto en que son incapaces de transformación amebo-flagelar. Por - -
otro lado a los individuos del Género Naegleria Alexeieff (14) se les
considera como descendientes de amebo-flagelados ancestrales. Chatton-
y Lalung Bonnaire describieron y definieron, con bases morfológicas ex
clusivamente, el Género Vahlkampfia como "amibas pequeñas", no mayores
de 30 micras; con un núcleo y con su nucléolo central compacto, rodea-
do de gránulos cromáticos y cuya forma de reproducción es la "Promi-
tosis", Nagler (13) señala que además son capaces de presentar la for-
mación de quistes.

Durante esta época numerosos autores describieron morfológicamente a -
las Amibas de vida libre, con bastante imprecisión. Posteriormente se
establecieron tentativas de clasificación morfológica y citoquímica --
dentro del Orden Amoebida por Kent (6), Schaeffer (11), Weynon (15), -
Volkonsky (16), entre otros.

Deben tomarse en cuenta los importantes trabajos de Singh (17) efectua-
dos sobre la taxonomía y filogenia de las amibas, en los cuales propo-
ne que no se puede formar una nueva familia teniendo en cuenta unica-
mente la forma invasora, este trabajo tuvo poco eco sobre los distin-
tos autores, pero fue reforzado y completado posteriormente por el pro-
pio Singh y Das (18), reclasificando el Orden, tomando en cuenta to-
dos los criterios taxonómicos existentes.

Por otro lado se describieron trabajos importantes sobre la capacidad de contaminación de medios de cultivo con estas amibas por Jahnes, y col. (19) y Chi, y col. (20), así como su capacidad patógena sobre el sistema nervioso central en los ratones y en los monos por Culbertson y col. (21)

Posteriormente la capacidad patógena de algunas amibas de este grupo para la especie humana, fue señalada por Fowler y Carter (22), cuando este presentó su trabajo en la "Royal Society of tropical Medicine and Hygiene en Londres, el profesor Garnham dijo: "romper una barrera es siempre excitante; sea que se trate de la barrera del sonido o de la especificidad huésped parásito, como fue por ejemplo, lograr que los parásitos del paludismo humano pudieran desarrollarse en monos de laboratorio. Carter demostró como el abismo entre los protozoarios de vida libre y los parásitos puede ser atravesado para causar una infección en el huésped humano".

La ubicuidad y multiplicidad de las amibas de vida libre, encontradas en nuestro medio en todos los hábitats, determina la importancia de su estudio profundo y preciso, en todas las áreas de la Biología.

Con el fin de precisar la situación taxonómica de las amibas estudiadas en este trabajo es conveniente referirnos a los criterios taxonómicos utilizados por el grupo de Honingberg y col (23) y por Page (24-26). De acuerdo con estos autores, las amibas de vida libre caen dentro de la clase Rhizopodea, Von Siebold, en la Subclase Lobosia, Carpenter y en el Orden Amoebida, Kent (6). En la Tabla 1 se da la posición del Orden Amoebida, Kent (6) dentro del Phylum Protozoa, Goldfuss.

A continuación enunciaremos brevemente las características generales que nos permiten establecer el nivel de la Clase y Orden de las amibas

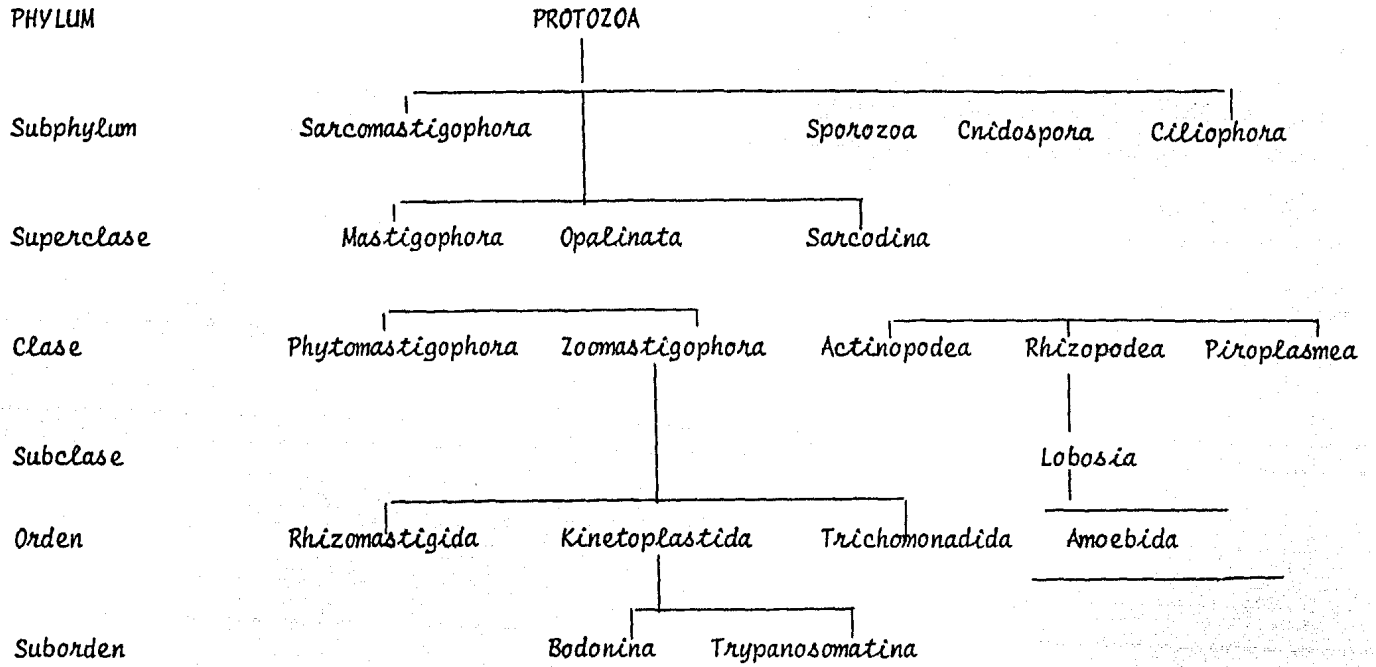


Tabla 1. Situación del Orden Amoebida dentro del Phylum Protozoa.

que se agrupan con la denominación "Limax".

Los protozoarios comprendidos en la Clase Rhizopodea, Von Siebold se caracterizan por la presencia de pseudópodos, que pueden considerarse orgánoides temporales de locomoción y que también participan en el fenómeno de la fagocitosis. Su morfología, en los distintos órdenes permite hasta cierto punto, caracterizar a los organismos que los presentan. Dentro -- del Orden Amoebida Kent (6) los bordes de los pseudópodos son por lo general precisos y redondeados. La forma de división celular más común dentro del grupo es la fisión binaria que ocurre solo durante la fase ameboide. Por otro lado, la reproducción sexual, nunca se ha demostrado en este Orden, que sin embargo es común en otros Órdenes como en el Foraminiferida, Zbonsewski, y el Actinophryda, Hartmann, los organismos de la Clase Rhizopodea, Von Siebold, son típicamente fagotróficos y se alimentan de: bacterias, algas y otros protozoarios. Son habitantes comunes de las aguas dulces, del suelo y de los mares. Un buen número de los animales del Orden Amoebida son endozoicos y de entre éstos muchos de ellos -- son parásitos. En las formas de agua dulce se encuentran vacuolas contractiles que por otro lado no se presentan en las formas marinas ni en las especies endozoicas, a menudo producen quistes que les permiten sobrevivir ante condiciones ambientales adversas y que en las formas endozoicas contribuyen a su diseminación, como ejemplos de este Orden se pueden mencionar a los géneros: Amoeba, Entamoeba, Naegleria, Hartmanella, etc.

La forma del núcleo, de la figura mitótica y del quiste son también criterios confiables y útiles en un estudio taxonómico; sin embargo el conocimiento de estos criterios es aún incompleto o falta totalmente en muchas de las especies y en consecuencia la sistematización del Orden, so

bre todo en las formas libres, es incierta y confusa. El estudio taxonómico de las amibas de la familia Vahlkampfiidae y Hartmannellidae es bastante completo, no sólo porque toma en cuenta los criterios taxonómicos anteriormente mencionados, sino también porque permite establecer equivalencias entre las distintas clasificaciones taxonómicas. En este sentido los estudios de Page (24-26) y de Singh (17) representan un esfuerzo para esclarecer la confusión previa dentro del grupo de las amibas pequeñas de vida libre.

Con fines meramente descriptivos podemos considerar a las amibas dentro de tres grupos principales, sin tomar en cuenta la clasificación taxonómica:

1. El de las amibas pequeñas del grupo "Limax", comunes en el suelo y en las aguas dulces, que se mueven mediante la emisión de un único pseudópodo anterior.
2. El de las grandes amibas de agua dulce que son especímenes utilizados con frecuencia en los laboratorios de enseñanza. Como es el caso de Amoeba proteus.
3. Constituido por las amibas endozoicas, de las cuales la mayoría son patógenas para el hombre.

Sin embargo, en el primer grupo "Limax" existen amibas que poseen la facultad de volverse endozoicas, y por lo tanto patógenas para el hombre, aunque comunmente son de vida libre. Dentro de esta clase se encuentran organismos de la familia Vahlkampfiidae, Jollos y col. (27) y Zulueta -- (28) y Hartmannellidae, Volkonsky (29), cuya capacidad patógena para el hombre ha quedado plenamente comprobada en estudios realizados por Calli cot y col. (30).

Durante muchos años se han realizado varios intentos para dar a la taxonomía de las amibas una base sólida y amplia que no descansa en un sólo-

criterio dada la extraordinaria variación presentada por los organismos que es la causa más obvia de la dificultad en la identificación de los mismos. Un cambio mínimo en las condiciones ambientales determina con frecuencia un cambio drástico en el fenotipo del individuo, como sucede en el caso de las amibas capaces de transformación amebo-flagelar. Este hecho determinó que durante muchos años los investigadores considerasen debido a esta capacidad dimórfica, como dos individuos de distintas especies.

Estudios Ultraestructurales

Este tipo de amibas han sido estudiadas desde este punto de vista por varios autores, Willaert, Scagli, Filice entre otros. Fue Vickermann -- (33) quien originalmente en 1962 señaló las diferencias estructurales existentes entre las mitocondrias de las distintas especies del tipo de amibas que las contienen. Estas diferencias morfológicas presentan importancia desde el punto de vista taxonómico ya que permiten distinguir no sólo los diferentes organismos sino también las especies de amibas.

Más recientes y mucho más completos son los estudios ultraestructurales por microscopía electrónica de transmisión y de barrido efectuados por Willaert (31), quien realizó un estudio monográfico en el que se analiza la pared celular, el citoplasma y sus organoides como por ejemplo el núcleo, las mitocondrias, las vacuolas alimenticias, las vacuolas pulsátiles, etc. El mismo autor en 1977 junto con Carosi, y col. (32), realizó un estudio comparativo entre especies de amibas de dos géneros distintos Acanthamoeba Volkonsky (29) y Naegleria Alexeieff (14). De los diferentes estudios ultraestructurales que existen en la literatura so-

bre este grupo de amibas se puede concluir que la microscopía electrónica es capaz de proporcionar información complementaria que ayude en la ubicación taxonómica de un determinado espécimen perteneciente al género Naegleria.

Es sabido que existen variaciones morfológicas ultraestructurales no sólo entre las diferentes especies sino aún entre distintas cepas.

Es por esta razón que se presenta un enfoque eminentemente ultraestructural encaminado a detectar las particularidades morfológicas de las cepas amibianas que nos permitan emitir un juicio taxonómico más objetivo y colaborar en el conocimiento de las variaciones morfológicas de este grupo de amibas de vida libre.

3. Material y Métodos

Se obtuvo una muestra de agua (de aproximadamente 3.5 litros) de un -- grifo del Campo No. 2 de la ENEP Zaragoza, UNAM, la cual se concentró por filtración a presión reducida de 5mm de Hg, con arena de Ottawa ma lla 40, (previamente lavada y esterilizada), de acuerdo al método usa do por Rivera A. y col. (34). El material recolectado se observó al mi croscopio de campo claro y contraste de fases, y únicamente se encon traron formas quísticas las cuales se cultivaron en un tubo de ensaye con infusión de trigo, a temperatura ambiente con observaciones perió dicas hasta comprobar la aparición de las formas trofozoides. El mate rial biológico se procesó por los métodos de rutina para microscopía - electrónica Sabatini (1), Luft (2): se fijó en glutaraldehído al 3% en amortiguador de fosfatos 0.1M, pH 7.4 a temperatura ambiente duran te dos horas al cabo de las cuales se concentró el material por centri fu gación a 5,000 r.p.m. por 3 minutos, se lavó para eliminar el fijador. Se postfijó en OsO₄ al 2% en amortiguador de fosfatos 0.1 M, pH 7.4 -- por dos horas, este material se lavó 4 veces cada media hora con medio de lavado que contiene sacarosa 0.25 M en amortiguador de fosfatos - - 0.1 M, pH 7.4. Las muestras se deshidrataron en alcohol etílico (del - 30% al 100% de concentración con dos cambios de 15 minutos cada uno). - Antes de realizar el cambio se concentró el material por centrifugación se infiltró en Epon 812 diluido 1:1 con óxido de propileno durante 48- horas. Se incluyó en Epon 812 completo según Luft (2) y se polimerizó a 60° por 36 horas. Se obtuvieron secciones finas en el ultramicrotomo Reichert-UmO₃ equipado con cuchilla de diamante (E.I. Dipont de NEMOURS

Willmington, Delaware. USA) las secciones fueron contrastadas con acetato de uranilo y citrato de plomo y observadas en el Microscopio Electrónico (JEOL 100B) operado a 60 KV con apertura de 80 μ .

4. RESULTADOS Y DISCUSION

La observación de secciones finas de amibas de vida libre cultivadas en el laboratorio, al Microscopio Electrónico de transmisión revela la alta complejidad de dichos organismos.

La selección de Naegleria gruberi para este estudio se realizó en base a dos factores: su relativa abundancia en las muestras obtenidas del área señalada en material y métodos y por otro lado la capacidad patógena, que presenta otra especie del mismo género, N. fowleri, indistinguible morfológicamente de N. gruberi al Microscopio de Luz; lo cual lo convierte en un indicador sanitario sobre todo en ciertas áreas metropolitanas y en ciertos niveles socioeconómicos. Por otro lado cabe señalar independientemente de los factores antes señalados la gran importancia biológica que revisten estos protozoarios que presentan serias dificultades tanto para su identificación como para su clasificación; tema que ha sido objeto de controversias, discusiones y conclusiones muchas veces erróneas como ha sido oportunamente señalado en la introducción de esta tesis.

Considerando que la microscopía electrónica tanto de transmisión como de barrido, pueden y deben aportar datos que permitan la clasificación más correcta, o cuando menos sobre bases más objetivas es por lo que se llevó al cabo el presente estudio en el que los datos aportados esperamos ayuden a cubrir los objetivos señalados.

En la Figura 1 se observa una micrografía panorámica de una sección fina de una amiba de vida libre que ha sido procesada por los métodos descritos para la microscopía electrónica de transmisión, el análisis deta

llado de esta micrografía, permite observar los elementos característicos de toda célula eucariótica aerobia, es decir la presencia de membrana plasmática, vacuolas, mitocondrias, núcleo, nucleolo, etc. dada la presencia de abundantes mitocondrias se concluye que el metabolismo de estos protozoarios es altamente dependiente de óxido-reducciones biológicas, que generan la fuente de energía ATP, en dichos organitos citoplasmáticos y que permiten a la célula (amiba) realizar sus funciones. La observación más detallada del citoplasma de dicho organismo revela la presencia de los elementos por los cuales éste incorpora los materiales nutritivos presentes en el medio, en este caso, en el que el cultivo no es axénico las amibas deben incorporar dicho material por medio del proceso llamado fagocitosis, fenómeno en que participa de manera activa y fundamental la membrana plasmática (Mp) para una vez englobados dichos elementos alimenticios (bacterias) generar las llamadas vacuolas fagocíticas o digestivas (Figura 2a) en donde dicho material es degradado a sus elementos más sencillos que luego son incorporados al citoplasma, en donde sirven de alimentadores tanto a las vías metabólicas citoplasmáticas como mitocondriales (M) generando elementos de reserva como son glucógeno (no señalado) y material lipídico acumulado como gotas de grasa (Li).

Por otro lado, la Membrana plasmática (Mp) también origina las llamadas vacuolas de pinocitosis (p) cuya función de introducción de líquidos al citoplasma ha sido ya descrita por otros autores.

La Figura 2b presenta una mayor amplificación de una vacuola digestiva (Vd) con una bacteria englobada en ella (b) además se señala la membrana de dicha estructura (MVd) que antes correspondía a la membrana plas-

tica. Es interesante señalar que estos organismos tienen una gran actividad biosintética fundamentalmente para el recambio de membrana, pues la elevada fagocitosis implica pérdida de dicho elemento que debe ser recuperado continuamente. Por otro lado, como ha sido señalado para -- Amoeba invadens (J. Servón comunicación personal), la membrana plasmática se pierde continuamente cuando éstas se desplazan en un medio sólido; además el llamado fenómeno de capping (eliminación de elementos tóxicos de la superficie de la membrana plasmática, J. Calderón comunicación personal), extensivamente estudiado por A. Martínez Palomo también representa una vía de pérdida de elementos membranales que debenser reemplazados, es de ahí que estos organismos presenten un elevado contenido de ribosomas libres (Rl) Figura 2b y un núcleo bien organizado que además presenta todas las características de una célula eucariótica. La microfotografía de las Figuras 3a y b señalan este hecho, cabe además mencionar que de manera muy común, estos núcleos presentan abundantes ribosomas adheridos a la capa externa de la membrana nuclear (doble asterisco), además de bien definidos poros nucleares (cabezas de flecha Figura 3b). Es interesante señalar la ausencia aún cuando fue buscado en numerosas secciones, en el nucleólo del llamado DNA organizador, sin que esto sea concluyente de ausencia definitiva, sí se podría hablar de una escases relativa de este elemento, que por otro lado es más o menos abundante en otros protozoarios. La gran actividad metabólica y biosintética de estos protozoarios conlleva a que existan una serie de elementos citoplasmáticos de los cuales depende esa función o bien productos finales de dicha actividad; en la Figura 4a se hace hincapié en la abundancia de retículo endoplásmico rugoso, poros-

nucleares y mitocondrias y en la Figura 4b se señalan además de esos -- elementos un cuerpo residual (CR) y ribosomas libres (RL).

Un elemento importante dentro de la actividad de estos organismos es la vacuola contráctil o pulsátil que fundamentalmente funciona como equilibrador de volúmenes. Esta vacuola, elemento altamente plástico, se genera probablemente, a través de fenómenos que implican de las membranas -- de las pequeñas vacuolas que constituyen el llamado espongioma (Figura -- 5a E).

Toda esta actividad recae siempre en un adecuado aporte o reserva energética que obviamente será generado en forma muy importante, pero no exclusiva por las mitocondrias, en algunas de estas amibas las mitocondrias, además de los elementos comunes a todas ellas: membrana externa-interna, espacio intermembranoso y matriz mitocondrial, se observó la -- presencia de cuerpos intramitocondriales (IM Figura 5b) aparentemente -- localizados en posición excéntrica, probablemente en el espacio inter-- crestal y que pueden ser observados mejor en el recuadro de la misma figura.

Finalmente quisieramos señalar que estos organismos realizan una intensa actividad tanto de fagocitosis como de locomoción; el primer proceso lo realizan por medio de la emisión de extensiones citoplasmáticas que engloban a la partícula (cabeza de flecha Figura 6) para ser incorporada dentro de un fagosoma (por ejemplo bacterias), y la locomoción la -- realiza a través de la emisión de pseudópodos que le permiten desplazar se serpenteando (Ps Figura 6), ambos procesos se ilustran en la Figura- 6 en la que además se señala la presencia de Mitocondrias perinucleares (Mpn) membrana nuclear (Mn), núcleo (N) y Membrana plasmática.

Debemos señalar que la cepa nacional estudiada no presenta una serie de partículas llamadas "tipo virus" (virus like) que son bastante comunes en otras cepas no nacionales. El significado de dichas partículas no ha sido esclarecido y por lo tanto no sabemos cual pudiera ser el efecto de su ausencia en la cepa nacional. En la Tabla 2 se dan las características morfológicas ultraestructurales de la organización de los trofozoitos de Naegleria gruberi cepa nacional 7-2 y de la cepa extranjera CCAP 1518.

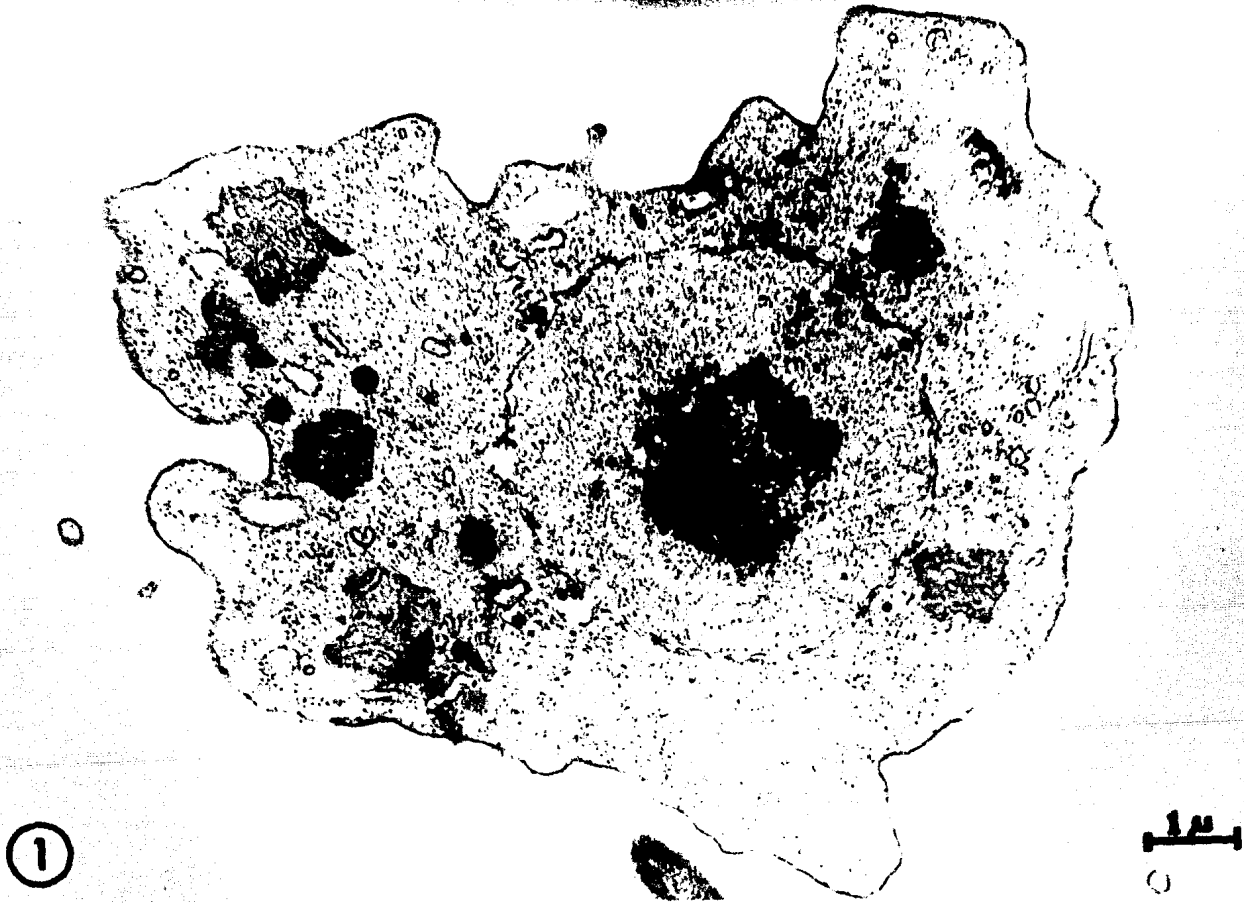


Fig. 1 Micrografía de una amiba de vida libre fijada en glutaraldehído al 3% y OsO_4 al 2%, deshidratada en alcohol e incluida en Epon 812. Puede observarse el aspecto general de la misma así como algunos elementos intracitoplasmáticos, así como el núcleo y su nucleolo, mitocondrias, vacuolas digestivas y pulsátil, espongioma, etc. 12000x; Barra = 1 μ

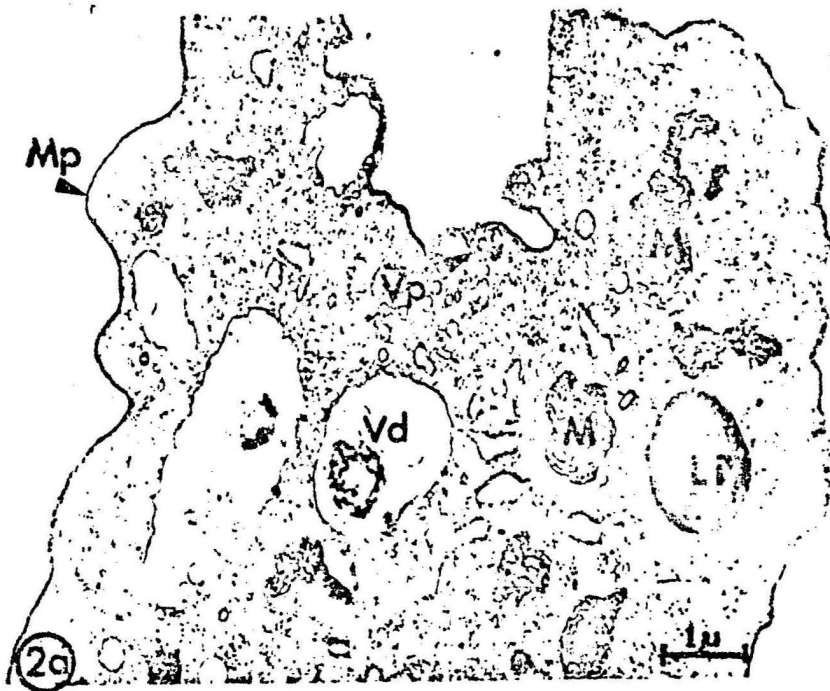
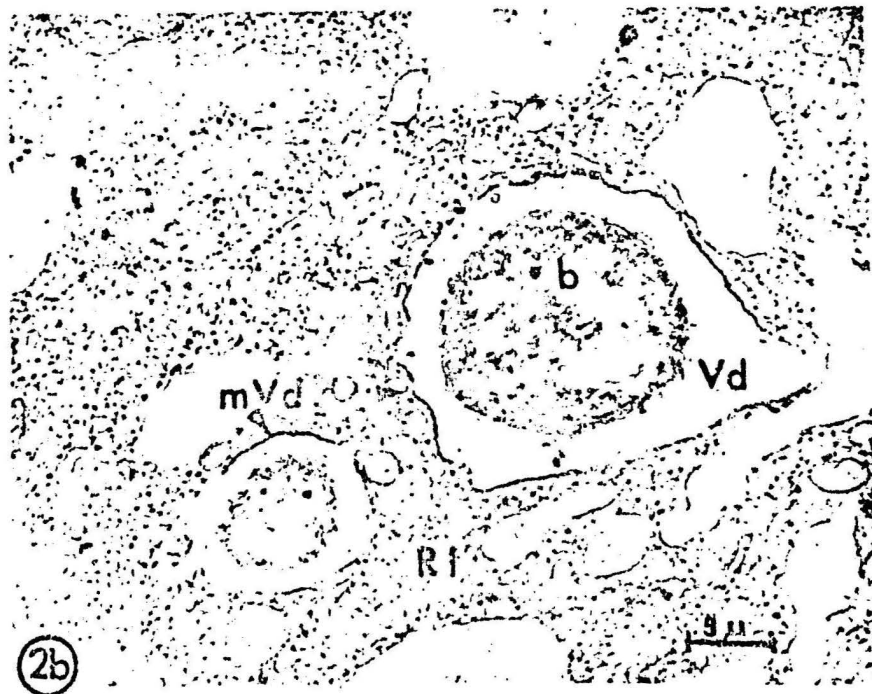


Fig. 2a Sección de una ameba de vida libre en la que se observa la membrana plasmática (MP) vacuolas de pinocitosis (VP); mitocondrias (M) en forma de clava u ovoide; vacuola de lípido (Li). 21750x; Barra= 1 μ



2b Porción de una ameba en la que se observan vacuola digestiva (vd) así como la membrana que los limita (mVd) También pueden observarse numerosos ribosomas libres (RL) 43500x; Barra=.5 μ

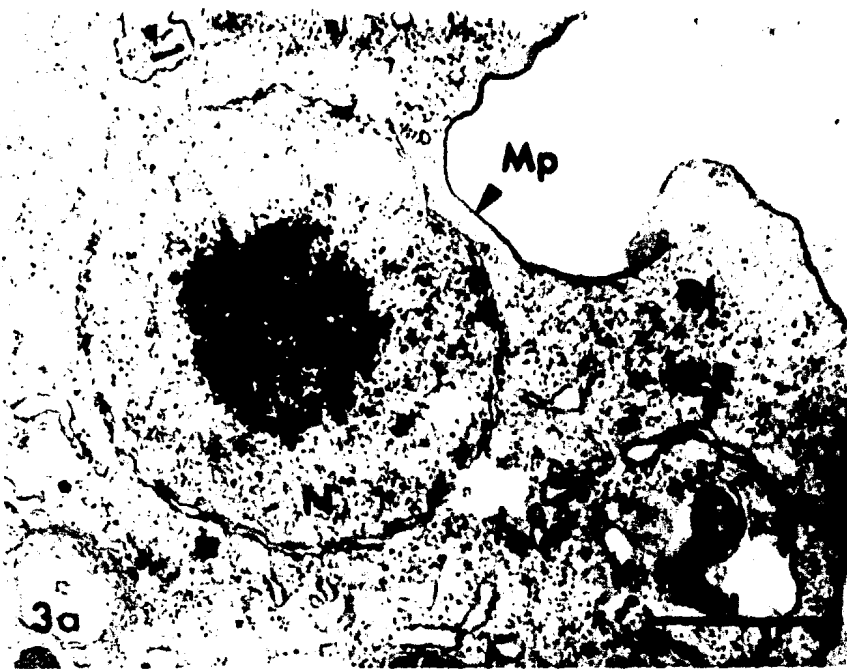
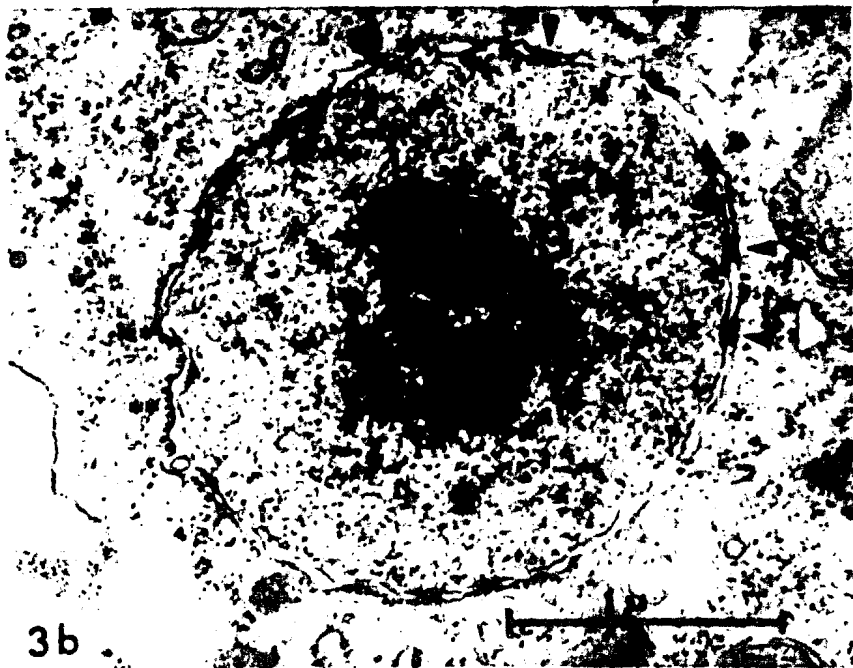


Fig. 3a Micrografía en la que se observan el núcleo (N) y el nucleolo (Ncl). También puede señalarse la presencia de retículo endoplásmico rugoso (RER), membrana plasmática (Mp) ribosomas libres (Rl) y mitocondrias en forma de clava (M). 29000x; Barra= 1 μ



3b Amplificación de un núcleo de ameba de vida libre, se puede observar claramente la doble membrana nuclear - así como la mayor densidad del nucleolo. Los poros nucleares (puntas de flecha) y ribosomas adheridos a la membrana externa (doble asterisco). 43500x; Barra= 1 μ

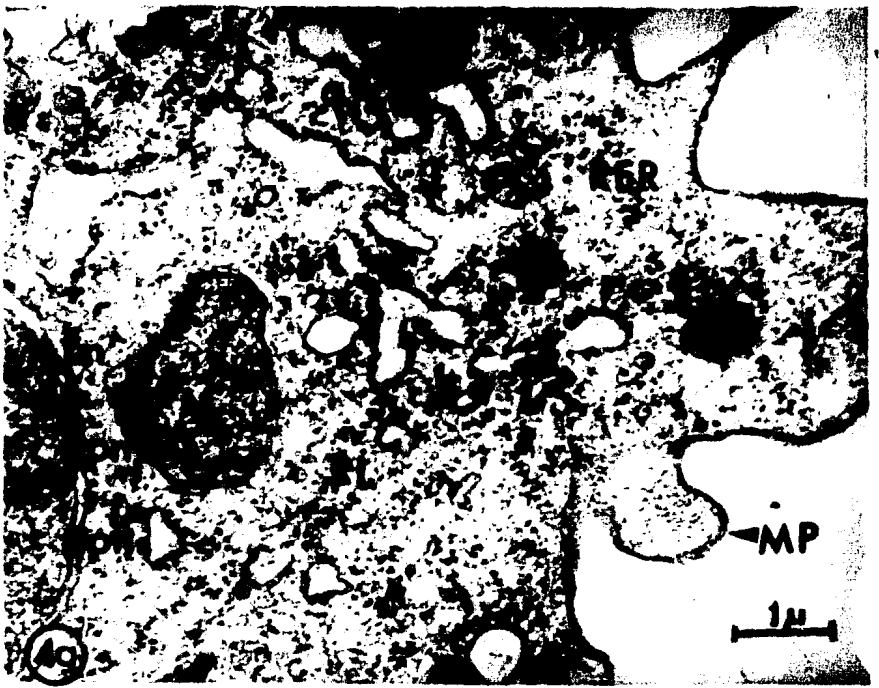
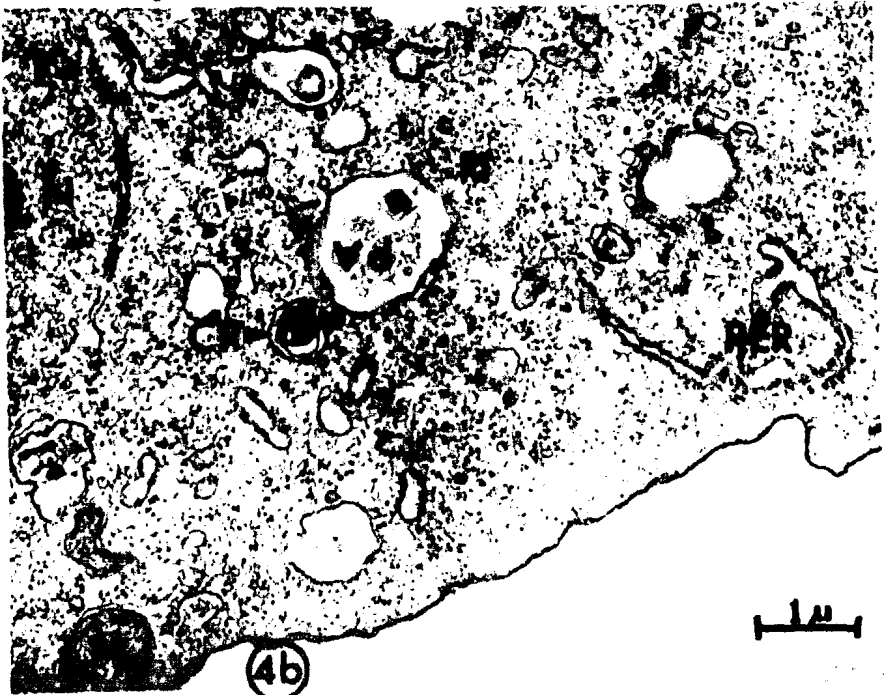


Fig. 4a Micrografía que señala la abundancia de retículo endoplásmico rugoso (cabezas de flecha) así como la presencia de lisosomas (primarios) (L), ribosomas libres (RL); núcleo (N), poros nucleares (pn). 14500x Barra = 1 μ



4b En esta figura puede observarse la presencia de un cuerpo residual así como la vacuola digestiva (Vd), ribosomas libres (RL) y retículo endoplásmico rugoso (RER). 14500x; Barra = 1 μ

5a

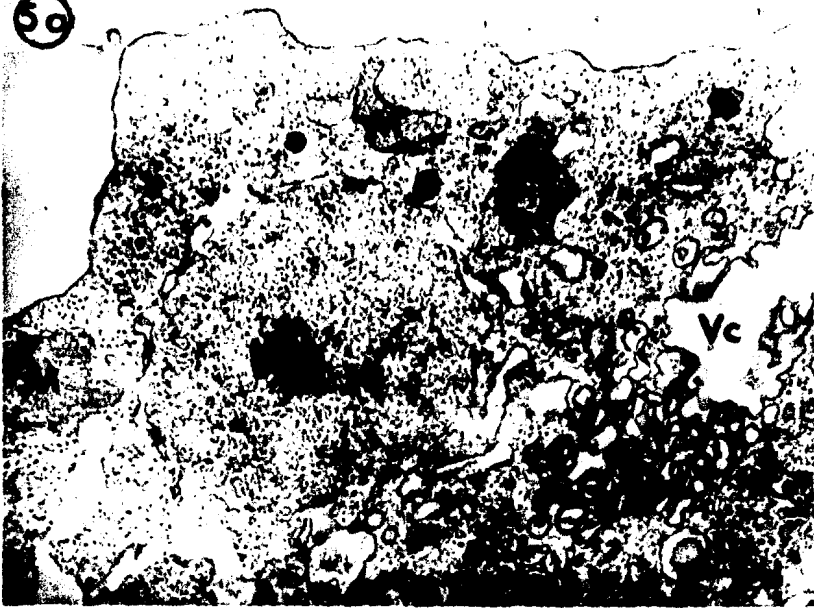


Fig. 5a Micrografía electrónica en que puede observarse además de mitocondrias, núcleo y nucléolo la presencia del Espongioma (E) adyacente a la vacuola contráctil (Vc)- 14500x; Barra = 1 μ



5b Micrografía que ilustra la presencia de el ectoplasma (Ep) entre la membrana plasmática y el endoplasma así como la presencia de cuerpos intramitochondriales (CTM) en mitocondrias de tipo esférico. 14,500x, Barra= 1 μ . En un recuadro se muestra una zona del endoplasma que contiene un par de mitocondrias con los cuerpos de inclusión. 50,000x, Barra= 0.2 μ .

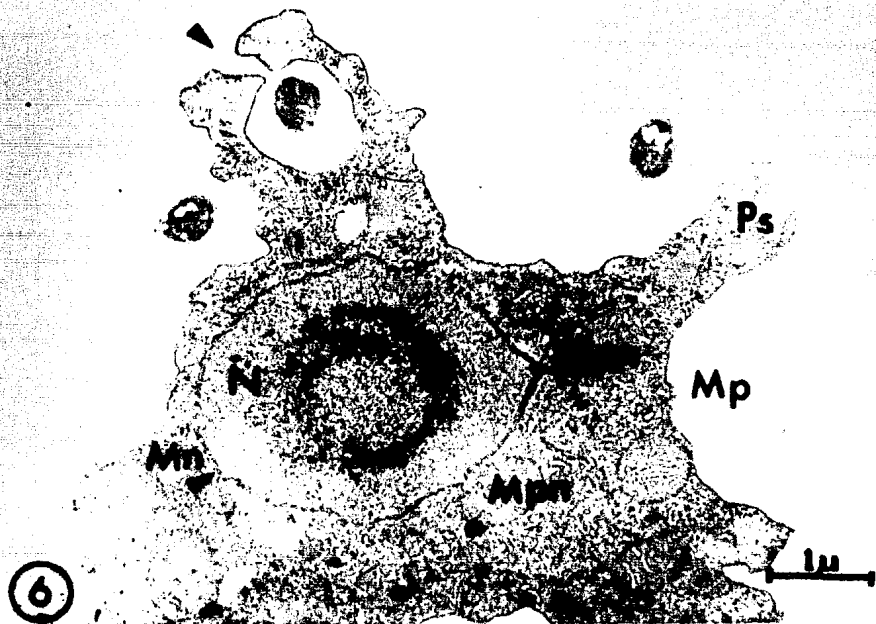


Fig. 6 Micrografía que ilustra la presencia de mitocondrias perinucleares (Mpn) descritas por Willaert en el género *Naegleria* sp. de amibas de vida libre; la presencia de pseudópodos (Ps) así como el proceso de fagocitosis señalado por una cabeza de flecha. 14000x; Barra= 1 μ

CARACTERISTICAS	<u>Naegleria gruberi</u> cepa extranjera CCAP 1518	<u>Naegleria gruberi</u> cepa nacional 2-2
PSEUDOPODO	Lobópodo hialino, de apariencia de dedo.	Lobópodo con ectoplasma hialino y endoplasma granular.
RETICULO ENDOPLASMICO	Reticulo endoplásmico en relación con el - condrioma y globulos de lípido, el Reticulo endoplásmico liso siempre está presente.	Reticulo endoplásmico rugoso con distribución heterógena en el endoplasma. No se observó el reticulo endoplásmico liso no se observó al Microscopio Electrónico.
VACUOLAS DIGESTIVAS	Presentes.	Abundantes con la membrana que las limita bien definida.
VACUOLA PULSATIL	No combinada.	Sencilla, con espongioma.
ESTADO FLAGELAR	Formación de 2 flearoplastos en la base de dos flagelos apicales durante la transformación amebo-flagelar.	No se observó al Microscopio Electrónico.
GLOBULOS DE LIPIDO	Presentes. Formación de corona perinuclear, algunas veces rodeado de reticulo endoplásmico rugoso.	Distribuidos en el endoplasma.
MITOCONDRIAS	Presentan forma de clava con cuerpos paracrystalinos en la matriz.	Con gran pleomorfismo y cuerpos intramitocondriales aparentemente localizados en el espacio intercrestal.
PARTICULAS SEMEJANTES A VIRUS	Presentes.	No se observaron.
CARIOSOMA	Redondo, de estructura comunmente fenestrada, nuclolo.	Núcleo esférico, nuclolo prominente-granular.

Tabla 2. Características morfológicas ultraestructurales de la organización de los trofozoitos de Naegleria gruberi cepa extranjera CCAP 1518 y cepa regional 2-1.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Sabatini, D.F., Bensch, K.G., and Barnett, R.J. 1963 *Cytochemistry - and Electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation.* J. Cell. Biol., 17:19.
2. Luft, J.H. 1961 *Improvements in epoxy resin embedding methods.* J. -- Biophys. Biochem. Cytol., 9: 409-414.
3. Von Rosenhorf 1755 *Monatl. Herausgegebene Insektenbelustigungen.*, -- 3:622.
4. Leidy, J. 1879 *Freshwater Rhizopodes of North America. Reprs. U.S. - Geol. survey of the territories.*, 12:1, 324.
5. Penard, E. 1890. *Les rhizopodes de faune profonds dans Lac. Lemman -- Mem. Soc. Phys. Hist. Nat. Geneve.*, 31: 142.
6. Kent, W.S. 1882. *A manual of the Infusoria. Vols. I-III. David Bogue,* London. 913 pp.
7. Chardinger, F. 1898. *Entwicklungskreis einer Amoeba lobosa (Gymnamoe ba): Amoeba gruberi (protozoa).* S.K. Akad. Wiss. Wien Abt., 108: - - 713-34.
8. Awerinzew, S. 1910. *Ueber die Stellung im System und die Klassifizierung der Protozoen* Biol. Centralb., 30:465-75.
9. Raflako, J.S. 1974. *Cytological observations on the amoeba-flagellate, Naegleria gruberi (Protozoa).* J. Morphol., 81:1-34.
10. Hollande, A. 1942. *Etude cytologique et biologique des quelques flagellés libres.* Arch. Zool. exp. Gen., 83: 1-268.
11. Chaeffer, A. 1926. *Taxonomy of the amoebas with descriptions of 39 - new marine and fresh-water species.* Carnegie Institution of Washington, Publication No. 345.

12. Chatton, E., et Lalung-Bonnaire. 1912. Amibe Limax (Vahkampfia n. gen.) dans l'intestin humain. Son importance pour l'interpretation des amibes de culture. Bull. de la Soc. de Path. Exot., 5: 135-143.
13. Nagler, K. 1909. Entwicklungsgeschichliche studien uber Amoebien. -- Arch. Protistenk., 15: 1-53.
14. Alexeieff, A. 1912. Sur le caracteres et la systematique des amibes du groupe Limax (Naegleria nov. gen. et Hartmannia nov. (gen). et -- des amibes parasites de vertebrates (Proctamoeba nov. gen). Bull. - Soc. Zool. (France)., 37: 55-74.
15. Weynon, 1926. Protozoology, 2 Volúmenes, Bailliere, London.
16. Volkonsky. M. 1931. Hartmannella castellani Douglas et classification des Hartmannelles. Arch. Zool. Exp. Gen., 72: 317-29.
17. Singh, B.M" 1952. Nuclear division in nine species of small free-living amoebae and its bearing on the classification of the order - - Amoebida. Phil. Trans. Roy. Soc. London, Sr. B., 236: 405-61.
18. Singh, B.M., y S.R. Das, 1970. Studies on pathogenic and non pathogenic small free-living amoebae and the bearing of the nuclear division on the classification of the Ordre amoebida. Phil. Trans. -- Roy. Soc. London., 250: 435-76.
19. Jahnes, W., H. Fullmer y C. Li. 1957. Free-living amoebae as contaminants in monkey kidney tissue culture. Proc. Soc. Expt. Biol. --- Med., 96: 484-8.
20. Chi L., Vogel J, et Shelokov A. 1959. Selective phagocytosis of nucleated erythrocytes by cytotoxic amoeba in cell cultures. Science., 130: 1763.
21. Culbertson, C.G., J. Smith, H. Cohen and J. Ninner. 1959. Experimen

- tal infection of mice and monkeys by Acanthamoeba. Am. J. Path., -
35: 185-87.
22. Fowler, M., R.F. Carter. 1965. Acute pyogenic meningitis probable-
due to Acanthamoeba sp. Brit. Med. J. 2: 740-2.
23. Honingberg. B.M. et al, 1964. A revised classification of Phylum-
Protozoa, J. Protozool. 11: 7-20.
24. Page, F.C., 1967. Taxonomic criteria for small amoebae, with a re-
definition of the genus Hartmannella and Acanthamoeba and descrip-
tion of eight new species. The University of Wisconsin, PH'D. - -
Zoology.
25. ----- 1967. Taxonomic criteria for limax amoeba with descrip-
tion of 3 new species of Hartmannella and 3 of Vahlkampfia J. Pro-
tozool. 14: 499-521.
26. ----- 1974. A further study of Taxonomic criteria for limax -
Amoebae. With description of new species and a key to genera. Arch.
Protistenk. 116: 149-84.
27. Jollos U. 1917. Untersuchungen zur Morphologie der Amoebenteilung.
Arch. Protistenk. 37: 229-275.
28. Zulueta A. 1917. Promitosis y sidieresis, dos modos de division -
nuclear co-existentes en amebas del grupo limax. Trabajos del Mu-
seo Nacional de Ciencias Naturales. Serie Zool. Madrid 33: 1-55.
29. Volkonsky, M. 1931. Hartmannella castellanii Douglas et classifi-
cation des Hartmannelles. Arch. Zool. Exp. Gen. 72: 317-29.
30. Callicot, J. H. et al 1968. Meningoencephalitis due to free-li-
ving pathogenic free-living amoeba. J. Amer. Med. Ass., 206: --
579.

31. Willaert, E. 1976. Etude immunotaxonomique des Generes Naegleria et Acanthamoeba (Protozoa Amoebida) *Acta Zoologica et Pathologica*. Bull. de la Soc. Roy. de Zool. D'anvers No. 65: 1-239.
32. Carosi, G. M. Scaglia, Filice G., Willaert E. 1977. A comparative Electron Microscope study of axenically cultivated trophozoites of free-living amoeba of the Genus Acanthamoeba and Naegleria - with special refrence to the species N. gruberi, N. fowleri and N. jadini. *Arch. Protistenk* Bd. 119, S. 264-273.
33. Vickerman, K. 1962. Patterns of cellular organization in "limax"-amoebae. *Explt. Cell. Res.* 26: 497-499.
34. Rivera A.F., López Ochoterena, Paz M. Ma., Ortega A. Estudio morfológico y cuantitativo de los protozoarios hallados en el agua de las llaves de registro de las zonas centro, norte, este y oeste del Distrito Federal (en prensa).