



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**DISTRIBUCIÓN TEMPORAL Y ESPACIAL DE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE
(AVL) EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE LODOS ACTIVADOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

PRESENTA:

ESTELA GUADALUPE CHONCOHUA RUÍZ



DIRECTORA DE TESIS: M EN C ELIZABETH RAMÍREZ FLORES

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MÉX. 2014



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.

Dedicatorias

A Dios por permitirme cumplir este sueño.

A mi mamá por estar a mi lado en todo momento y apoyarme en mis decisiones, a mi papá, por enseñarme a ser responsable, a no rendirme y a luchar por mis sueños. Los quiero y los amo.

A mi profesora Angelina Rodríguez por motivarme en la preparatoria a estudiar Biología y adentrarme en el mundo maravilloso de la ciencia.

A la maestra María del Socorro Sánchez Correa por haberme apoyado durante una etapa difícil en mi vida.

A mi directora de tesis la M en C Elizabeth Ramírez por la paciencia, el apoyo, las sugerencias y los consejos durante mi estancia en el laboratorio de Microbiología ambiental y la escritura de este trabajo.

A los doctores María del Rosario Sánchez Rodríguez y Alfonso Lugo Vázquez por darme la oportunidad de realizar el servicio social y por las charlas.

A mis mejores amigas Angélica López Fernández, Catherine Jardon Rojas y Berenice Lora Hernández por compartir mis tristezas y alegrías y estar con migo en todo momento.

A mis amigos(as) Mariela Delgado, a Alma Paola, a Luis Machorro, a Mel, a Luis Luna y Andy Balderas por las vivencias en las instalaciones de mi amada Iztacala, los recuerdos de las prácticas de campos que siempre estarán en mi mente y por ser mi segunda familia.

A Sandra Castañeda, Berenice Tello, Ale Juárez, Ale Montiel, Jacqueline vega, Ari Martínez, Monse Flores, Mau y Joel Viveros a quienes conocí durante el transcurso de la carrera y han se han convertido en grandes amigos.

Agradecimientos

A los sinodales de tesis

Dra. Patricia Bonilla Lemus.

Dra. María del Rosario Sánchez Rodríguez.

Q. F. B. Esperanza del Socorro Robles Valderrama.

M en M. María Dolores Hernández Martínez.

Por su tiempo para atender mis dudas, por sus comentarios y sugerencias para la elaboración del presente escrito.

Al Profesor Reynaldo Ayala por su asistencia en los muestreos durante el periodo de estudio así como sus consejos y sugerencias.

Al profesor Ricardo Ortiz por auxiliarme en el uso del microscopio de fases y atender mis dudas.

Al profesor Luis Fernando por su asistencia técnica en el laboratorio y por proporcionarme el material solicitado.

Al personal del laboratorio de Microbiología Ambiental y del Proyecto CyMA que de manera discreta colaboraron en la realización de este trabajo.

Contenido

Resumen	1
Introducción	2
Marco teórico	4-9
El sistema de tratamiento de lodos activados	4-5
Situación del tratamiento de las aguas residuales en México	5-7
Generalidades de las Amibas de Vida Libre	7-9
Antecedentes	10-11
Justificación	12
Objetivos	12
Área de estudio	13-14
Diagrama del funcionamiento de la planta de tratamiento de Lodos Activados	15
Materiales y Métodos	16-17
Resultados	18-34
Presencia de AVL	18
Riqueza específica	19
Frecuencia	20
Distribución temporal	21-26
Presencia de AVL en el periodo de estudio	27-28
Distribución Espacial	29-32
Presencia de las especies de AVL en el sistema de tratamiento	33
Parámetros físicos y químicos	34
Análisis estadístico	34
Discusión	35-38

Conclusiones	39
Referencias bibliográficas	40-43
Anexo	44

Resumen

Se evaluó la distribución temporal y espacial de las amibas de vida libre (AVL) en una planta de tratamiento de lodos activados de agua residual doméstica. Se llevaron a cabo 11 muestreos en el periodo comprendido de febrero a noviembre del 2013. Los puntos de la planta de tratamiento muestreados fueron: Entrada, Reactor biológico, Decantador, Filtros y Salida. Se midieron algunos parámetros físicos y químicos (pH, Oxígeno disuelto y temperatura) en el sitio de muestreo. Las muestras se transportaron a temperatura ambiente al laboratorio y se procesaron inmediatamente. Se utilizaron dos temperaturas de incubación 30°C y 37°C. Se encontraron 24 especies de amibas de vida libre pertenecientes a 13 géneros, la especie más frecuente fue *Vermamoeba vermiformis* (20%) seguida de *Acanthamoeba polyphaga* (14%), *Naegleria sp.* (13%), *Vahlkampfia avara* (12%) y *Vannella platypodia* (11%). La mayoría de las especies encontradas en el sistema de tratamiento se han reportado en otros sistemas, lo que puede indicar que tienen un papel importante en la eliminación de las bacterias y que contribuyen al tratamiento del agua residual. El mayor número de aislamientos de AVL se obtuvo en el reactor biológico y el menor número de aislamientos en la salida, esto indica que la eficiencia del sistema en la remoción de AVL es buena. La distribución temporal fue variable y no siguió un patrón estacional. Los parámetros físicos y químicos (pH, temperatura y oxígeno disuelto) de cada uno de los puntos de muestreo estuvieron en los intervalos reportados para la presencia de las AVL. El análisis estadístico indica que el grado de asociación entre las AVL y los parámetros fisicoquímicos no fue estadísticamente significativo. Sin embargo se observó alguna relación de las AVL con la temperatura.

Introducción

El agua es un recurso finito indispensable para la salud pública, los ecosistemas, la biodiversidad, la producción de alimentos, la industria, la energía y el desarrollo económico. Por ello se le considera un factor estratégico de seguridad nacional así como de estabilidad social y política de México (Plan Nacional Hídrico, 2014-2018).

Los problemas de calidad del agua en México están relacionados con la contaminación del líquido, la cual se debe, primordialmente, a la descarga de una gran parte del caudal de aguas residuales urbanas sin tratamiento por los municipios y las industrias a los cuerpos receptores, así como al uso de fertilizantes y plaguicidas en la agricultura, a la inadecuada recolección y disposición de los residuos sólidos y al acelerado proceso de erosión causado por prácticas inadecuadas en las actividades agropecuarias y silvícolas. La disminución en su calidad daña a los ecosistemas, la salud humana y a la disponibilidad de fuentes de agua (Plan Nacional Hídrico, 2014-2018).

La calidad del agua es un factor importante en la salud pública y de los ecosistemas que restringen la oferta del agua y su distribución potencial para los diferentes usos. En México los problemas de la calidad del agua son severos y tienen un fuerte rezago en su atención comparados con los relativos a la cantidad y a la provisión de servicios a la población (Brooks, 2004).

En México existen diferencias regionales en la disponibilidad del agua, y por otro lado el aumento de la población y de las actividades industriales ha determinado su disminución. Así debido a la geografía y al clima destacan dos grandes zonas de disponibilidad natural de agua, la primera de ellas que comprende el sur y sureste y la segunda el norte, centro, y noreste del país (Brooks, 2004).

Se entiende por aguas residuales urbanas: las aguas residuales domésticas, o la mezcla de éstas con aguas residuales industriales o con aguas de escorrentía pluvial; por su parte las aguas residuales domésticas son las procedentes de zonas de vivienda y de servicios, generadas principalmente por el metabolismo humano y las actividades domésticas (Salas et al., 2007).

Los gobiernos de algunos países, principalmente los más desarrollados se han dado a la tarea de investigar y llevar a cabo distintos tipos de tratamiento de agua para reducir los dañinos efectos que la contaminación ha ocasionado a este recurso. El objetivo de estos tratamientos es disminuir la cantidad de agentes contaminantes en las masas de agua, tomando en cuenta el tipo de contaminantes presentes en ellas y el uso que se les dará, una vez que hayan recibido el tratamiento adecuado (Muñoz, 2008).

Dentro de los sistemas de tratamiento se encuentran los de tipo biológico, donde el oxígeno es primordial debido a que la ausencia o presencia del mismo condiciona los microorganismos que se encargaran de degradar y eliminar la materia orgánica presente en el agua residual. Por lo que es este tipo de tratamiento se divide en dos tipos: a) Procesos aerobios y b) Procesos anaerobios (Varila y Díaz, 2008).

Por otra parte a los sistemas de tratamiento de tipo biológico también se les clasifica de la siguiente manera:

a) **Sistemas biológicos de biomasa adherida:** Cuando los microorganismos crecen fijos a alguna superficie, algunos de ellos son los lechos biopercoladores y los biodiscos, entre otros.

b) **Sistemas biológicos de biomasa suspendida:** Cuando los microorganismos no están fijos en una superficie, sino que pueden desplazarse en el seno del agua residual. A esta categoría corresponden los sistemas de lodos activados (Salazar, 2001).

El empleo de lodos activados ofrece una alternativa eficiente para el tratamiento de aguas residuales y resulta un método ideal para tratar aguas residuales domésticas y municipales (Varila y Díaz, 2008).

Por último el valor de los protozoos como indicadores del funcionamiento y la eficiencia de los sistemas de tratamiento biológico es conocido y se han observado, principalmente en los sistemas aerobios (Toledo, 2007). Dentro de este grupo se encuentran las amibas de vida libre (AVL, estas constituyen un grupo importante de agentes patógenos transmitidos por el agua, y que con frecuencia se pasan por alto en los estudios de los procesos de tratamiento de aguas residuales (Ramírez et al., 2005). Tal es el caso de los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba* y *Balamuthia*, capaces de causar enfermedades en humanos y otros animales (Chiquillo, 2004).

Marco teórico

El sistema de tratamiento de lodos activados.

El tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados se desarrolló por primera vez en Inglaterra en el año 1914 y actualmente es el método estándar de tratamiento de aguas residuales en los países desarrollados (Varila y Díaz, 2008).

El Lodo activado es el resultado de la eliminación de materia orgánica disuelta y los nutrientes de las aguas residuales, se caracteriza por la interacción de distintos tipos de bacterias y microorganismos que requieren oxígeno para vivir, crecer y multiplicarse, normalmente este lodo está en forma de flóculos que contienen biomasa viva y muerta además de partes minerales y orgánicas adsorbidas y almacenadas (Marín y Osés, 2013).

En la actualidad los tratamientos biológicos con lodos activados constan principalmente de un reactor biológico donde ocurre la aeración, seguida de un sedimentador donde se separan las partículas de lodo (que salen como un concentrado en el fondo del sedimentador) del agua tratada que constituye al sobrenadante (Salazar, 2001). Por lo que en una planta de lodos activados, el ambiente aerobio en el reactor se consigue mediante el uso de aireadores mecánicos que pueden estar ubicados en el lecho o en la superficie del mismo. Al cabo de un periodo determinado de tiempo, la mezcla de las nuevas células con las antiguas se conduce hasta un tanque de sedimentación para ser separados por decantación del agua residual tratada. Una parte de las células sedimentadas se recirculan para mantener en el reactor la concentración de células deseadas, mientras que la otra parte se purga del sistema (Varila y Díaz, 2008).

Desde el punto de vista microbiológico, los lodos activados representan un ecosistema artificial, donde una variedad de microorganismos presentes, participa directa o indirectamente en la estabilización de la materia orgánica (Ver tabla 1). Se puede decir, que existe una fuerte competencia entre los diferentes microorganismos por los nutrientes disponibles. De hecho, la composición de las partículas floculentas depende del resultado de dicha competencia. La calidad del agua residual (cantidad y clase de nutrientes, tóxicos, etc.), así como la tasa de crecimiento de cada microorganismo, determinan la referida composición (Salazar, 2001).

Tabla 1. Microorganismos presentes en los lodos activados (Gaudy & Gaudy, 1980) tomada de Salazar, 2001.

División	Microorganismos
Eucariotas	Hongos, Algas y Protozoos
Procariotas	Bacterias
Virus	Virus

En este sistema de tratamiento la fracción de lodos a evacuar, está compuesta principalmente de materia orgánica y solo una pequeña parte del lodo es materia sólida. Estos lodos, deben de ser estabilizados, espesados y deshidratados antes de ser retirados del sitio de tratamiento, y debe cumplir con la NOM-004-SEMARNAT-2002 (Marín y Osés 2013). Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones y los límites máximos permisibles de contaminantes en los lodos y biosólidos provenientes del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal de las plantas potabilizadoras y de las plantas de tratamiento de aguas residuales, con el fin de posibilitar su aprovechamiento o disposición final y proteger al medio ambiente y la salud humana (SEMARNAT, 2003).

Situación del tratamiento de las aguas residuales en México.

La cantidad de aguas residuales que se genera en una aglomeración urbana está en proporción directa con el consumo de agua de abastecimiento, y este consumo viene relacionado con el grado de desarrollo económico y social, puesto que un mayor desarrollo trae consigo un mayor y más diverso uso del agua en las actividades humanas (Salas et al., 2007).

En México el tratamiento de aguas residuales ha recibido poca atención por parte de los gobiernos, pues en 2006, se estimó que de un caudal de 206 m³/s de aguas residuales colectados en las redes de alcantarillados municipales del país solo el 36% (74.4 m³/s) recibió tratamiento (CONAGUA, 2010). Y Para el 2012 se trataron en promedio 99.8 m³/s, equivalente al 47.5% de los 210 m³/s de aguas residuales colectadas en los sistemas formales de alcantarillado (Plan Nacional Hídrico 2014-2018).

En 2008 el sistema de lodos activados fue uno de los Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales con un 46.19% de uso como se muestra en la figura uno (CONAGUA, 2010).

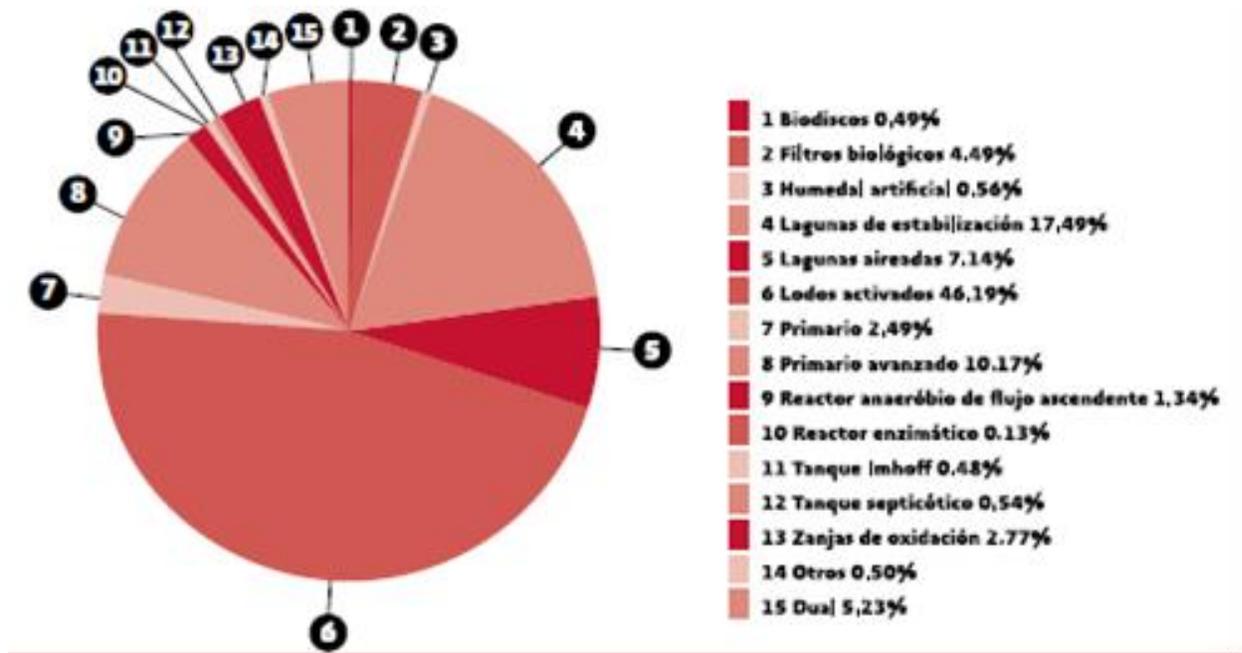


Figura 1. Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales, por caudal tratado, 2008 (CONAGUA, 2010).

FUENTE: CONAGUA. Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento.

En el año 2009 las 2,029 plantas en operación en el país trataron 88.1 m³/s, es decir el 42% de los 209.1 m³/s recolectados en los sistemas de alcantarillado (CONAGUA, 2011). En este mismo año una vez más el sistema de lodos activados fue el principal proceso de tratamiento de aguas residuales municipales, como se observa en la Figura 2.

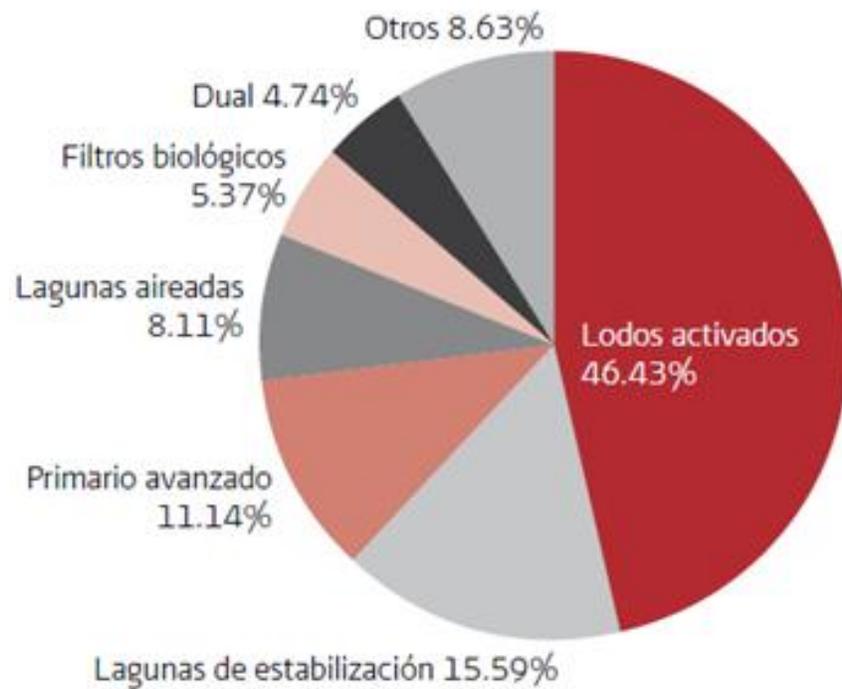


Figura 2. Principales procesos de tratamiento de aguas residuales municipales, 2009 (CONAGUA, 2011).

FUENTE: CONAGUA. Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento.

Generalidades de las Amibas de Vida Libre.

Dentro del grupo de los protozoos, encontramos a los Sarcodarios, conocidos como amibas, estos microorganismos se caracterizan por tener seudópodos, que son proyecciones del protoplasma, cuyas funciones son la locomoción y la captura de alimento. Su citoplasma está diferenciado en un ectoplasma y endoplasma, se reproducen asexualmente (fisión binaria, gemación y plasmotomía) (Sleigh, 1989; Schuster, 1990 en Chiquillo 2004). En su ciclo de vida las amibas presentan dos estadios: trofozoito, formación metabólicamente activa, en la que se reproduce y la de quiste, etapa de inactividad y resistencia para permanecer en el ambiente ante las condiciones desfavorables; aunque algunas amibas pueden desarrollar una tercer fase la “etapa flagelada” en particular la mayoría de los géneros de la familia Vahlkampfiidae (Greub y Raoult, 2004).

Los Sarcodarios pueden comprender grupos variados uno de estos son las Gimnamebas o “amibas desnudas”, se les llama así por no presentar una cubierta

o una concha. Las podemos encontrar en forma libre o como parásitos (Sleigh, 1989 en Chiquillo, 2004). En este escrito haremos referencia a las amibas de vida libre (AVL).

Durante la primera mitad del siglo XX las amibas de vida libre eran conocidas como amibas de suelo y se consideraban protozoos no patógenos con características de ubicuidad, pues se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza (Petit et al., 2006).

Las Amibas de Vida Libre (AVL) son protozoos cosmopolitas que habitan ambientes húmedos como el suelo y el agua, aunque también se pueden encontrar en el aire, vehículo que utilizan como medio de dispersión. En los ecosistemas acuáticos desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento del flujo de energía y el reciclado de los nutrimentos. Su eficiencia en el uso de los recursos los convierte en un enlace fundamental entre los organismos desintegradores y aquellos pertenecientes a niveles tróficos superiores. Además las AVL patógenas son frecuentes en cuerpos de agua con temperatura por arriba de los 25°C y aguas naturales de los trópicos y subtropicos (Bonilla et al., 2004).

Las amibas de vida libre, incluyendo a las especies patógenas, se encuentran en un amplio intervalo de hábitats, como sedimento, agua y suelo. Las condiciones básicas que necesitan las amibas para sobrevivir en cualquier ambiente son alimento, oxígeno, humedad y temperatura adecuada. Una habilidad adaptativa de algunas amibas es su capacidad de producir quistes como una respuesta a condiciones medioambientales adversas. En forma de quiste o de trofozoito puede llegar al agua por arrastre o incluso por corrientes de aire. También los cuerpos de agua que las contengan pueden pasarlas a la atmósfera mediante la formación de aerosoles producidos por el impacto del agua con superficies duras y por la formación de burbujas, y de esta manera puede invadir otros ambientes incluyendo al hombre (Gudiño, 2003).

Existen cuatro géneros de amibas de vida libre (AVL) que pueden infectar al hombre y a otros mamíferos: *Naegleria (N. fowleri)*, *Acanthamoeba spp.*, *Balamuthia (B. mandrillaris)* y *Sappinia (S. pedata)* (Martínez y Visvesvara, 1997).

El género *Naegleria (N. fowleri)*, es responsable de la enfermedad llamada meningoencefalitis amebiana primaria (MAP) (Petit et al., 2006). La puerta de entrada de *N. fowleri* es la cavidad nasal, mediante inhalación de polvo o aspiración de agua o aerosoles contaminados con trofozoítos o quistes, los cuales pasan al Sistema Nervioso Central (SNC) (Secretaría de Salud, 2012).

Las amibas de los géneros *Acanthamoeba* y *Balamuthia mandrillaris* son responsables de enfermedades como encefalitis amebiana granulomatosa (EAG)

o acantamoebosis y en el caso de *Acanthamoeba* causa una infección ocular llamada queratitis amibiana (Petit et al., 2006). *Sappinia* también causa encefalitis, pero no hay formación de granulomas (Visvesvara et al., 2007).

La encefalitis amebiana granulomatosa (EAG) o acantamoebosis ocurre principalmente en individuos debilitados, enfermos crónicos o sometidos a inmunosupresión. Algunos tienen como antecedente haberse sumergido en aguas contaminadas que permiten invasión nasal, y en otros la puerta de entrada es la piel, tracto respiratorio o córnea, donde por vía hematógica llegan al SNC (Peralta y Ayala, 2009).

Antecedentes

Rivera y colaboradores (1986) llevaron a cabo un estudio de marzo a diciembre de 1981 en aguas residuales de una laguna de estabilización localizado en Santo Tomás Atzingo, México. Las amibas se aislaron, se identificaron y se contaron. También se midieron parámetros físico-químicos. De las trece especies de amibas identificadas; una especie ha sido definida como patógena: (*Entamoeba histolytica*). Tres especies muestran cepas patógenas para el ser humano: *Acanthamoeba polyphaga*, *A. castellanii*, *Naegleria sp.* Dos especies oportunistas: *Entamoeba coli* e *Iodamoeba bütschlii*. Y siete fueron amibas de vida libre: *Acanthamoeba astronyxis*, *Amoeba proteus*, *Hartmannella exundans*, *H. vermiformis*, *Pelomyxa palustris*, *Vahlkampfia avara* y *V. russelli*. Se encontró una correlación entre el número de amibas y la temperatura así como la alcalinidad.

Se realizó un estudio en aguas residuales contaminadas en Harinavi, en el distrito de Parganas, al oeste de la India. En las muestras tomadas se encontraron 5 especies de amibas de vida libre pertenecientes a 3 géneros: *Greffia*, *Acanthamoeba* y *Echinamoeba*. Las especies fueron *G. soli*, *A. rhyodes*, *A. palestinensis*, *A. astronyxis* y *E. exundans* (Basu et al., 1987).

Rivera y colaboradores (1993) hicieron un estudio de amibas de vida libre en un sistema de tratamiento del agua residual del tipo del Método de la Zona de la Raíz (MZR), ubicado en Audlem Cheshire, Reino Unido, durante el otoño de 1989 y el invierno de 1990. Se identificaron trece especies del género *Acanthamoeba*, de las cuales tres especies: *A. polyphaga*, *A. rhyodes* y *A. astronyxis* resultaron patógenas al realizar las pruebas de patogenicidad en ratón.

Ramírez y colaboradores (1993) determinaron la presencia de amibas patógenas y de vida libre en una planta de tratamiento de lodos activados de la ciudad de Londres, entre ellas se encontraron algunas especies del género *Acanthamoeba* (*A. castellanii*, *A. culbertsoni* y *A. polyphaga*); representando un riesgo para los sitios de descarga del sistema.

En un invernadero del Jardín Botánico de la UNAM en la Ciudad de México, en 1993 (Junio-octubre) Rivera y colaboradores hicieron un estudio piloto en el cual se utilizaron humedales artificiales de *Phragmites sp.* sembrados en diferentes sustratos con el objetivo de ver el grado de remoción de microorganismos patógenos en las aguas residuales. Se aislaron 22 géneros de AVL del afluente y efluente estas fueron: *Vahlkampfia*, *Naegleria*, *Rosculus*, *Platyamoeba*, *Hartmannella*, *Guttulinopsis*, *Acrasis*, *Cochliopodium*, *Glaeseria*, *Cashia*, *Vexillifera*, *Pocheina*, *Flamella*, *Paratetramitus*, *Filamoeba*, *Saccamoeba*, *Dermamoeba* (Rivera et al., 1995).

Gudiño (2003) realizó un estudio en un sistema de tratamiento del agua residual del tipo del Método de la Zona de la Raíz (MZR), en el poblado de Matilde, Hidalgo. Para su estudio el sistema se dividió en 3 zonas de muestreo: la entrada, el centro y la salida. Se identificaron un total de 34 especies pertenecientes a 14 géneros, ubicados dentro de 8 familias, *Acanthamoeba* fue el género que se presentó con mayor frecuencia en las 3 zonas de estudio. El sistema tuvo una buena eficiencia en la eliminación de las AVL (66%) y en especial del género *Acanthamoeba* (73%), lo que es importante, debido a que este género tiene especies que pueden causar enfermedades en el ser humano. También se encontró que la temperatura, el pH y la conductividad presentaron relación directa con la abundancia de las AVL.

Chiquillo (2004), durante el periodo anual de enero-diciembre del 2002, llevo a cabo muestreos mensuales en un sistema de tratamiento localizado en el poblado de Matilde Hidalgo para detectar la presencia y determinar la abundancia de amibas en agua residual doméstica en un tanque de sedimentación. Se obtuvieron un total 183 aislamientos de los cuales se identificaron 18 especies distribuidas en 5 familias y 6 géneros, siendo *Acanthamoeba* el género más frecuente con un 52%. Las especies que tuvieron mayor incidencia fueron: *Dactylamoeba stella*, *Acanthamoeba astronyxis*, *Acanthamoeba tubiashi*, *Acanthamoeba triangularis* y *Vahlkampfia avara*. También se midieron parámetros físicos y químicos (pH, temperatura, Oxígeno disuelto y conductividad). Se concluye que el pH tuvo una correlación significativa con la abundancia de los microorganismos.

Ramírez y colaboradores (2005) estudiaron una planta de tratamiento en el poblado de Matilde Hidalgo. Se aislaron treinta y dos especies de amibas de vida libre. *Acanthamoeba* fue el género más frecuente (59%) y se separó de las aguas residuales con una eficiencia del 80%. De acuerdo a los resultados se concluye que el tiempo de retención hidráulica fue probablemente insuficiente para un tratamiento óptimo del líquido.

Toledo (2007) realizó un estudio de amibas de vida libre y de Protozoos ciliados en el agua residual del sistema de lodos activados en Ciudad Universitaria. Se encontraron 59 especies de protozoos de las cuales 31 fueron amibas y 28 ciliados. La especie más frecuente de amibas fue *Vannella platypodia*. Se aislaron en porcentajes bajos *A. castellanii* y *A. polyphaga*, que se han reportado como patógenas.

Justificación

La importancia de realizar este tipo de investigaciones radica en que las amibas de vida libre juegan un papel en el sistema de tratamiento de lodos activados ya que se encuentran entre los grupos de microorganismos que participan en la estabilización de la materia orgánica, presente en el agua residual doméstica, estos requieren de oxígeno para vivir, crecer y multiplicarse, además existe una fuerte competencia, entre los diferentes microorganismos, debido a los nutrientes disponibles de hecho, la composición de las partículas floculantes obtenidas a lo largo del tratamiento son el resultado de dicha competencia. Además son escasos los trabajos realizados en este tipo de sistema (entre ellos el de Londres de Ramírez y colaboradores en 1993 y el de Toledo en 2007 para México, en Ciudad Universitaria), por lo tanto es poco lo que se conoce acerca del papel de las AVL en dicho sistema de tratamiento, así como su relación con las condiciones físicas y químicas del agua que está siendo tratada; de manera paralela una razón más para la realización del presente trabajo es que el agua tratada obtenida de la planta de tratamiento, es utilizada en el riego de áreas verdes de una unidad habitacional. Por su parte algunas especies de AVL han sido reportadas como patógenas para el ser humano y otros animales, estas pueden hallarse en forma de aerosoles, por lo que al emplear el agua tratada con ese fin se puede convertir en un riesgo sanitario para las personas que viven en dicho lugar, el realizar estudios como este, permiten conocer la calidad del agua y con ello estar seguros de poder darle un uso específico a al agua tratada.

Objetivo General

Determinar la distribución temporal y espacial de las amibas de vida libre (AVL) en una planta de tratamiento de lodos activados de la unidad habitacional Real Ocho en Tlalnepantla de Baz.

Objetivos particulares

Determinar la riqueza específica de las AVL presentes en la planta de tratamiento de aguas residuales.

Relacionar los parámetros físicos y químicos: Temperatura (T), Oxígeno disuelto (OD) y Potencial de hidrogeno (pH) con la presencia de las AVL en el sistema de tratamiento por medio de un análisis estadístico de correlación de Pearson.

Área de estudio

La planta de tratamiento donde se realizó el estudio, trata el agua residual doméstica proveniente de la Unidad Habitacional Real Ocho localizada en el municipio de Tlalnepantla de Baz, Estado de México (Figura 3). Para su construcción los colonos de la unidad contrataron a una persona especializada en construcción y operación de plantas de tratamiento, actualmente pertenece al sector particular y es operada por el Biólogo Reynaldo Ayala.



Figura 3. Ubicación de la unidad Habitacional Real 8.

La planta de tratamiento está integrada por la entrada (E), el reactor biológico (RB), el decantador (D), los filtros (F) y la salida (S). Opera por lotes de agua residual doméstica de $25 \text{ m}^3/24 \text{ hrs}$ y el líquido es utilizado en el riego de áreas verdes de la unidad habitacional.

El proceso de tratamiento en la planta es el siguiente: El agua residual doméstica llega a la entrada del sistema la cual es un depósito de cemento (cuyas medidas son ancho 2.20 m, largo 2.30 m y una profundidad de 1.90 m), este se encuentra tapado con criba de metal, la cual sirve, para separar materiales sólidos (como papel) del líquido. Después pasa al reactor biológico (ancho 2.20 m, largo 3.5 m y una profundidad de 2.70 m) donde ocurre la degradación de la materia orgánica por la biota presente, aquí el oxígeno es proporcionado por un soplador centrífugo con membranas de burbuja fina, la aireación tiene una duración de 18 hrs la cual ayuda a mantener una mezcla homogénea; posteriormente la aeración es suspendida por 2 hrs para poner a sedimentar el agua tratada, el líquido es extraído con bombas sumergibles y se almacena en un vaso regulador que la lleva a los filtros de arena y carbón para finalmente pasar a la salida, una cisterna de

cemento con un ancho de 2.20 m, un largo de 5.70 m y una profundidad de 2.20 m. Después se vuelve a llenar el reactor biológico para comenzar el tratamiento nuevamente.

El lodo, producto de la degradación de la materia orgánica es depositado en un tanque digestor donde se pone a sedimentar, posteriormente se le da un proceso de aireación para reducir su volumen y es llevado a confinamiento por un equipo Vactor (Esto solo se hace cuando el volumen de lodo es grande) (Ver diagrama del funcionamiento de la planta de tratamiento de lodos activados).

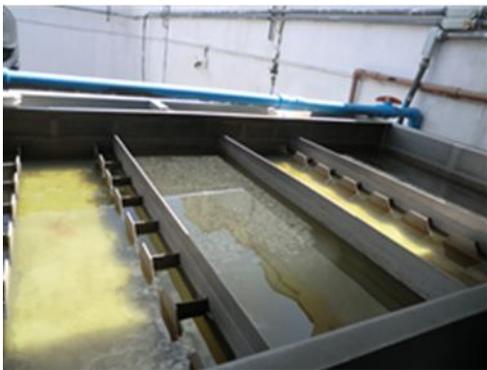
Diagrama del funcionamiento de la planta de tratamiento de Lodos Activados



↓
ENTRADA



↓
REACTOR BIOLÓGICO



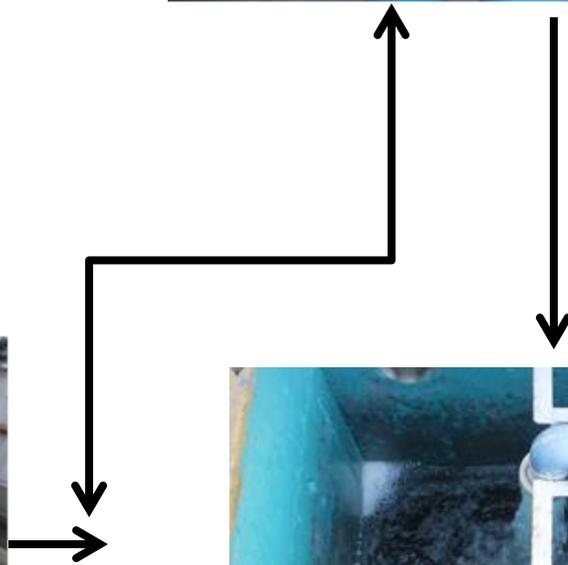
VASO REGULADOR



FILTROS



CISTERNA



Materiales y Métodos

Se realizaron 11 muestreos mensuales en el periodo de Febrero a Noviembre del 2013. En cada muestreo el trabajo se dividió en actividades de campo y de laboratorio.

Las actividades de campo incluyeron:

Toma de muestra: Se tomaron muestras de 250 ml de los siguientes puntos de la planta: Entrada, Reactor biológico, Decantador, Filtros y Salida, las cuales fueron puestas en envases esterilizados previamente, que se abrieron hasta el momento de tomar la muestra. Las muestras se transportaron a temperatura ambiente al laboratorio.

Medición de parámetros físicos y químicos: pH con potenciómetro HANNA Instruments HI 8314, oxígeno disuelto y temperatura con el Oxímetro YSI. Mod. 51-b.

Las actividades de laboratorio fueron:

Concentración de la muestra: Las muestras se agitaron perfectamente y se tomaron alícuotas de 50 ml, la cuales se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 min, se descartó una parte del sobrenadante y el sedimento de cada muestra, se resuspendió en 0.5 ml de sobrenadante.

Cultivo: El sedimento se vació en 10 cajas petri con medio de cultivo Agar no Nutritivo (NNE) y se dejó evaporar el exceso de agua. Las placas se guardaron en bolsas de plástico para mantener un ambiente húmedo y se incubaron a 30°C y 37°C. Las cajas se revisaron con un microscopio invertido Nikon a los 7 días de incubación para detectar el crecimiento de las amibas.

El medio que se utilizó es un medio de cultivo específico para el crecimiento y aislamiento de este tipo de amibas. Está compuesto de una solución salina, a la cual se le agrega agar para solidificarlo, después se le coloca una suspensión bacteriana de *Enterobacter aerogenes*; este medio es el que se conoce como Agar no Nutritivo (NNE). El agar solamente le servirá a la amiba de sustrato, alimentándose de la bacteria que se encuentra en la superficie del medio de cultivo (Page, 1988).

Determinación taxonómica

Para la identificación de las amibas, se colocaron unas gotas de agua destilada estéril en una zona con crecimiento amibiano, se barrió la superficie del agar con un asa de siembra para desprender las amibas del agar, y con una pipeta Pasteur

estéril se colectaron unas gotas de la suspensión amibiana y se colocaron en un portaobjetos, el cual se observó con un microscopio de contraste de fases Nikon para observar las características morfológicas del trofozoito y quiste de la amiba y con la ayuda de las claves de Page (1988) se realizó la identificación de las amibas.

Análisis estadístico: Correlación de Pearson

El coeficiente de correlación proporciona una medida de la asociación lineal entre las variables, los valores de la correlación están entre -1 y +1. Si las variables están perfectamente asociadas, entonces el coeficiente de correlación será de 1 o -1, si por el contrario, las variables no están asociadas, entonces el coeficiente tendrá un valor cercano a cero, se considera que la asociación es estadísticamente significativa cuando es mayor a ± 0.8 (Durán y Vargas, 2005).

La siguiente tabla se toma en cuenta para realizar la interpretación del análisis estadístico.

Valor absoluto de R	Grado de asociación
0.8 – 1.0	<i>Fuerte</i>
0.5 – 0.8	<i>Moderado</i>
0.2 - 0.5	<i>Débil</i>
0 – 0.2	Insignificante

Resultados

Presencia de AVL

Las AVL se presentaron regularmente en el sistema de tratamiento durante el período de estudio, en la entrada y en el reactor biológico su presencia fue constante en todos los muestreos, en el decantador fue variable presentándose alternadamente en filtros y en la salida fue esporádica (Tabla 2).

Tabla 2. Presencia de AVL.

Mes Muestreo	Feb 1°		Feb 2°		Mar 3°		Abr 4°		May 5°		Jun 6°		Jul 7°		Ago 8°		Sep 9°		Oct 10°		Nov 11°		
	30°	37°	30°	37°	30°	37°	30°	37°	30°	37°	30°	37°	30°	37°	30°	37°	30°	37°	30°	37°	30°	37°	
E	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
F	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-

+ Presencia

-Ausencia

Riqueza específica

En la tabla 3 se presenta la riqueza específica de AVL aisladas a las temperaturas de 30°C y a 37°C. Se determinaron 24 especies, pertenecientes a 13 géneros: 10 especies crecieron a 30°C, 7 especies a 37°C y 7 especies a ambas temperaturas.

Tabla 3. Riqueza específica de AVL.

Género	Especie	30°C	37°C
<i>Acanthamoeba</i>	<i>astronyxis</i>	x	
	<i>castellanii</i>		x
	<i>comandoni</i>	x	
	<i>polyphaga</i>	x	x
	<i>sp.</i>	x	x
	<i>triangularis</i>		x
<i>Deuteramoeba</i>	<i>algonquinensis</i>		x
<i>Guttulinopsis</i>	<i>vulgaris</i>		x
<i>Hartmannella</i>	<i>cantabrigiensis</i>		x
<i>Korotnevela</i>	<i>stella (antes Dactylamoeba stella*)</i>	x	x
<i>Mayorella</i>	<i>cantabrigiensis</i>		x
<i>Naegleria</i>	<i>sp.</i>	x	x
<i>Platyamoeba</i>	<i>placida</i>		x
	<i>sp.</i>	x	
<i>Vahlkampfia</i>	<i>avara</i>	x	x
	<i>enterica</i>	x	
<i>Vannella</i>	<i>cirrifera</i>	x	
	<i>lata</i>	x	
	<i>platypodia</i>	x	x
	<i>simplex</i>	x	
	<i>sp.</i>	x	
<i>Vermamoeba</i>	<i>vermiformis (antes Hartmannella vermiformis*)</i>	x	x
<i>Vexillifera</i>	<i>bacillipedes</i>	x	
<i>Thecamoeba</i>	<i>similis</i>	x	

* De acuerdo con Smirnov et al., 2011.

Frecuencia

La especie amebiana más frecuente fue *Vermamoeba vermiformis* (20%) seguida de *Acanthamoeba polyphaga* (14%), *Naegleria sp.* (13%), *Vahlkampfia avara* (12%) y *Vannella platypodia* (11%). Los porcentajes de 0.4% pertenecen a las amibas que solo se presentaron una vez a lo largo del estudio, en este caso fueron 7 especies (*Acanthamoeba castellanii*, *A. comandoni*, *A. triangularis*, *Deuteramoeba algonquinensis*, *Guttulinopsis vulgaris*, *Mayorella cantabrigiensis* y *Platyamoeba sp.*) (Figura 4).

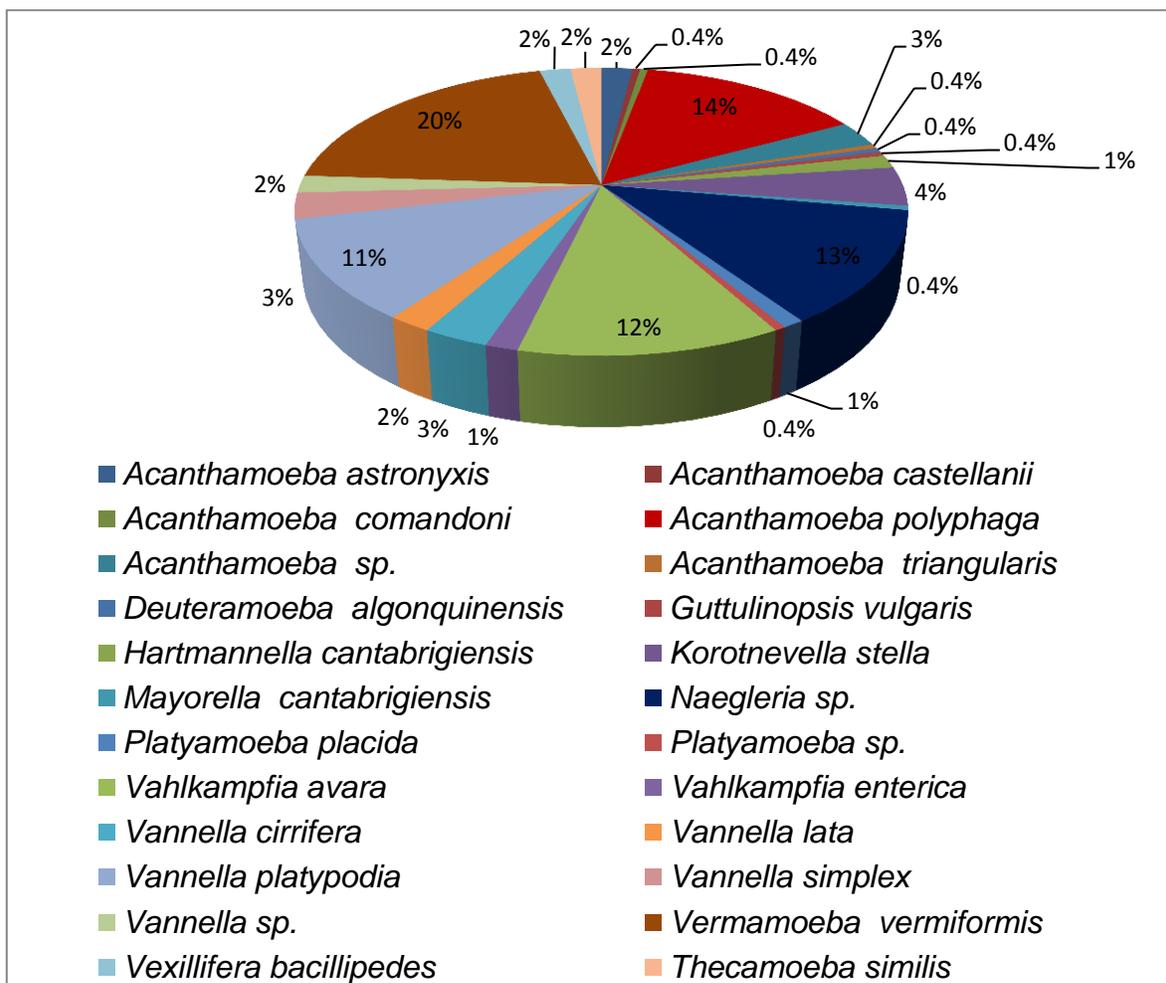


Figura 4. Frecuencia total de las AVL a lo largo de los muestreos.

Distribución temporal

En las figuras de la 5 a la 14, se muestra la distribución de las amibas de vida libre en cada uno de los meses en que se realizó el estudio. En general se observa una distribución variable, pero a lo largo de los meses se obtuvo el mayor número de aislamientos en el reactor biológico.

En el mes de febrero no se aislaron amibas en la salida del tratamiento ni en el decantador a 30°C (Figura 5).

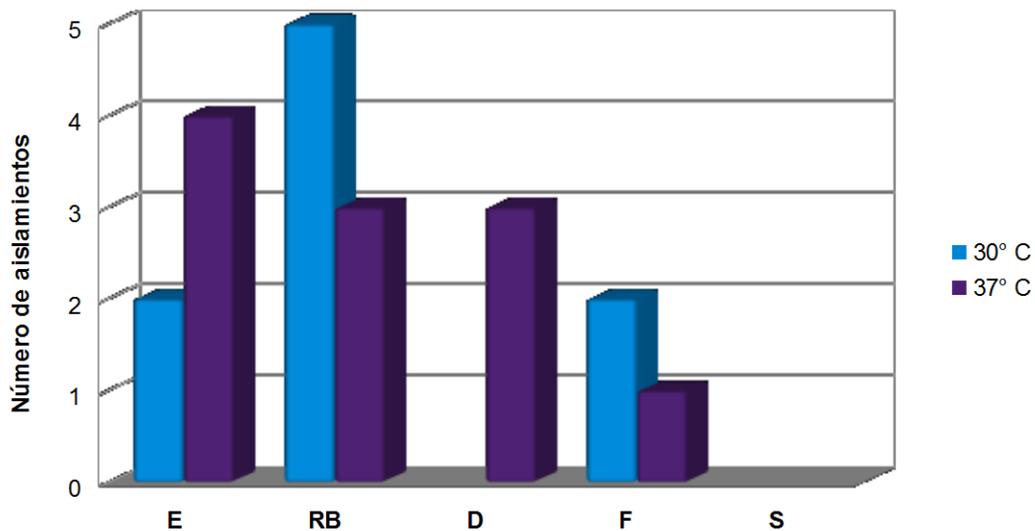


Figura 5. Distribución de las AVL en el mes de Febrero.

En los meses de Marzo y Abril, en la entrada el número de aislamientos fue el mismo en ambos meses, 4 a 30°C y 1 a 37°C. Aunque el número de aislamientos en el mes de marzo fue ligeramente menor que en abril en el reactor biológico. En los 2 meses no se aislaron amibas en filtros y en salida (Figuras 6 y 7).

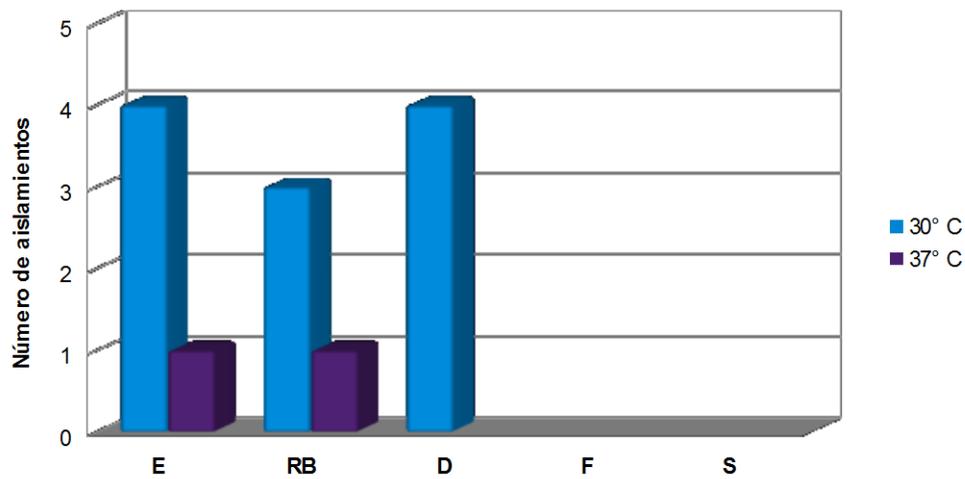


Figura 6. Distribución de las AVL en el mes de Marzo.

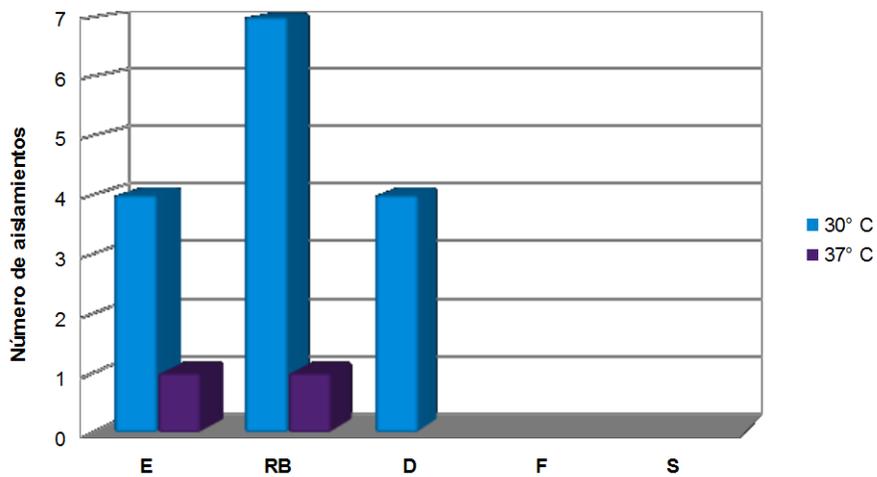


Figura 7. Distribución de las AVL en el mes de Abril.

En la figura 8 se observa que en el mes de mayo no aislaron amibas en filtros y en el decantador solamente se aislaron a 30°C y en la salida a 37°C.

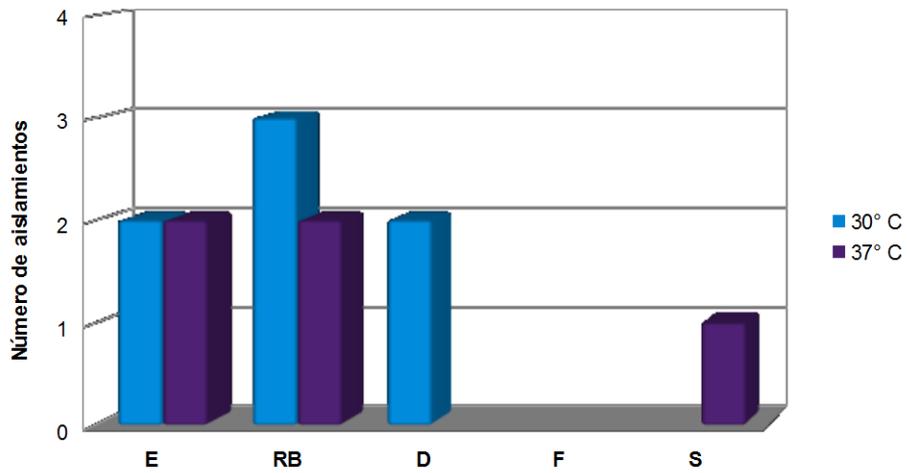


Figura 8. Distribución de las AVL en el mes de Mayo.

En el mes de Junio, nuevamente no se aislaron amibas en filtros y salida, ni en el decantador a 37°C (Figura 9).

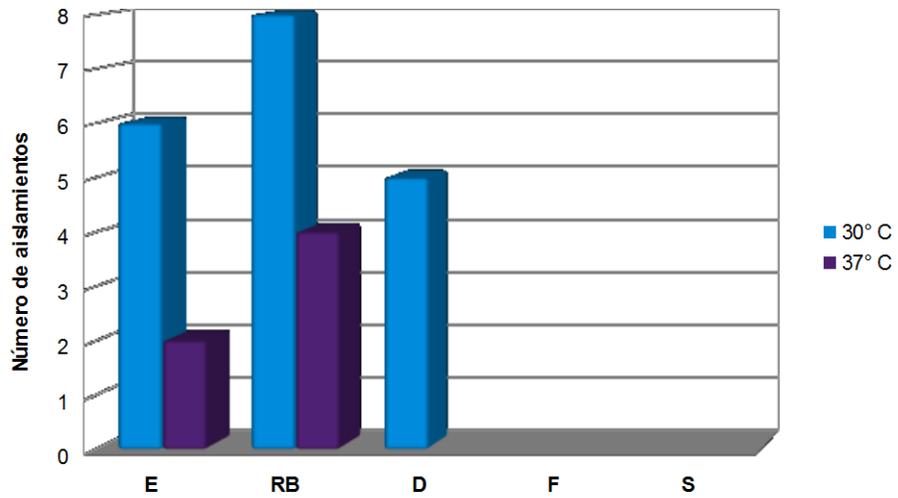


Figura 9. Distribución de las AVL en el mes de Junio.

Julio fue el único mes en el que se aislaron amibas en todos los sitios de muestreo, a excepción del decantador a 37°C (Figura 10).

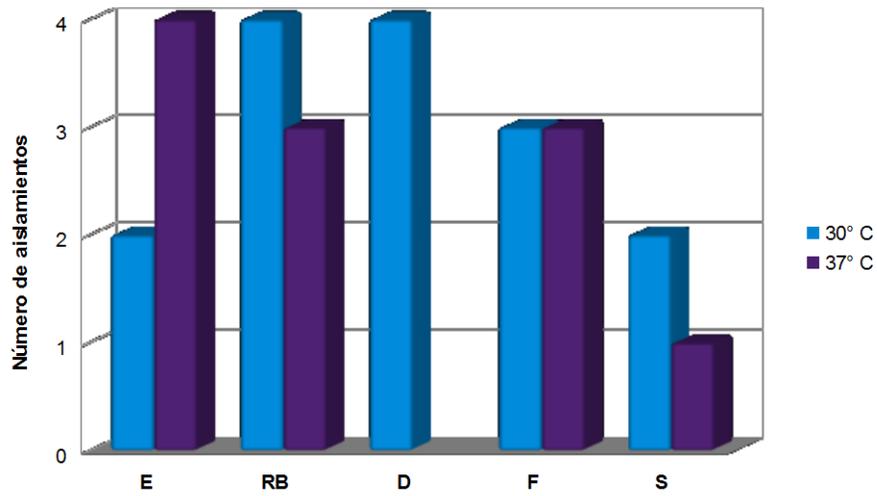


Figura 10. Distribución de las AVL en el mes de Julio

En el mes de agosto no se volvieron a aislar amibas en filtros y salida como en marzo, abril y junio (Figura 11).

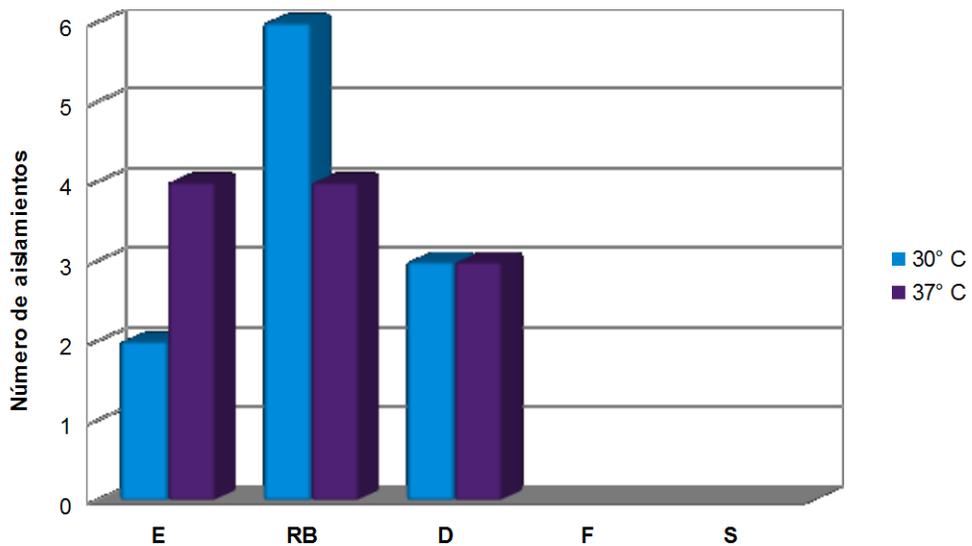


Figura 11. Distribución de las AVL en el mes de Agosto.

En la figura 12 se muestra que en el mes de septiembre el número de aislamientos fue mas o menos constante en la entrada, reactor biológico y decantador a ambas temperaturas de incubación y no se aislaron amibas en filtros.

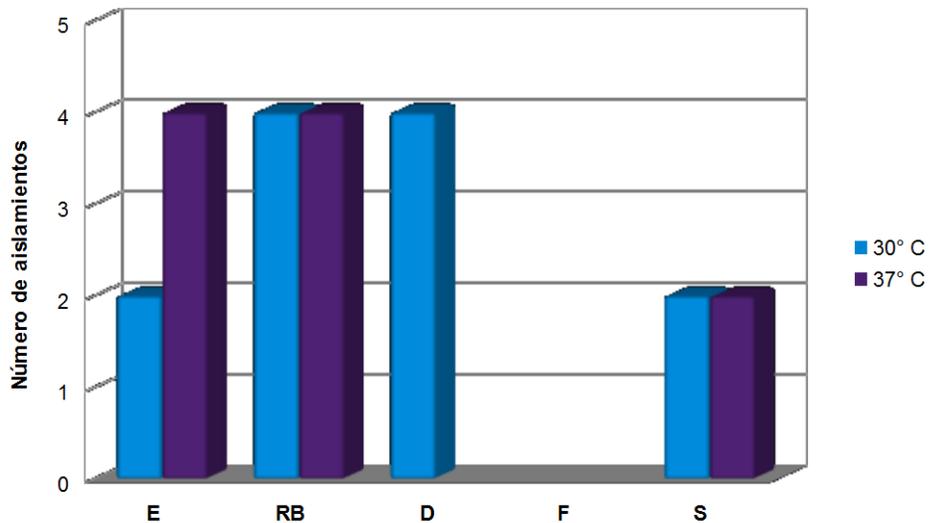


Figura 12. Distribución las AVL en el mes de Septiembre.

En los dos últimos meses del estudio, octubre y noviembre, la distribución de AVL fue similar en los puntos de muestreo y en ambos casos no se aislaron amibas en la salida (Figura 13 y 14).

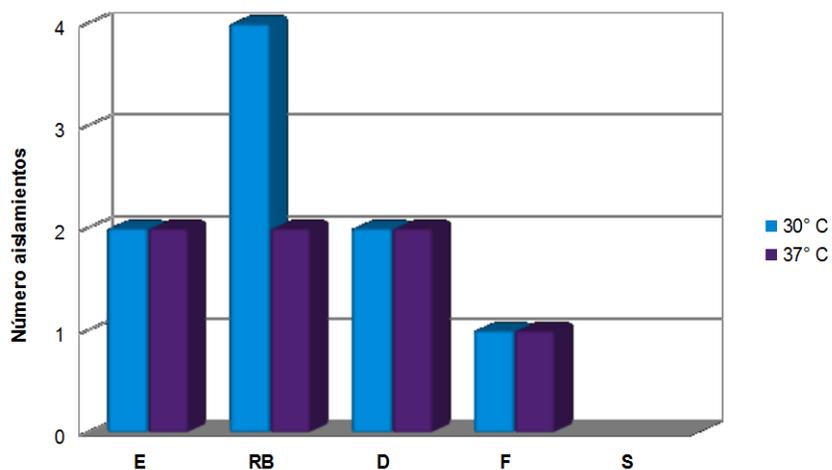


Figura 13. Distribución las AVL en el mes de Octubre.

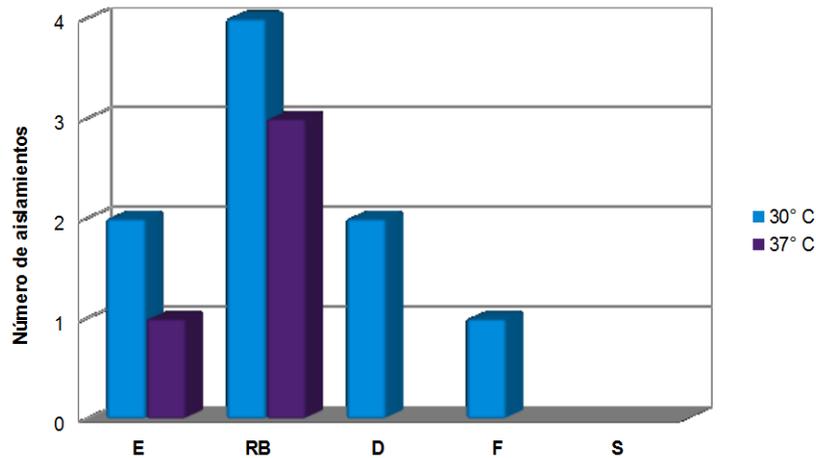


Figura 14. Distribución de las AVL en el mes de Noviembre

En la figura 15 se observa la distribución temporal global de las AVL a lo largo del período de estudio. El mes con mayor número de aislamientos a 30 °C fue junio con 19 aislamientos y el de menor número de aislamientos fue mayo con 7 aislamientos. El mes con mayor número de aislamientos a 37 °C fue en febrero con 12 aislamientos y los de menor número de aislamientos fueron marzo y abril con 2 aislamientos cada uno.

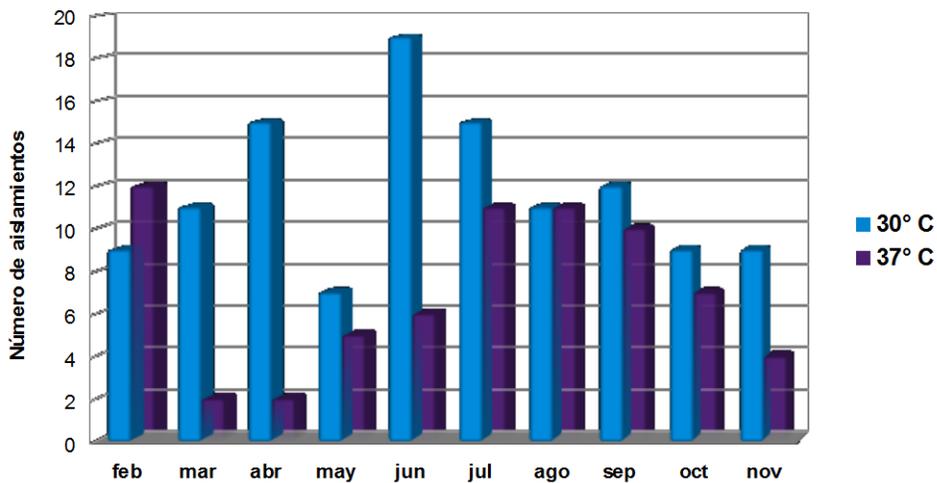


Figura 15. Distribución temporal global de las AVL.

De las especies identificadas *A. polyphaga* y *Vermamoeba vermiformis* se presentaron en todos los meses de muestreo. Se observaron con menor frecuencia (de 1 a 3 meses): *Deuteramoeba algonquinensis*, *Guttulinopsis vulgaris*, *Mayorella cantabrigiensis*, *Hartmannella cantrabigiensis*, *Platyamoeba placida*, *Vahlkampfia enterica* y *Thecamoeba similis* (Tabla 4).

Tabla 4. Presencia de AVL en el periodo de estudio.

Especie	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov
<i>Acanthamoeba astronyxis</i>	—	—	X	—	—	X	X	—	—	—
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	X	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Acanthamoeba comandoni</i>	—	—	X	—	—	—	—	—	—	—
<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Acanthamoeba sp.</i>	X	—	—	—	X	X	X	X	—	—
<i>Acanthamoeba triangularis</i>	—	—	—	—	—	—	X	—	—	—
<i>Deuteramoeba algonquinensis</i>	—	—	—	—	—	—	—	X	—	—
<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	X	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>	X	—	—	X	X	—	—	—	—	—
<i>Korotnevelia stella</i>	X	X	X	—	X	—	—	—	—	—
<i>Mayorella cantabrigiensis</i>	—	—	—	—	X	—	—	—	—	—
<i>Naegleria sp.</i>	X	X	X	—	X	X	X	X	X	X

<i>Platyamoeba placida</i>	X	—	—	—	—	—	—	—	X	—
<i>Platyamoeba sp.</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	X
<i>Vahlkampfia avara</i>	X	—	X	—	X	X	X	X	X	X
<i>Vahlkampfia enterica</i>	—	—	—	X	—	—	X	—	—	—
<i>Vannella cirrifera</i>	X	X	—	—	—	—	X	—	X	—
<i>Vannella lata</i>	X	—	—	—	—	X	—	—	—	X
<i>Vannella platypodia</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	—
<i>Vannella simplex</i>	X	—	—	X	X	—	—	—	—	—
<i>Vannella sp.</i>	—	—	X	—	—	X	—	—	—	—
<i>Vermamoeba vermiformis</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Vexillifera bacillipedes</i>	—	—	X	X	—	X	X	—	—	—
<i>Thecamoeba similis</i>	X	—	—	X	X	—	—	—	—	—

X Presencia ___ Ausencia

Distribución Espacial

La distribución de las amibas en cada sitio de muestreo a lo largo del periodo de estudio se muestra en las figuras 16 a la 20.

En la figura 16 se muestra que en la entrada se obtuvieron generalmente entre 2 o 4 aislamientos durante el período de estudio a excepción de junio.

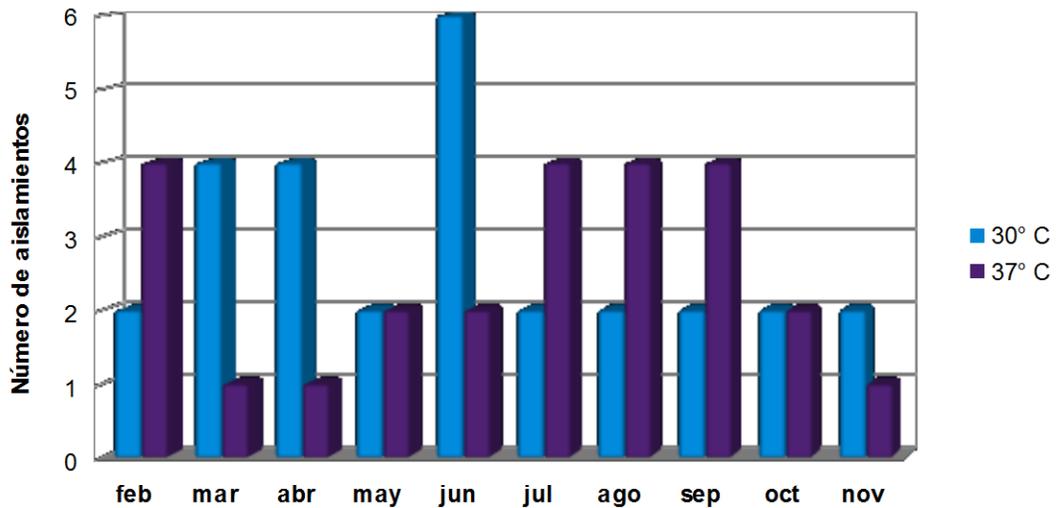


Figura 16. Distribución de AVL en la entrada del sistema.

En el reactor biológico la presencia de las AVL fue muy variable con incrementos y descensos a lo largo del estudio (Figura 17).

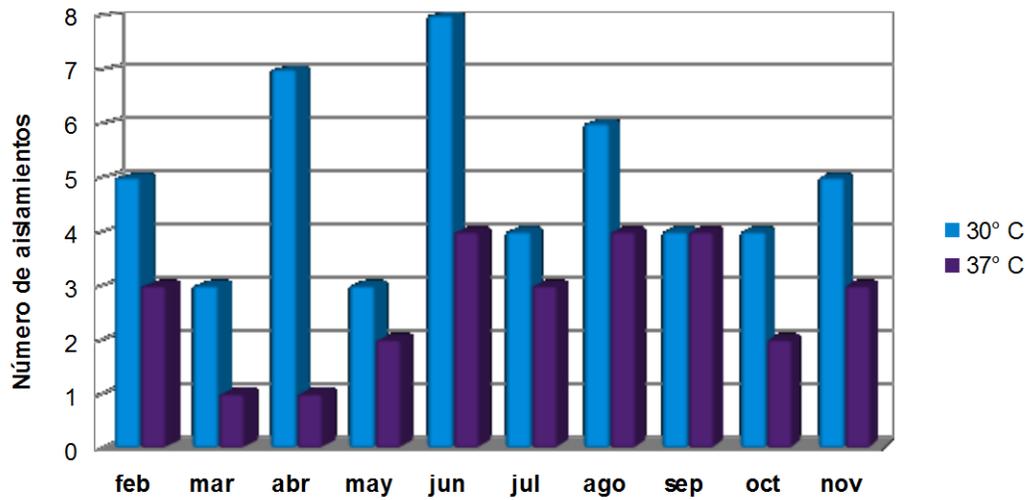


Figura 17. Distribución de AVL en el Reactor Biológico.

En la figura 18 se muestra que en el decantador no se aislaron AVL a 37°C en 7 meses.

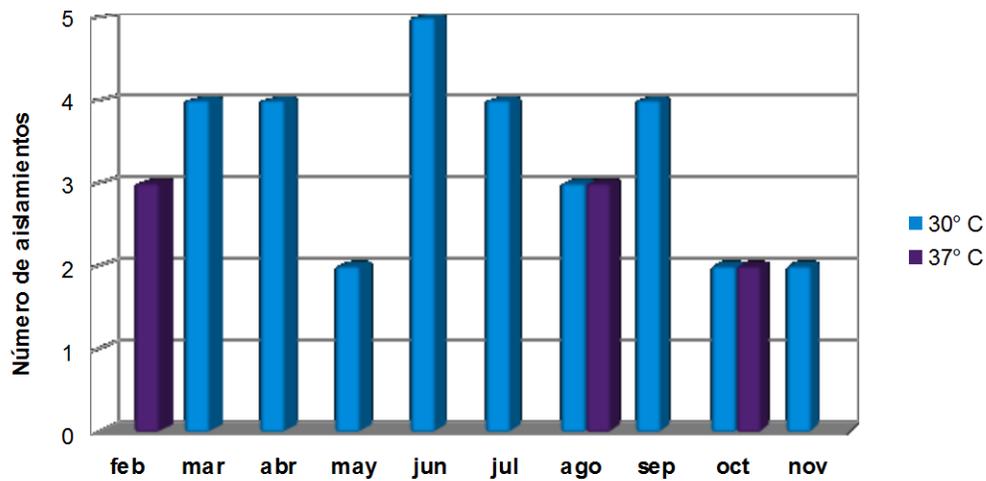


Figura 18. Distribución de AVL en el Decantador.

En los filtros se aislaron AVL solamente en 4 meses, febrero, julio, octubre y noviembre (Figura 19).

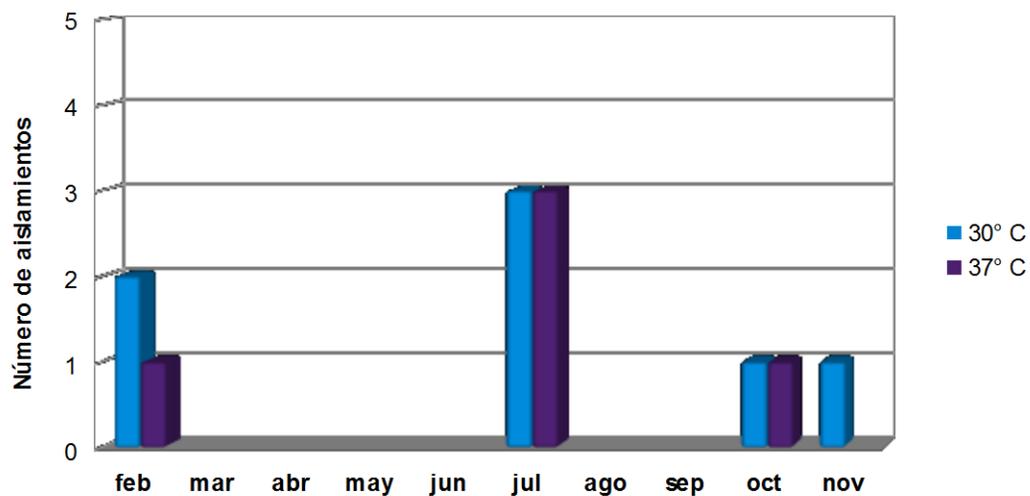


Figura 19. Distribución de AVL en Filtros.

En la salida del tratamiento solamente se aislaron AVL en 3 meses, mayo, julio y septiembre en muy bajo número (Figura 20).

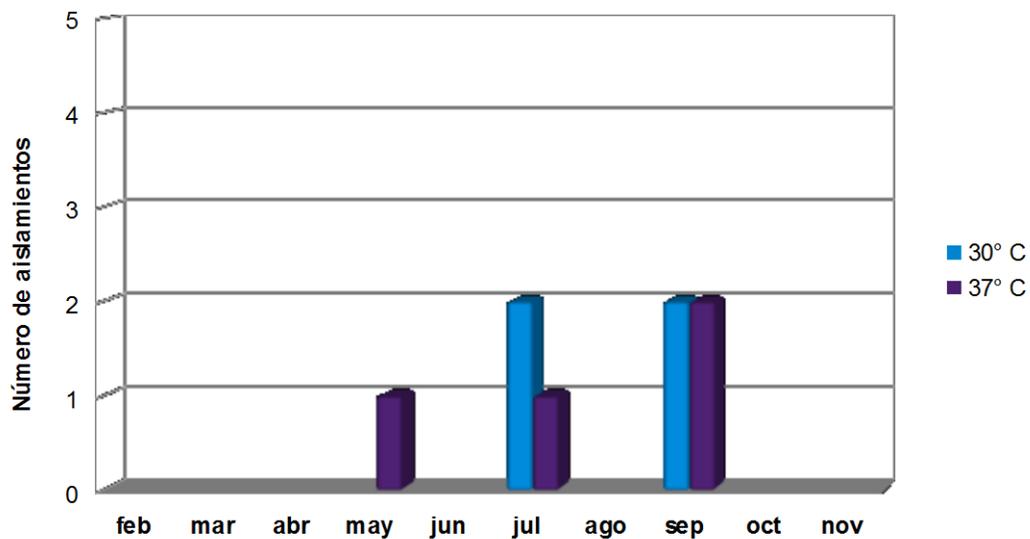


Figura 20. Distribución de AVL en la salida.

En la figura 21 se presenta la distribución espacial global de las AVL durante todo el período de estudio, el mayor número de aislamientos fue de 53 en el reactor biológico a 30°C. Se observó que hubo una disminución de amibas tanto las aisladas a 30 °C como a 37 °C de la entrada a la salida de todo el tren de tratamiento.

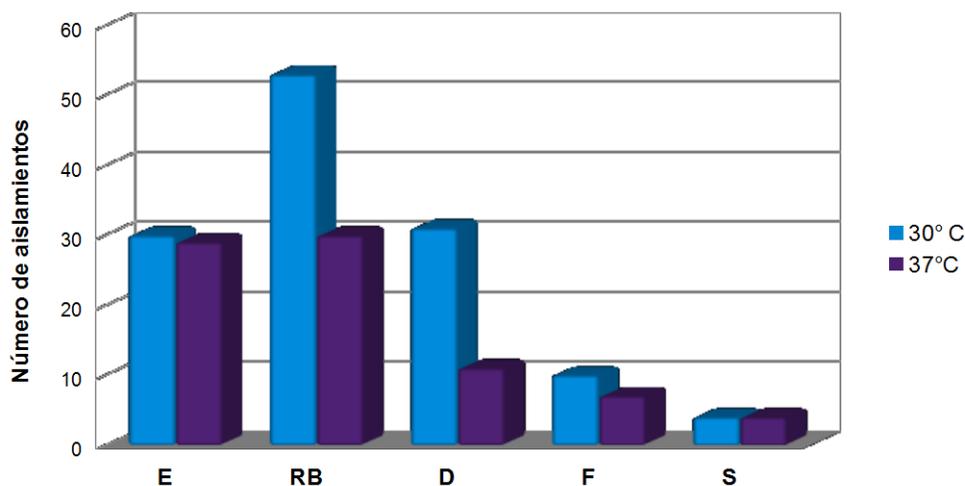


Figura 21. Distribución Espacial Global de las AVL.

En la tabla 5 se muestra la presencia de especies de AVL en cada uno de puntos que integran el sistema de tratamiento, cabe destacar que las especies más frecuentes fueron *Acanthamoeba polyphaga*, *Vermamoeba vermiformis*, *Naegleria sp.*, y *Vannella platypodia* en los cinco puntos de muestreo.

Tabla 5. Presencia de las especies de AVL en el sistema de tratamiento.

Especie	Entrada	Reactor Biológico	Decantador	Filtros	Salida
<i>Acanthamoeba astronyxis</i>	X	X	—	—	—
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	X	—	—	—	—
<i>Acanthamoeba comandoni</i>	X	—	—	—	—
<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	X	X	X	X	X
<i>Acanthamoeba sp.</i>	X	X	X	X	—
<i>Acanthamoeba triangularis</i>	X	—	—	—	—
<i>Deuteroamoeba algonquinensis</i>	X	—	—	—	—
<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	—	—	—	X	—
<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>	X	X	X	—	—
<i>Korotnevella stella</i>	X	X	X	X	X
<i>Mayorella cantabrigiensis</i>	X	—	—	—	—
<i>Naegleria sp.</i>	X	X	X	X	X
<i>Platyamoeba placida</i>	X	—	X	—	—
<i>Platyamoeba sp.</i>	—	X	—	—	—
<i>Vahlkampfia avara</i>	X	X	X	X	—
<i>Vahlkampfia enterica</i>	—	X	—	—	X
<i>Vannella cirrifera</i>	—	X	X	X	—
<i>Vannella lata</i>	—	X	X	X	—
<i>Vannella platypodia</i>	X	X	X	X	X
<i>Vannella simplex</i>	X	X	X	—	—
<i>Vannella sp.</i>	—	X	X	X	X
<i>Vermamoeba vermiformis</i>	X	X	X	X	X
<i>Vexillifera bacillipedes</i>	—	X	X	—	—
<i>Thecamoeba similis</i>	—	X	X	—	—

Parámetros físicos y químicos

Las condiciones de temperatura, pH y oxígeno disuelto estuvieron dentro de los intervalos reportados para la presencia de las amibas (Tabla 6).

Tabla 6. Valores promedio de los parámetros físicos y químicos de los puntos de muestreo.

MUESTRA	pH	T °C	OD mg/L
Entrada	7.18	21.81	2.08
Decantador	7.44	22.9	3.38
Filtros	7.04	21.1	2.39
Salida	7.57	20.12	4.2

Análisis estadístico

En la tabla 7 se puede observar que en la mayoría de las correlaciones, el grado de asociación entre las AVL y los parámetros físicos y químicos no fue estadísticamente significativo. Sin embargo, se observó relación de las AVL con la temperatura, una fuerte positiva en la entrada y una moderada positiva en el decantador; además de una relación moderada positiva con el oxígeno disuelto en la entrada (datos, resaltados en la tabla 7).

Tabla 7. Correlación entre las AVL y los parámetros fisicoquímicos.

	Temperatura (°C)	pH	Oxígeno Disuelto (mg/L)
Entrada	0.87	-0.42	0.67
Reactor Biológico	-0.05	-0.12	-0.38
Decantador	0.70	-0.36	0.30
Filtros	-0.39	0.01	-0.26
Salida	-0.68	-0.07	0.06

Discusión

La mayoría de las amibas aisladas en este estudio han sido reportadas en otros sistemas de tratamiento como las Lagunas de estabilización (Rivera et al., 1986), los humedales artificiales (Gudiño, 2003; Ramírez et al., 2005) y los Lodos Activados, (Ramírez et al., 1993; Toledo, 2007). También se han aislado de aguas subterráneas (Ramírez et al., 2009; Cerón, 2011) y de muestras de polvo y aire (Urban y Vega, 2002), indicando que las AVL poseen un amplio rango de hábitats y que son capaces de adaptarse siempre y cuando las condiciones sean favorables.

En cuanto a la riqueza específica se obtuvieron 24 especies pertenecientes a 13 géneros, siendo las más frecuentes: *Vermamoeba vermiformis* (20%) seguida de *Acanthamoeba polyphaga* (14%), *Naegleria sp.* (13%), *Vahlkampfia avara* (12%), *Vannella platypodia* (11%), en cambio en el estudio de Toledo 2007 se encontraron 31 especies y 11 géneros y las AVL con mayor frecuencia fueron: *Vannella platypodia* con 14.29%, *Platyamoeba placida* con 10.71%, y *Vahlkampfia avara* (9.29%), coincidiendo en ambos estudios con las últimas 2 especies de amibas mencionadas pero con distintos porcentajes, lo que indica que pueden tener un papel importante en el sistema de lodos activados.

Haciendo énfasis en las especies de AVL con alta frecuencia tenemos que *Vermamoeba vermiformis* se ha reportado en agua con baja concentración de materia orgánica, como agua subterránea con un porcentaje del 38% en el estudio de Ramírez et al., 2009 y un 28% en el trabajo de Cerón, 2011 contra un 20% en este estudio; por lo que es interesante su presencia en la presente investigación, lo que sugiere que también puede soportar altas concentraciones de materia orgánica, característica del agua residual doméstica. Es posible que las condiciones físicas y químicas reportadas en este trabajo favorecieron su alta frecuencia (pH de 7.00 a 7.57; Temperatura de 20 a 22.9 °C y OD de 2.08 a 4.2 mg/L), pues en estudios de aguas subterráneas se han reportado valores similares: pH de 6.7 a 7.25, temperatura de 12.5 a 36 °C y para OD de 2 a 4.8 mg/L.

Es importante resaltar que *V. vermiformis* se ha encontrada asociada a algunas infecciones oculares y a una infección cerebral, pero no se ha podido comprobar su papel como la causante de las infecciones (Aitken et al., 1996; Centeno et al., 1996; Dua et al., 1998; Inoue et al., 1998).

Las especies del género *Acanthamoeba* se han reportado en una variedad de ambientes, entre ellos, agua con concentraciones altas de materia orgánica (Bonilla y Ramírez, 1993; Ramírez et al., 2006), así como agua de grifo (Cabral et

al., 2010; Bonilla et al., 2010), agua de alberca (Init et al., 2010); en agua de pozo (Ramírez et al., 2009), en aguas residuales de otros sistemas de tratamiento como un humedal artificial en Hidalgo (Ramírez et al., 2005) y en un método de la zona raíz (Rivera et al., 1993). También es muy común encontrarlas habitando en el suelo (Decamp y Warren 1996). La habilidad de este género para encontrarse en una gran variedad de ambientes se debe a la resistencia de su quiste cuya característica principal es la de estar formado por una doble pared: una capa externa (exoquiste) compuesto por fosfoproteínas y una capa interna (endoquiste) compuesta por celulosa (Page, 1988).

Algunas especies del género *Acanthamoeba* pueden provocar infección severa del sistema nervioso central y en órganos como pulmón, piel, ojos y oídos; específicamente *A. polyphaga* se ha reportado como causante de infecciones oculares (Bonilla y Ramírez, 2011) y como patógena en ratones (Rivera et al., 1993; Ramírez et al., 1993; Urban y Vega, 2002).

A lo largo del estudio se identificó el género *Naegleria sp.* el cual creció a 30°C y a 37°C, situación que coincide con la investigación de Rivera et al., 1986, realizada en un tanque de estabilización en Santo Tomas Atzingo, Estado de México. La presencia de este género en los sistemas de tratamiento de aguas residuales es variable, se encontró en una planta de lodos activados de Londres, Inglaterra (Ramírez et al., 1993), pero no en un sistema del mismo tipo en Ciudad Universitaria México (Toledo, 2007) ni en un tanque de sedimentación (Ramírez et al., 2005). Los dos últimos sistemas de tratamiento mencionados son diferentes, sin embargo ambos reportaron bajas concentraciones de oxígeno disuelto: en la investigación de Toledo se tuvieron valores de 1.22-1.67 mg/ L y en la de Ramírez et al., 2005 de 0 a 1.5 mg/L. Esto último se puede explicar porque el género *Naegleria* prolifera mejor en ambientes con concentraciones de oxígeno disuelto por arriba de 2 mg/L, como fue el caso del sistema de tratamiento estudiado, que presento concentraciones promedio de 2-4 mg/L.

Las otras dos especies más abundantes fueron *Vahlkampfia avara* (12%), y *Vannella platypodia* (11%); la presencia de estas amibas en el agua residual es característica (Rivera et al., 1995) en el caso de *Vahlkampfia* posiblemente se deba a que las amibas de este género tienen un quiste con pared gelatinosa (Page 1988) lo que le permite sobrevivir en este ambiente y en su estadio de trofozoito se le considera una consumidora voraz de bacterias pequeñas, las cuales son frecuentes en las aguas de desecho (Bonilla y Ramírez, 1993). Por su parte *Vannella platypodia* es una amiba que no forma quistes, por lo que es interesante que se presente en este tipo de agua, lo que sugiere que en su fase de trofozoito resiste condiciones ambientales adversas (Toledo, 2007).

En cuanto la distribución espacial de las AVL en el sistema de tratamiento, el mayor número de aislamientos se obtuvo en el reactor biológico y el menor en la salida del sistema, lo que coincide con lo reportado por Ramírez et al., 1993 y Toledo 2007. Esto puede deberse a que en el reactor biológico es donde se realiza la degradación de materia orgánica presente en el agua residual y por lo tanto proliferan las bacterias, que son el alimento de las amibas. Las amibas que se presentaron en esta etapa del sistema fueron *Acanthamoeba sp.*, *A. astronyxis*, *A. polyphaga*, *Hartmannella cantabrigiensis*, *Korotnevella stella*, *Naegleria sp.*, *Platyamoeba sp.*, *Vahlkampfia avara*, *V. enterica*, *Vannella sp.*, *Vannella cirrifera*, *Vannella lata*, *Vannella platypodia*, *Vannella simplex*, *Vermamoeba vermiformis*, *Vexillifera bacillipedes* y *Thecamoeba similis*. Por su parte en esta etapa final del tratamiento el número de aislamientos fue de uno a tres lo que en general refleja una eficiente remoción de amibas.

En el estudio de Ramírez et al., 1993 se reportó la presencia de *V. vermiformis* en todo el tren de tratamiento pero estuvo ausente en la salida del sistema; por su parte Toledo 2007 reportó la presencia de *A. polyphaga* en los tres puntos de una planta de tratamiento de lodos activado, en el presente estudio se reportó la presencia de ambas especies, por lo que se puede decir que estas dos AVL son las especies más características en este tipo de sistema de tratamiento.

Acanthamoeba polyphaga fue aislada en la salida de la planta de tratamiento en el mes de septiembre, después de los filtros y la cloración. Por lo que hay que poner especial atención al uso que se le dará al agua tratada ya que esta especie ha sido reportada como causante de infecciones en humanos (Bonilla y Ramírez, 2011).

Para la distribución temporal de las AVL en este trabajo tenemos que el mayor número de aislamientos fue en Junio y Julio y el menor número se presentó en marzo y abril; por su parte Toledo en 2007 reporta a junio como el mes con el mayor número de aislamientos de AVL y septiembre con el menor número en una planta de tratamiento de lodos activados; al comparar con otros sistemas de tratamiento también existen diferencias, pues Ramírez et al., 2005 reportó a febrero como el mes con el mayor número de aislamientos de AVL y al mes de Mayo con el menor número para un humedal de macrófitas; por su parte en aguas subterráneas Ramírez et al., 2009 obtuvo el mayor número de aislamientos en diciembre y enero y el menor número en Abril; estas diferencias en la distribución temporal de las AVL se pueden explicar con lo siguiente: México es un país con climas tropicales y subtropicales en la mayor parte del territorio lo que permite que las condiciones sean favorables para la proliferación de las AVL durante todo el año (Ramírez y Bonilla, 1995), lo que no ocurre en los países templados y fríos donde las Amibas proliferan mejor durante los meses más cálidos es decir, las

amibas presentan un patrón estacional (Bonilla y Ramírez, 1993; Bonilla et al., 2004). También hay que tomar en cuenta que el sistema estudiado es un sistema artificial manejado por el hombre y que en ocasiones la operación de la planta de tratamiento fue afectado por problemas técnicos, estas razones también jugaron un papel vital en la distribución temporal de las amibas.

En el agua las amibas de vida libre pueden encontrarse en un intervalo de pH de entre 4.5 y 9.5. Las amibas pueden sobrevivir a temperaturas por debajo de los 4°C y por arriba de los 37°C. Algunas pueden crecer a temperaturas mayores de 45°C (Gudiño, 2003). En este estudio los valores de pH en cada punto de muestreo estuvieron ligeramente por arriba de la neutralidad, esto coincide con lo reportado en otros sistemas de tratamiento, donde los valores de pH también estuvieron cercanos a la neutralidad (Rivera et al., 1986; Gudiño 2003; Chiquillo 2004; Ramírez et al., 2005; Toledo 2007). En cuanto al oxígeno disuelto, se encontraron valores promedio de 2 a 4.2 mg/L, por lo que estuvieron en el intervalo adecuado para la presencia de estas amibas (Chiquillo, 2004; Bonilla et al., 2004).

El parámetro que presento mayor relación con las amibas fue la temperatura, lo que concuerda con la conocida relación de las AVL con este factor ambiental, a mayor temperatura mayor proliferación de amibas (Bonilla et al, 2004). En cuanto a la relación con el oxígeno disuelto, que es otro de los factores ambientales importantes para las AVL, solamente se observó una relación positiva en la entrada; esto se puede deber a que en este tipo de hábitats manejados por el hombre, posiblemente intervienen otros factores propios del manejo del sistema.

El caso de los filtros y la salida, es interesante porque los valores de correlación fueron muy bajos o se encontraron relaciones con la temperatura (salida), contraria a lo esperado. Esto posiblemente se deba a que en la mayoría de los muestreos no se aislaron amibas, sin importar los valores de los parámetros fisicoquímicos.

Conclusiones

En general la distribución temporal de las AVL fue variable y no siguió un patrón estacional.

El mayor número de asilamientos se obtuvo en el reactor biológico y el menor número de aislamientos en la salida.

Los parámetros físicos y químicos (pH, temperatura y oxígeno disuelto) de cada uno de los puntos de muestreo estuvieron en los intervalos reportados para la presencia de las AVL.

La especie *Vermamoeba vermiformis* fue la AVL que se presentó en todos los meses y con mayor frecuencia.

La presencia de *Acanthamoeba polyphaga* en la salida del sistema, aunque solamente fue en una ocasión, es una llamada de atención para no descuidar el tratamiento terciario y la desinfección que se le da a agua residual tratada.

De los parámetros fisicoquímicos analizados, solamente se encontró una correlación positiva de las amibas con la temperatura del agua.

Referencias bibliográficas

- Aitken, D., Hay, J., Kinnear, F.B., Kirkness, C.M., Lee, W.R. and Seal D.V. 1996. Amebic keratitis in a wearer of disposable contact lenses due to a mixed *Vahlkampfia* and *Hartmannella* infection. *Ophthalmol.*103: 485-493.
- Basu, P., Ghosh, A., Choudhury, A. y Bhattacharya, A. 1987. Free-living aerobic amoeba from a sewage survey of West Bengal, India. *Journal of Bengal Natural History Society.* 6 (1): 6-31.
- Bonilla, P. y Ramírez, E. 1993. Las Amebas de vida libre. Científica y Tecnológica: Biotratamientos de aguas residuales. *CONACYT.* 15 (203): 22-25.
- Bonilla, P., Ramírez, E., Ortiz, R. y Eslava, C. 2004. La ecología de las amibas de vida libre en ambientes acuáticos. En Irma Rosas, Alejandro Craviota, Ezequiel Ezcura (eds.). Microbiología ambiental. Instituto de Ecología. UNAM. México. 67-78 p.
- Bonilla, P., Ramírez, G., Zamora, C., Ibarra, M. del R., Ramírez, E., y Hernández, M. D. 2010. *Acanthamoeba spp.* in domestic tap wáter in houses of contact lens wearers in the metropolitan area of Mexico City. *Experimental Parasitology.* 126: 54-58.
- Bonilla, P. y Ramírez, E. 2011. *Amibas de vida libre con potencial patógeno.* En Parasitología Médica (Ed. Becerril, M.A.). Mc Graw Hill. México. 31-41 p.
- Brooks, B. D. 2004. *Agua Manejo a nivel local.* Centro Internacional de investigaciones para el desarrollo- Alfa omega. México. 26pp.
- Cabral, F.M., Melissa M., y Kaneshiro, S. 2010. Free-living amoebae, *Legionella* and *Mycobacterium* in tap water supplied by a municipal drinking water utility in the USA. *Journal of Water and Health.* 8 (1): 72-83.
- Centeno, M., Rivera, F., Cerva, L., Tsutsumi, V., Gallegos-Neyra, E., Calderón, A., Ortiz, R., Bonilla, P., Ramírez, E., y Suarez, G. 1996. *Hartmannella vermiformis* Isolated from the Cerebrospinal Fluid of a Young Male Patient with Meningoencephalitis and Bronchopneumonia. *Archives of Medical Research.* 27 (4): 579-586.
- Cerón, R.C.A. 2011. *Presencia de Amibas de vida libre en agua de pozos del sur y oriente del Distrito Federal.* Tesis de Licenciatura. FES Iztacala, UNAM. 54pp.
- Chiquillo, H. L. E. 2004. *Deteccion de Gimnamebas en agua residual doméstica en un tanque de sedimentación.* Tesis de Licenciatura. FES Iztacala, UNAM. 56pp.
- CONAGUA, 2010. Capítulo 4: Infraestructura Hidráulica. En: *Estadísticas del agua en México.* 77-117p.

- CONAGUA, 2011. Capítulo 4: Infraestructura Hidráulica. En: *Estadísticas del agua en México*. 57-77p.
- Decamp O. y Warren A. 1996. Free-living amoeba from constructed wetlands used for wastewater treatment. *Quekett Journal of Microscopy*. 37:660-665.
- Dua, H. S., Azuara-Blanco, A., Hossain, M. and Lloyd, J. 1998. Non-*Acanthamoeba* amebic keratitis. *Cornea* 18:499-501.
- Durán, D.A., Cisneros, C.A. y Vargas, V.A. 2005. Bioestadística. FES Iztacala. UNAM, México. 56pp
- Greub, G. y Raoult, D. 2004. Microorganisms Resistant to Free-Living Amoeba. *Clin. Microbiol. Rev.* 17(2): 413-433.
- Gudiño G. D. 2003. *Estudio cuantitativo de las amibas de vida libre presentes en un sistema de tratamiento del agua residual del tipo del método de la zona de la raíz (MZR) en el poblado de Matilde, Hgo.* Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores. UNAM. 62pp.
- Init I., Lau, Y.L., Fadzlun, A., Foad, A.I., Neilson, R.S. y Nissapatorn, V. 2010. Detection of free living amoebae, *Acanthamoeba* and *Naegleria*, in swimming pools, Malaysia. *Tropical Biomedicin.* 27(3): 566–577.
- Inoue, T., Asar, S., Tahara, K., Hayashi, K., Kiritoshi, A., and Shimomura, Y. 1998. *Acanthamoeba* keratitis with simbiosis of *Harmannella* ameba. *Am. J. Ophthalmol.* 125:721-723.
- Marín, O. A. y Osés, P. M. 2013. Operación y Control del Proceso de Lodos Activados. En: *Manual de Operación y Mantenimiento de Plantas de Tratamiento de Aguas residuales con el Proceso de Lodos Activados*. Comisión Estatal Del Agua de Jalisco. TOMO I. 145-205p.
- Martínez, A.J. y Visvesvara, G.S. 1997. Free-living amphizoic and opportunistic amebas. *Brain Pathol.* 7:583-598.
- Muñoz C. M. 2008. *Caracterización y Tratamiento de Aguas residuales Monografía para obtener el título de Ingeniero Industrial*. Universidad Autónoma de Hidalgo. 305 pp.
- Page, F. C. 1988. *A New Key to Freshwater and Soil Gymnamoebae*. *Freshwater Biological Association*. Cumbria, Inglaterra. 122 pp.
- Peralta, R. M. L. y Ayala, O. J. J. 2009. Amibas de vida libre en seres humanos. *Salud Uninorte. Barranquilla (Col.)*. 5 (2): 280-292.
- Petit, F., Vilchez, V., Torres, G., Molina, O., Dorfman, S., Mora, E., y Cardozo, J. 2006. Meningoencefalitis Amebiana Primaria. Comunicación de dos nuevos casos Venezolanos. *Arq Neuropsiquiatr.* 64(4):1043-1046.
- Plan Nacional Hídrico 2014-2018. Consultado el 8 de junio 2014. En <http://www.conagua.gob.mx/conagua07/contenido/documentos/PNH2014-2018.pdf>. 142 pp.

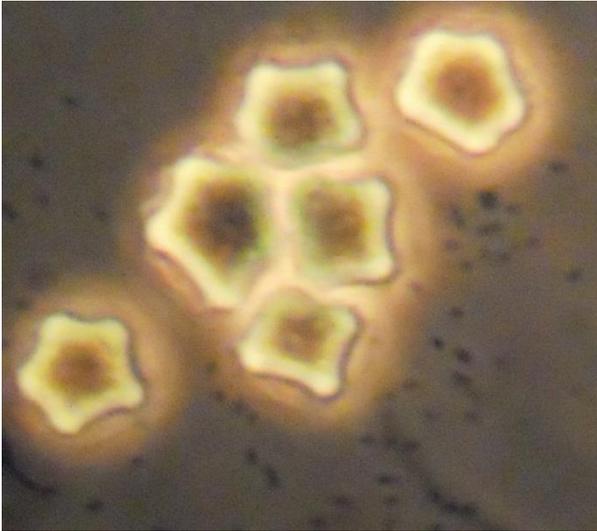
- Ramírez, E., Warren, A., Rivera, F., Bonilla, P., Rodríguez, S., Calderón, A., Ortiz, R., y Gallegos, E. 1993. An investigation of the pathogenic and non-pathogenic free-living amoebae in an activated sludge plant. *Water, Air, and Soil Pollution*. 69: 135-139.
- Ramírez, E., y Bonilla, P. 1995. Epidemiología de las Amebas en México. *Inf. Cienc. Tecnol.* 17(220): 15-17.
- Ramírez, E., Robles, E., Bonilla, P., Sainz, G., López, M., De La Cerda, J.M. y Warren, A. 2005. Occurrence of Pathogenic Free-Living Amoebae and Bacterial Indicators in a Constructed Wetland Treating Domestic Wastewater from a Single Household. *Eng. Life Sci.* 5 (3):1-6.
- Ramírez, E., Campoy, E., Matuz, D., y Robles, E. 2006. *Acanthamoeba* Isolated from Contaminated Groundwater. *J. Eukaryot. Microbiol.* 53(1):10–11.
- Ramírez, E., Robles, E., Sainz, M.G., Ayala, R. y Campoy, E. 2009. Calidad Microbiológica del acuífero de Zacatepec, Morelos, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25 (4): 247-255.
- Rivera, F., García, G., Lugo, A., Zierold, E., Islas, J., Ramírez, E., y Bonilla, P. 1986. Amoebae in a waste stabilization pond system in Mexico. *Water, Air, and Soil Pollution*. 28: 185-198.
- Rivera, F., Rodríguez, S., Warren, A., Bonilla, P., Ramirez, E., Calderón, A., y Ortiz, R. 1993. An investigation of the pathogenic and non-pathogenic Free-Living amoebae from the root zone method of wastewater treatment. *Water, Air, and Soil Pollution*. 69: 93-98.
- Rivera, F., Warren, A., Ramirez, E., Decamp, O., Bonilla, P., Gallegos, E., Calderón, A., y Trinidad, S.J. 1995. Removal of pathogens from wastewaters by the root zone method (RZM). *Wat. Sci. Tech.* 32 (3): 211-218.
- Salas, R. J. J., Pidre, B., J.R. y Cuenca F. I. 2007. Las Aguas Residuales Urbana. En: *Manual de tecnologías no convencionales para la depuración de aguas residuales*. Coria Gráfica. Andalucía España. 19-29 p.
- Salazar, A. 2001. *Modelado de lodos activados en estado estacionario*. tesis para obtener el título de Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Universidad Central de Venezuela Caracas. 163 p.
- Secretaria de Salud. 2012. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de Meningoencefalitis Amebiana Primaria (Amibas de Vida Libre). México D.F. 49 P.
- SEMARNAT. 2003. NOM-004-SEMARNAT 2002. Protección ambiental Lodos y biosólidos Especificaciones y límites máximos permisibles de

contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Diario Oficial. 44 P.

- Smirnov, A.V., Chao E., Nassonovac, E.S., Cavalier-Smith T. 2011. A Revised Classification of Naked Lobose Amoebae (Amoebozoa: Lobosa). *Protist.* 162: 545-570.
- Toledo, T. E. 2007. *Presencia y distribución de Amibas y Ciliados en el Sistema de Lodos Activados de Ciudad Universitaria.* Tesis de maestría en Ciencias Biológicas. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. 75pp.
- Urban, L.M. y Vega, N.S.M. 2002. Aislamiento de amibas de vida libre en ambientes intra y extra muros. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. 56pp.
- Varila Q. J. A. y Díaz L.F. E. 2008. Tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados a escala laboratorio. *Journal of Technology.* 7 (2): 21-28
- Visvesvara, S.G., Hercules, M., y Schuster, F. L. 2007. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri* and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 50: 1–26.

Anexo

Fotografías tomadas con una cámara Olympus T-100 a través de los objetivos de un microscopio de fases con un aumento de 40X.



Quistes de *Acanthamoeba polyphaga*



Quistes de *Acanthamoeba astronyxis*



Forma flotante de *Vannella platypodia*



Trofozoito de *Korotnevella stella*