



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**DETERMINACIÓN DE AMIBAS DE VIDA  
LIBRE (AVL) EN AGUA EMBOTELLADA  
DE GARRAFÓN**

**T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO  
EN BIOLOGÍA**

**P R E S E N T A:  
BRIAN GUADALUPE VARGAS CERÓN**

**DIRECTORA DE TESIS:  
M. en C. ELIZABETH RAMÍREZ FLORES**

**LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MÉXICO  
2021**



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.

## DEDICATORIA

Culminar la carrera de Biología ha sido el sueño de toda una vida; doy gracias a Dios por darme la fortaleza, la inteligencia, la creatividad y la oportunidad para poder hacer realidad esta etapa en mi vida. Asimismo, agradezco mucho, el haberme alejado del mal camino, de los vicios, las malas vivencias, que muchos de mis compañeros y amigos han conocido. No sin antes, refrendar mi compromiso de seguir siendo un buen ser humano y poner de mi parte para hacer de este mundo un mejor lugar para vivir.

Este trabajo va dedicado a mis padres, los seres más bondadosos y dulces del universo; que, con su apoyo incondicional, su amor y ternura han hecho posible la realización de este trabajo. En ellos encuentro la inspiración para seguir adelante y seguir cumpliendo mis objetivos.

A mi madre María Elena, por apoyarme, motivarme con sus palabras de aliento, en aquellos momentos difíciles donde las cosas no se me daban en la vida. Gracias por no rendirte conmigo, por los regaños necesarios, por las muestras de cariño, por creer en mí, en mis convicciones, por enseñarme a admirar la naturaleza y hacer de ello mi vida.

A mi padre Víctor por brindarme el apoyo, la fuerza y ser el pilar de mi formación profesional y la de mis hermanos. Gracias, papá por estar conmigo, por el esfuerzo que imprimes en tu trabajo, por enseñarme a ser un hombre de familia y saber luchar por ella, por estar en las buenas y en las malas. Aunque no lo mencione, siempre serás mi héroe y todo un ejemplo a seguir.

A mi hermano Víctor Emmanuel, por las risas de cada madrugada, por los buenos y malos momentos que hemos vivido desde que éramos niños, momentos que nos han hecho madurar y forjarnos en el camino de la vida. Gracias por ser mi hermano, por aguantarme. Espero ser un buen ejemplo para ti y que el día de mañana seas mucho mejor que yo.

A mi hermana Miriam Jocelyn, por creer en mí y en mis ideales; por apoyarme en cada momento de la vida, por las alegrías que hemos compartido, por el gusto a la lectura y la buena música que tenemos en común. Estoy muy orgulloso de tus logros y triunfos obtenidos y de los que vienen en tu vida. Gracias por ser mi hermana y permitirme ser tu guía en la vida.

Quiero agradecer a mis abuelos, tíos, tías y primos que han jugado un papel crucial en mi vida y desarrollo humano, por las enseñanzas que me han transmitido, por estar ahí en el momento oportuno, por el cariño y por no haber dudado de mí en ningún momento. Gracias por las vivencias y buenos momentos que hemos tenido como familia, pero también por los malos ratos que hemos pasado y que con trabajo, esfuerzo y solidaridad hemos salido adelante.

A mi amigo y colega Enrique Daniel, por haberme ofrecido su amistad sin condición desde aquel primer día en el CCH Azcapotzalco, por las tardes de videojuegos en el bicho, por las muestras de apoyo e incluso por los retos mutuos que nos hacíamos para ser mejores estudiantes y por invitarme a conocer el mundo de la Biología del que ahora somos profesionistas.

A mis amigos de la carrera: Misael, Pablito, Zarah, Jessica, Dianita, Jhonny, Ulises, Dieguito, Cesar, Claudia, Gibran y demás amistades que tuve a lo largo de la carrera. Gracias por las risas, los proyectos, las prácticas de campo, las horas sin dormir, las tareas, los memes, las tardes en las jardineras, la biblioteca, el estudio, las pláticas y mucho más.

Finalmente, y con mucho cariño a mis amigos de toda la vida: Oscar, Giovanni, Jeudiel, Verónica, Ashley, Iván, Rene, Carlitos, Juan Carlos, Jorge y “Paco el viejo”. Por su amistad incondicional, por las frases de apoyo, motivación y momentos increíbles en diferentes etapas de la vida.

“Que pueda contar contigo, como sabes que conmigo siempre;  
que no cuente la suerte, no, solo el destino que nos presentó”.  
Enrique Bunbury - Contar contigo.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la maestra Elizabeth Ramírez Flores, por darme la oportunidad de aceptarme como su alumno en su laboratorio de investigación desde LICyT I. Por enseñarme lo fascinante que es el mundo de las Amibas de Vida Libre (AVL) y el papel que juegan dentro del mundo microscópico, Gracias, profesora por apoyarme, por su paciencia, por sus consejos, por el apego a seguir adelante y culminar mis estudios. Se que no ha sido nada fácil llegar a este punto, pero agradezco infinitamente al cielo de tenerla como profesora, como amiga y como ejemplo a seguir. De verdad, muchas gracias por confiar en mí.

A la Doctora Patricia Bonilla Lemus, por el apoyo brindado a lo largo de este camino, por sus consejos, la retroalimentación, y su asesoría dentro del laboratorio de AVL como en la realización de este trabajo. Gracias doctora, para mí ha sido un honor haber coincidido con usted.

A la Mtra. Esperanza Robles Valderrama, Lic. María de Guadalupe Sáinz Morales y Biol. Blanca Nieves Martínez por todas las observaciones, comentarios puntuales, correcciones y retroalimentaciones a lo largo de este trabajo. Muchas gracias por el apoyo, para mí ha sido un honor tenerlas como revisoras en este trabajo. Su profesionalidad y apego al trabajo científico me han dejado marcado en el ámbito académico y profesional e inspirado para ir por más.

Quiero dedicar un espacio para agradecer a todos mis profesores y docentes que he tenido a lo largo de la carrera de Biología, A cada uno de ustedes, les agradezco la motivación, la entrega, el apego, la constancia y la enseñanza profesional. Incluso su preocupación hacia mi persona para terminar esta licenciatura. Los invito a que continúen creyendo en las nuevas generaciones venideras, en las generaciones que se han rezagado por alguna situación ajena a su poder, pero con convicciones de seguir adelante. México necesita futuros profesionales,

éticos y responsables al servicio de la ciencia y la patria. Muchas gracias a todos ustedes, los llevo en el corazón.

Finalmente, no me queda más que agradecer a mi máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, por abrirme sus puertas al conocimiento, al pensamiento crítico científico y humanístico.

A la escuela de la vida, mi CCH Azcapotzalco, por tantas alegrías y experiencias de vida que tuve a lo largo de mi estadía en sus instalaciones, por hacerme una persona con principios morales, por hacerme dudar de todo, por las amistades duraderas a lo largo de estos años, por enseñarme lo que es bueno y malo de la vida.

A mi segundo hogar, mi amada FES Iztacala que me arropó, me hizo una persona profesional en todo sentido, por llevarme alcanzar el conocimiento a niveles impensables, por hacerme amar mi carrera sobre todas las cosas, por ofrecerme las mejores vivencias con los mejores amigos y profesores en esta etapa tan importante de mi vida, por hacerme lo que soy ahora y especialmente, por darme una segunda oportunidad de probarme a mí mismo que soy digno de haber estado aquí.

Nunca me digas que no puedo, nunca me digas que creer.  
no ves que ya tengo miedo, no me pongas tus cadenas.  
Perdóname si no te sigo, pero me aburre caminar,  
me construí unas alas de cartón  
y voy a intentar llegar al sol, aunque me muera de calor.  
Zoé - Nunca

# ÍNDICE

RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
MARCO TEÓRICO .....	3
El consumo del agua embotellada en la Zona Metropolitana del Valle de México .....	3
Las purificadoras grandes y locales en México .....	5
Procesos de desinfección del agua embotellada .....	6
<i>Desinfección con UV</i> .....	10
<i>Desinfección con ozono</i> .....	13
<i>Tratamiento con Ósmosis Inversa</i> .....	15
Amibas de Vida Libre (AVL) .....	20
<i>Ecología</i> .....	20
<i>Ciclos de vida</i> .....	22
<i>Acanthamoeba</i> .....	22
<i>Naegleria</i> .....	24
<i>Balamuthia mandrillaris</i> .....	26
<i>Sappinia pedata</i> .....	27
Importancia Médica .....	28
Enfermedades .....	29
<i>Meningoencefalitis amibiana primaria</i> .....	29
<i>Encefalitis amibiana granulomatosa</i> .....	29
<i>Queratitis amebiana</i> .....	30
<i>Otras Infecciones</i> .....	30
<i>Amibas como vectores de patógenos</i> .....	30
Clasificación Taxonómica .....	32
ANTECEDENTES .....	33
JUSTIFICACIÓN.....	34
OBJETIVOS.....	35
General.....	35
Particulares.....	35

MATERIALES Y MÉTODOS .....	35
Toma de muestra.....	35
Trabajo de laboratorio.....	36
<i>Aislamiento</i> .....	36
<i>Identificación</i> .....	36
<i>Prueba de flagelación</i> .....	37
<i>Prueba de patogenicidad</i> .....	37
<i>Histogramas</i> .....	37
RESULTADOS.....	39
Amibas de vida libre.....	39
Parámetros Fisicoquímicos.....	44
<i>Conductividad</i> .....	46
<i>pH</i> .....	47
<i>Cloro Libre Residual</i> .....	48
<i>Sólidos Disueltos Totales</i> .....	48
Encuestas .....	49
DISCUSIÓN .....	51
CONCLUSIONES .....	56
REFERENCIAS CITADAS .....	57
ANEXOS.....	69

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ley de Chick y las desviaciones comúnmente encontradas (Bitton, 1999). .....	9
Figura 2. Operación y diseño UV (Hoffmann et al., 2004). .....	12
Figura 3. Flujo del agua dentro de las membranas (Sypysa, 2019).....	17
Figura 4. Etapas dentro de la membrana de OI (Sypysa, 2019).....	18
Figura 5. Ciclo de vida de <i>Acanthamoeba</i> (Bonilla y Ramírez, 2014). .....	24
Figura 6. Ciclo de vida de <i>Naegleria fowleri</i> (Bonilla y Ramírez, 2014). .....	25
Figura 7. Ciclo de vida de <i>Balamuthia mandrillaris</i> (Bonilla y Ramírez, 2014). .....	26
Figura 8. Ciclo de vida <i>Sappinia pedata</i> (Bonilla y Ramírez, 2014). .....	28
Figura 9. Porcentaje de muestras positivas y negativas para la presencia de AVL en M1 y en M2. ....	39
Figura 10. Frecuencia de aislamiento de las especies de AVL.....	42
Figura 11. Valores de Conductividad en los garrafones positivos para AVL. ....	47
Figura 12. Valores de pH en los garrafones positivos para AVL.....	47
Figura 13. Valores de Cloro Libre Residual en los garrafones positivos para AVL. .....	48
Figura 14. Valores de Sólidos Disueltos Totales en los garrafones positivos para AVL.....	49
Figura 15. Lugar de adquisición del garrafón de agua.....	49
Figura 16. Duración de los garrafones entre los usuarios. ....	50
Figura 17. Limpieza del dispensador.....	50

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales métodos de desinfección (Martínez-Melgarejo, 2016). .....	7
Tabla 2. Ventajas y desventajas de la desinfección con ozono (Martínez-Melgarejo, 2016). .....	15
Tabla 3. Porcentajes de eliminación de contaminantes del agua mediante Osmosis Inversa y los riesgos a la salud del consumidor (Sypysa, 2019). .....	16
Tabla 4. Comparación de características clínicas y patológicas entre MEAP, EAG, y QA (Martínez y Visvesvara, 1997; Bonilla y Ramírez, 2014). .....	31
Tabla 5. Clasificación de los eucariontes desde los rangos más altos de acuerdo con Adl et al., 2012. ....	32
Tabla 6. Presencia de AVL en M1 y M2 de los garrafones analizados. ....	40
Tabla 7. Riqueza específica y clasificación de las Amibas de Vida Libre aisladas (Smirnov et al., 2011; Adl et al., 2012). ....	41
Tabla 8. Especies de AVL aisladas de los garrafones analizados. ....	43
Tabla 9. Resultados de Parámetros Físicoquímicos de Conductividad, pH, Cloro libre residual y Sólidos disueltos totales (SDT).....	44
Tabla 10. Medidas de tendencia central para parámetros físicoquímicos de Conductividad, pH, Cloro libre residual y Sólidos disueltos totales (SDT). ....	46
Tabla 11. Límites permisibles de características microbiológicas (NOM-127-SSA1-1994).....	69
Tabla 12. Límites permisibles de características físicas y organolépticas (NOM-127-SSA1-1994). ....	69
Tabla 13. Límites permisibles de características químicas (NOM-127-SSA1-1994). .....	70

# RESUMEN

Actualmente México ocupa el primer lugar a nivel mundial en consumo de agua embotellada ocupando así el nivel más alto en consumo per cápita. Las distintas empresas de agua embotellada han encontrado un negocio muy lucrativo gracias a la necesidad de tener agua de calidad para el consumo. Estos negocios recurren a la desinfección para la reducción del número de microorganismos patógenos como: bacterias, hongos, virus y protozoos. De estos últimos se destacan las Amibas de Vida Libre (AVL), que son organismos eucariotas, unicelulares. Estas amibas tienen la habilidad de vivir como organismos de vida libre y como endoparásitos, es decir, pueden causar enfermedades en el humano. A la fecha, se han descrito 4 géneros que contienen especies potencialmente patógenas para el hombre y los animales, *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, algunas especies del género *Acanthamoeba* y *Sappinia pedata*.

El objetivo de la tesis fue determinar las Amibas de Vida Libre en agua embotellada de garrafón distribuidas en la Zona Metropolitana del Valle de México. Se muestrearon 47 garrafones de 20 litros, de purificadoras grandes y pequeñas locales. Se tomaron dos muestras de cada garrafón, una al abrir el garrafón y otra a la mitad del consumo de agua. También se tomaron muestras para el análisis de los parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad, cloro libre residual y sólidos disueltos totales. Las AVL se aislaron utilizando el medio de cultivo Agar no nutritivo y se identificaron morfológicamente. De las 94 muestras, el 53% fueron positivas en ambas muestras, 13% resultaron negativas en la primera muestra, pero positivas en la segunda muestra y el 34% resultaron negativas. Se determinaron 15 especies de 12 géneros. Siendo la especie *Vermamoeba vermiformis* la más frecuente. Se encontró la especie *Acanthamoeba polyphaga*, que ha sido reportada como patógena, pero en la prueba de patogenicidad no fue patógena. Los parámetros fisicoquímicos se encontraron dentro de los valores adecuados para la presencia de amibas de AVL. La presencia de AVL en el agua de garrafón no debería de existir, porque este tipo de agua se vende como agua para el consumo humano y debe estar libre de cualquier tipo de microorganismo. Por lo que es necesario considerar un control amebológico del agua embotellada de garrafón.

# INTRODUCCIÓN

El constante crecimiento de la población humana y su desarrollo tecnológico ha llevado a un aumento mundial de la demanda de agua potable de buena calidad. No obstante, la cantidad relativamente pequeña de agua dulce disponible, su distribución desigual, hace que cubrir la demanda se convierta en un verdadero reto para las naciones en América del Norte y Central sobre el vital líquido (Gaytán *et al.*, 1997).

Actualmente México ocupa el primer lugar a nivel mundial en consumo de agua embotellada. El cambio en las formas de consumo se inició hace treinta años, ocupando así el nivel más alto en consumo per cápita (Montero-Contreras, 2016).

Las distintas empresas embotelladoras de agua potable han encontrado un negocio muy remunerable a partir del vacío de información sobre la calidad del líquido surtido por la red de distribución pública (Tourliere, 2015), sin embargo, existe una inquietud cada vez mayor sobre la calidad microbiológica del agua (Tsai y Yu, 1997).

Dentro del grupo de los protozoos están las Amibas de Vida Libre (AVL), que son organismos eucariotas, unicelulares. Las AVL tienen la habilidad de vivir como organismos de vida libre y como endoparásitos, es decir, pueden causar enfermedades en el humano, Page (1988). A la fecha, se han descrito 4 géneros que contienen especies potencialmente patógenas para el hombre y los animales. *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, algunas especies del género *Acanthamoeba* y *Sappinia pedata* (Bonilla y Ramírez, 2014).

En comparación con otras enfermedades causadas por protozoos, las infecciones causadas por AVL destacan por su amplia distribución, extrema virulencia y falta de tratamiento efectivo (Martínez y Visvesvara, 1997). Por otro lado, se ha demostrado que las AVL participan como vectores de diferentes especies de bacterias actuando como endosimbiontes de las AVL (Barker *et al.*, 1992). Algunas de estas bacterias son *Legionella pneumophila*, *Vibrio cholerae* y *Mycobacterium avium* (Greub y Raoult, 2004; Hsu *et al.*, 2011).

# MARCO TEÓRICO

## El consumo del agua embotellada en la Zona Metropolitana del Valle de México

La Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) es el centro económico, financiero, político y cultural de México. Con respecto a su población, es la tercera zona metropolitana más grande de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) y la más grande del mundo fuera de Asia. Abarcando alrededor de 7 866 km<sup>2</sup>. Comprende las 16 alcaldías de la Ciudad de México, 59 municipios del Estado de México y un municipio del Estado de Hidalgo (CONAPO, 2010).

La ZMVM se encuentra en una cuenca endorreica artificialmente abierta a 2300 metros sobre el nivel del mar (msnm), la cual se encuentra rodeada de montañas de hasta 5600 msnm (Gaytán *et al.*, 1997).

Una serie de problemas han estresado mucho a la Ciudad de México desde el siglo XVII. Las aguas residuales y el agua de lluvia sin explotar han tenido que ser descargadas fuera de la cuenca para evitar inundaciones en las áreas más bajas de la Ciudad durante la temporada de lluvias de verano (Gaytán *et al.*, 1997).

Hoy en día, los suministros de agua subterránea están sobregiradas, los bosques restantes cercanos están bajo una fuerte presión de deforestación, y la población sigue aumentando debido tanto a las altas tasas de natalidad como a la inmigración incontrolable (Gaytán *et al.*, 1997).

Los problemas mencionados conducen a una disminución de la recarga de acuíferos. Obligando a la importación de agua de zonas más bajas y distantes. Que a la vez se traduce en un aumento de los costes energéticos, económicos y ecológicos. Por lo tanto, están cargando al Valle de México, con un impacto a nivel nacional, particularmente considerando que el 20% de la población de México vive en la Ciudad (Gaytán *et al.*, 1997).

Se considera que el acceso al agua es un derecho universal. Asimismo, el tener una buena gestión del agua es una de las condiciones que fomenta el desarrollo humano sostenible, pues garantiza que el recurso tenga una mejor calidad, que llegue a todos los ciudadanos y que el recurso sea sustentable a lo largo del tiempo (De la Rosa-Montiel, 2014).

Para que esto se logre es necesario que se cuente con instituciones y legislaciones adecuadas en la distribución del agua. Sin embargo, a pesar de que el Sistema de Aguas de la Ciudad de México, en sus evaluaciones y reportes de calidad del agua, aseguren que el agua que se distribuye por la red es apta para uso y consumo humano, la percepción de la gente es distinta y no la considera como agua potable (SACMEX, 2017; De la Rosa-Montiel, 2014).

La población al no contar con la información que le dé la certeza de que se está recibiendo agua de calidad, opta por consumir el agua embotellada, ya sea de purificadoras locales o de grandes empresas multinacionales. El consumo de agua embotellada tiene un impacto negativo importante en el ingreso de las familias, el cual puede llegar a representar un importante porcentaje del ingreso (hasta 10% para las familias con más bajos ingresos) (Enciso, 2010).

El gran auge del consumo en el agua embotellada en México se considera a partir de dos grandes sucesos: el sismo de 1985 y la epidemia del Cólera en 1991, desde entonces se ha tenido un incremento potencial del vital líquido en toda la sociedad mexicana, lo cual también ha provocado una desatención por parte de los gobiernos federales, estatales y municipales a los sistemas públicos para el acceso a agua potable (Torres-Mercado, 2015; Barragán, 2015). Desde estos años, el consumo del agua embotellada se ha incrementado tanto, que da la impresión de que el Gobierno ha delegado su responsabilidad a las empresas privadas de proveer “agua de calidad” para consumo humano en la ZMCM y en todo el país (De la Rosa – Montiel, 2014).

## Las purificadoras grandes y locales en México

Las purificadoras grandes forman parte de las empresas trasnacionales que llegaron a México cuando se dio el auge de las compañías refresqueras en distintos puntos del mundo. Estas compañías también tienen como productos, agua embotellada en diferentes presentaciones, incluyendo la presentación de garrafones de 20 L. La relación que tienen con las purificadoras locales es estrecha, pues comparten el mercado del agua embotellada con las locales.

Las purificadoras locales son pequeños negocios que se dedican a la desinfección, embotellamiento y distribución de agua en garrafones de 20 litros. Se caracterizan por operar de forma local y sus precios de venta son más económicos que los de las grandes purificadoras, se encuentran entre 7 y 15 pesos. Sus orígenes responden al reforzamiento de creencias sobre la mala calidad del agua potable. Encontrando así un área de oportunidad en los hogares de bajos ingresos en México, sin tener la certeza sobre su calidad. Junto con las purificadoras grandes han aprovechado el nicho de mercado que inició a finales de la década de los noventa. Estas purificadoras por norma deben exhibir un documento que avale la calidad del agua que ofrecen al consumidor. El documento les da una certeza del producto para que los clientes consuman su producto, aun cuando no esté correctamente acreditada la calidad. El bajo control que tienen las instituciones públicas en estos negocios, como la Secretaría de Salud, puede poner en duda la veracidad y actualización de este documento (Montero-Contreras, 2017).

A pesar de que la mayoría de las purificadoras locales no contemplan algún plan estratégico de expansión ni la creación de alguna red de distribución, están distribuidas en todo el país. La mayoría no presentan relación con otras purificadoras locales, pero han logrado expandirse individualmente y mantener su mercado en todo el país. El funcionamiento de muchas de ellas es irregular, ya que varias no están registradas y no todas cumplen con la norma sanitaria establecida (Montero-Contreras, 2017).

No existe información detallada sobre los orígenes de las purificadoras locales, pero se cree que comenzaron a mediados de la década de 1990. En esta década, México

no contaba con información institucional sobre la calidad del agua de la red pública. También las transnacionales de agua embotellada bombardeaban de abundante publicidad a la población lo que aprovecharon estas purificadoras locales (Montero-Contreras, 2017).

La publicidad estaba orientada a un consumo masivo de agua embotellada, reforzando la creencia en la población de que el agua embotellada era de mejor calidad que la de la red pública. Cuando las purificadoras locales entraron al mercado, la percepción sobre la mala calidad del agua de la red pública ya estaba difundida por las empresas transnacionales a través de su publicidad y mercadotecnia. Por lo tanto, lo único que hicieron fue reafirmar y ampliar la oferta de agua purificada, pero a menor precio, con lo que se arraigaba aún más el hábito de consumo de agua embotellada (Montero-Contreras, 2017). Las purificadoras grandes se dedican al abasto de las clases medias y altas, y las purificadoras locales a la población de escasos recursos, abarcando prácticamente la totalidad del mercado (Montero-Contreras, 2017).

## Procesos de desinfección del agua embotellada

El suministro de agua potable implica diversos aspectos entre los que se encuentra su calidad para consumo humano. Para ello se requiere determinar la forma más conveniente de hacerlo, tanto desde el punto de vista técnico como económico (CONAGUA, 2007).

El concepto de desinfección del agua nace de reconocer a las bacterias como agentes causantes de enfermedades, por lo que llevar a cabo su desinfección es muy importante. La amenaza microbiana para el abastecimiento de agua potable aumenta por la probabilidad de contaminación por heces de origen humano o animal que contienen microorganismos dañinos (Martínez-Melgarejo, 2016).

Los efectos de salud humana causados por patógenos transmitidos por el agua varían en severidad, desde una leve gastritis hasta severa y algunas veces diarrea fatal, disentería; para la mayoría de los patógenos transmitidos por agua hay otras

fuentes importantes de infección, como contacto persona a persona y comida (Martínez-Melgarejo, 2016).

La desinfección se puede realizar por aplicación de calor, luz, agentes químicos oxidantes, ácidos y álcalis. Iones metalizados o contactos con superficies activadas químicamente. Los procesos por los cuales los organismos patógenos pueden ser inactivados se clasifican como físicos y químicos. La tabla 1 indica los principales métodos que existen de desinfección (Martínez-Melgarejo, 2016).

*Tabla 1. Principales métodos de desinfección (Martínez-Melgarejo, 2016).*

<b>Principales métodos de desinfección.</b>	
<b>Métodos Físicos.</b>	Filtración
	Temperatura
	Sedimentación
	Radiación (solar, luz UV, gamma)
	Procesos Electrolíticos
	Osmosis Inversa
<b>Métodos Químicos</b>	Yodo
	Bromo
	Plata ionizada
	Ozono
	Cloro

La desinfección es un proceso diseñado para la reducción del número de microorganismos patógenos. Mientras que otros procesos de tratamiento de agua, como la filtración o la coagulación-floculación-sedimentación, pueden lograr una reducción en los patógenos, pero no es su objetivo primordial. El objetivo de la desinfección de agua para consumo humano es para prevenir que las personas se infecten por microorganismos patógenos que son transmitidos por la ruta del agua. Por el proceso de desinfección del agua los microorganismos son inactivados; esto

quiere decir que estos microorganismos inactivados han perdido su poder de infección y ya no son una amenaza para los humanos (Martínez-Melgarejo, 2016).

Para realizar la desinfección se debe de tomar en cuenta algunos factores importantes que permitan realizar este proceso, como son:

- Tiempo de contacto.

Probablemente sea una de las variables más significativas en el proceso de desinfección. Se ha observado que para una concentración dada de desinfectante mientras mayor es el tiempo de contacto mayor será la eficiencia de desinfección.

- Tipo y Concentración del Agente Químico.

Dependiendo del agente químico, se ha observado que la eficiencia de la desinfección está relacionada con la concentración del agente.

- Intensidad y Naturaleza del Agente Físico.

La efectividad de los agentes físicos como el calor o la luz UV dependen directamente de su intensidad. Esto quiere decir que, a mayor intensidad, mayor es la constante de inactividad.

- Temperatura.

Al incrementar la temperatura aumenta la velocidad de inactivación. Esta relación, es función del tiempo requerido para afectar determinado porcentaje de los microorganismos.

- Número de Microorganismos

De acuerdo con la ley de Chick, el grado de desinfección del agua, es proporcional al número de microorganismos y la concentración del desinfectante, siempre y cuando la temperatura y el pH del agua permanezcan constantes.

En la mayoría de los casos, los datos muestran una desviación del modelo ideal de Chick como se muestra en la figura 1.

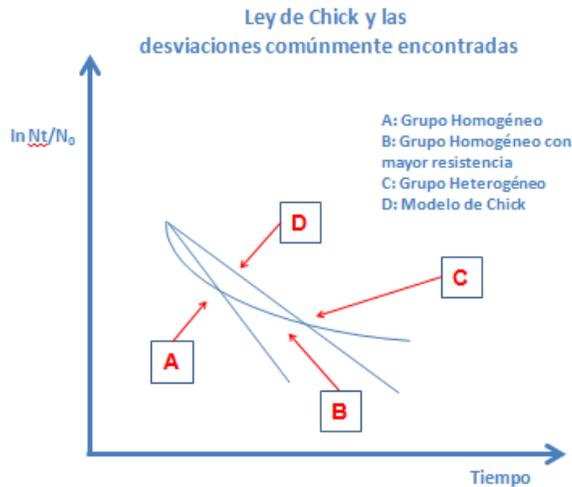


Figura 1. Ley de Chick y las desviaciones comúnmente encontradas (Bitton, 1999).

De acuerdo con las relaciones anteriores se puede decir que, a mayor concentración de microorganismos, mayor tiempo requerirá para inactivarlos.

- Tipo de Microorganismo.

La eficiencia de los diferentes agentes de desinfección es afectada por la naturaleza y condición de los microorganismos. Por ejemplo, las bacterias en crecimiento son inactivadas fácilmente, mientras que las esporuladas son muy resistentes. En estos casos es recomendable utilizar otros agentes desinfectantes.

- Naturaleza del Agua.

El agua deber ser caracterizada apropiadamente antes de aplicar cualquier agente desinfectante. Esto debido a que la presencia de diversos compuestos o materia orgánica pueden afectar en la eficiencia de desinfección.

Para denotar una buena desinfección del agua se ha establecido en una reducción de concentración de bacterias y virus patógenos de 4 log (99.9%) y una reducción de protozoarios de 3 log (99.9%) (EPA, 1999).

Los procesos de desinfección más usados en la producción de agua embotellada de garrafón son: Desinfección con ultravioleta (UV), ozono y osmosis inversa.

## Desinfección con UV

El efecto biocida de la radiación ultravioleta (UV) ha sido conocida desde que fue establecida que una pequeña longitud de onda era responsable de una descomposición microbiana generalmente asociada con luz solar (Martínez-Melgarejo, 2016).

La radiación UV se ha usado comercialmente durante muchos años en industrias como la farmacéutica, de cosméticos, de bebidas y electrónica. A inicios de 1940 se diseñaron propuestas para la desinfección con luz UV (Huff *et al.*, 1965), pero se abandonó por los altos costos de operación, los problemas de mantenimiento y la falta de disponibilidad de equipo. Pero, la razón más importante fue que la cloración resulto ser más eficiente y rentable para grandes volúmenes de agua (Rajeshwar e Ibáñez, 1997).

La mayoría de las plantas de potabilización a nivel mundial utilizan cloro como desinfectante por su simplicidad de aplicación y bajo costo. Sin embargo, tiene la desventaja de generar productos secundarios denominados organoclorados que se consideran carcinógenos. Como una alternativa existe la luz ultravioleta, la cual sin generar subproductos es efectiva para inactivar organismos patógenos y no tiene la necesidad de almacenar o manejar reactivos químicos peligrosos y por sus cortos tiempos de contacto, reduce el tamaño de los tanques de tratamiento y con ello los costos (CONAGUA, 2007).

El incremento en la aceptación en el uso de UV para la desinfección de agua potable en el mundo se debe entre otras ventajas, a un mejor entendimiento en el proceso y su alta calidad de las plantas de desinfección con UV (Sommer *et al.*, 2008).

Los cambios fotoquímicos inducidos por la radiación ultravioleta en el material nuclear de un organismo son especialmente en el ADN y el ARN. La radiación UV penetra la pared celular de los organismos y es absorbida por el ADN y el ARN dimerizando las bases, lo cual impide la reproducción o produce la muerte de la célula.

La formación de muchos dímeros a lo largo de la cadena de ADN hace que la duplicación sea muy difícil pues la estructura helicoidal se encuentra distorsionada. Una célula que no se puede duplicar o reproducir se considera muerta, aunque en este caso se acostumbra a decir que ha sido “inactivada”, debido a que es incapaz de multiplicarse e infectar al huésped (Martínez-Melgarejo, 2016).

La cantidad de daño celular depende de la energía absorbida por los microorganismos, así como por su resistencia a la luz UV. Los microorganismos responden de diferente manera a la luz UV debido a la diferencia de su estructura física. La dosis requerida parece aumentar con el tamaño de la célula, así como la cantidad de ADN y ARN. La mayoría de las bacterias y virus requieren dosis relativamente bajas.

En toda desinfección, el grado germicida depende de la dosis del agente desinfectante. En este caso, la dosis de luz UV se define como el producto de la intensidad de la luz por el tiempo de exposición.

La luz UV es generada por el paso de una descarga eléctrica a través de vapor de mercurio ionizado mezclado con un gas noble. Debido a que los gases de presión atmosférica no son buenos conductores de electricidad se requiere un aparato especial llamado tubo de gas de descarga o lámpara germicida para presurizar. Este tubo es de vidrio y tiene dos electrodos sellados a sus paredes. Generalmente, este se instala dentro de una camisa de cuarzo para protegerlo de los efectos del agua (Fahey, 1990).

El proceso de diseño y operación de un sistema de desinfección por UV se ilustra en la figura 2. Cada uno de los elementos mostrados en la figura requieren de un acercamiento que es substancialmente diferente de acercamientos equivalentes para la desinfección química (Hoffmann *et al.*, 2004).

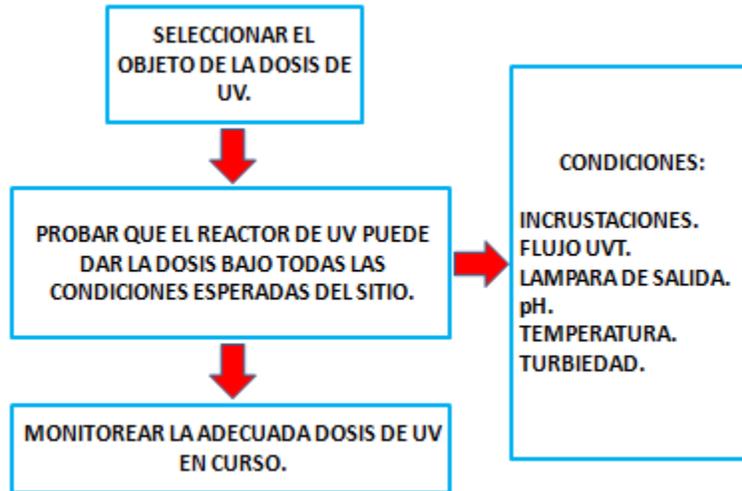


Figura 2. Operación y diseño UV (Hoffmann et al., 2004).

Dos diferentes técnicas de radiación por UV son usadas para la desinfección de agua: lámparas de baja presión de cuasi cromática a 253.7 nm y lámparas de presión baja con emisión policromática. En el último caso, es incluso complejo determinar la influencia microbicida del UV, desde que la longitud de onda responde distinto en la inactivación de microorganismos (Sommer *et al.*, 2008).

Una vez que se ha determinado la dosis, el reactor UV debe probar que puede proveer esa dosis bajo el rango de las condiciones de operación esperada. Desafortunadamente no hay un método en línea para medir de manera certera la dosis de UV dada. El reactor, por esta razón, debe ser probado simulando la operación a escala real, vertiendo microorganismos en el flujo y midiendo su inactivación a través del reactor bajo diferentes condiciones. Esto es llamado prueba de biosimetría, y es parte del proceso de la validación del reactor. La medición de inactividad microbiana se relaciona con un sensor de lecturas de UV en el reactor, y los puntos de operación de este sensor son determinados para diferentes condiciones de operación en un mínimo de dosis UV requerida (Martínez–Melgarejo, 2016).

Una vez que el reactor se ha validado, son usualmente operados bajo condiciones de factores que se espera que afecten la desinfección UV como:

- La potencia de salida de la lámpara.
- Ritmo de flujo.
- Transmisión Ultravioleta (UVT). UVT es la fracción de luz que no es absorbida a cierta distancia del agua. El agua limpia tiene un alto nivel de UVT (típicamente de 90% a 95%/cm).

Los efectos para cada uno de los parámetros son definidos explícitamente durante las pruebas de validación del reactor, y el sistema de UV es diseñado para adaptarse dentro del rango de estas condiciones (Martínez–Melgarejo, 2016).

## Desinfección con ozono

El ozono fue usado por primera vez como tratamiento de agua potable en 1893 en los Países Bajos. El uso del ozono es primordialmente para la desinfección y la oxidación, sin embargo, en EUA los primeros acercamientos de ozono fueron para remover el color, sabor y un control en el olor. En México, el ozono se ha comenzado a aplicar como oxidante en plantas pequeñas de potabilización con problemas de alta contaminación orgánica y de color (Martínez–Melgarejo, 2016).

En la secuencia de potabilización del agua, el ozono puede aplicarse en tres puntos distintos:

1. Preozonación. Aplicación en cabeza de tratamiento. Puede suministrarse en la toma de agua para proteger a las líneas de conducción que llevan a la estación potabilizadora de posibles crecimientos microbianos, para el control de olores y sabores y como una primera desinfección; sin embargo, lo más común es aplicar la preozonización como primera etapa de la misma planta de tratamiento, utilizándose principalmente para la eliminación de Fe y Mn, para el control de olores y sabores, como ayuda del proceso de coagulación y como desinfectante.

2. Ozonación Intermedia: Se aplica antes de la etapa de filtración. Se utiliza principalmente para oxidar la materia orgánica natural, aumentando la biodegradabilidad y favoreciendo su eliminación biológica en los filtros, lo cual ha llevado a designar dicho proceso como BAC (Carbón Activado Biológico); también se puede usar para la eliminación de micro contaminantes orgánicos y para eliminar Fe y Mn en aguas con alto contenido de oxidación de materia orgánica natural.
3. Postozonación: Aplicación al final de la secuencia de tratamiento. Se usa exclusivamente para la desinfección, sobre todo en Europa. En Estados Unidos, la desinfección principal se lleva a cabo mediante ozonización.

Cada vez es más común en Europa y en E.E.U.U. la utilización de ozono en dos puntos de la secuencia de tratamiento: Preoz/Postoz, Preoz/Oz y Oz. Inter/Postoz; incluso algunas plantas de Francia utilizan la ozonación simultánea en los tres puntos de aplicación (Martínez–Melgarejo, 2016).

El ozono es un poderoso oxidante capaz de alcanzar la desinfección en menos tiempo de contacto y concentración que otros desinfectantes, como el cloro, o monocloramias” (De Mers y Renner, 1993; EPA, 1999). Por otro lado, el ozono no puede ser usado solamente como desinfectante primario pues no puede mantener un residual en el sistema de distribución. Por esto, Martínez-Melgarejo (2016), menciona que la desinfección con ozono debe ser usada a la par con un desinfectante secundario, como el cloro, cloramias, o dióxido de cloro para completar el sistema de desinfección. El ozono se aplica como desinfectante primario con el propósito de destruir los compuestos que dan lugar a la aparición de organoclorados durante la cloración final del agua.

La eficiencia de desinfección del ozono es alta, en tiempos cortos. La razón por la que la rapidez de acción es tan distinta entre el ozono y el cloro se debe a que, aunque ambos son oxidantes, el mecanismo de destrucción es diferente (Martínez-Melgarejo, 2016).

La inactivación de bacterias por ozono es atribuida a una reacción de oxidación (EPA, 1999). Atacando primeramente la membrana bacteriana (Giese y

Christensen, 1954; EPA, 1999). Además, el ozono irrumpe la actividad enzimática de la bacteria actuando en el grupo sulfhidrilo de ciertas enzimas. Mas allá de la membrana y la pared celulares, el ozono puede actuar en el material nuclear dentro de la célula (Martínez–Melgarejo, 2016). Existen varias ventajas en el uso del ozono, aunque también existen algunas desventajas (Tabla 2).

*Tabla 2. Ventajas y desventajas de la desinfección con ozono (CONAGUA, 2007).*

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Ser un fuerte oxidante que reacciona rápidamente con la mayoría de los compuestos orgánicos y microorganismos presentes en las aguas naturales.	Los costos
No imparte sabor ni olor al agua	El rendimiento del equipo generador del ozono
Posee mayor poder desinfectante que el cloro y sus derivados.	La calidad de los métodos de inyección de gas.

## Tratamiento con Ósmosis Inversa

La osmosis inversa (OI) es un fenómeno natural donde el agua pasa a través de una membrana semi-permeable desde una solución menos concentrada a una solución más concentrada. El proceso y/o funcionamiento de una osmosis inversa industrialmente es simplificado de la siguiente manera, la solución concentrada pasa por una membrana por medio de una presión ejercida para obtener una solución diluida donde se eliminan esencialmente todos los organismos patógenos y la mayoría de los precursores de trihalometanos, subproductos de la desinfección, sales y otros solutos del agua; también excluye la alcalinidad de carbonatos, pero deja pasar todos los gases disueltos como el dióxido de carbono y sulfuro de hidrógeno para obtener agua purificada que no tiene casi alcalinidad, posee turbidez por sulfuros y no tiene un residual de desinfección y de ahí la necesidad del postratamiento. Por cada litro que entra a un sistema de osmosis inversa se obtiene 750 mL de agua de alta calidad (Enríquez- Vázquez, 2020).

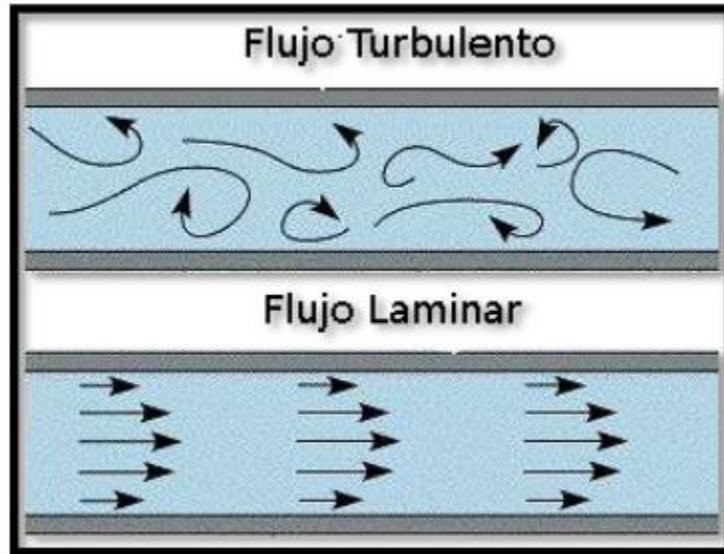
En la tabla 3 se muestra el porcentaje de eliminación por osmosis inversa de algunos contaminantes que se encuentran presentes en el agua y el riesgo que representan a la salud humana.

*Tabla 3. Porcentajes de eliminación de contaminantes del agua mediante Osmosis Inversa y los riesgos a la salud del consumidor (Sypysa, 2019).*

<b>Contaminantes presentes en el agua</b>		
<b>Riesgo alto a la salud,</b>	<b>Riesgo moderado a la salud</b>	<b>Riesgo bajo a la salud.</b>
Arsénico 94-96%	Fosfato 98-100%	Fluoruro 88-93%
Bacterias 100%	Manganeso 95-99%	Hierro 95-99%
Detergentes 96-98%	Plata 93-97%	Magnesio 96-99%
Plomo 96-98%	Sodio 93-95%	Potasio 87-90%
Mercurio 96-98%		Silicato 85-90%
Cromo 95-98%		Sulfato 96-98%
Herbicidas 96-97%		Turbidez 98-99%
Pesticidas 96-98%		
Selenio 95-99%		
Cobre 85-95%		
Insecticidas 96-99%		
Aluminio 96-99%		
Cianuro 85-90%		
Nitratos 92-95%		
Sulfhídricos 96-98%		
Amoniaco 85-91%		
Disolventes 95-98%		
Níquel 98-99%		
Trihalometano 96-99%		

Durante la operación, los diferentes tipos de flujo forman una parte importante como son: Laminar y Turbulento como se observa en la figura 3 (Sypysa, 2019).

El flujo laminar es aquel fluido que lleva un orden en una misma dirección y suave, se mueve en una misma trayectoria paralela sin mezclarse. El flujo turbulento es aquel fluido que no lleva ningún orden y las trayectorias van formando pequeños remolinos en el interior de la tubería lo que ayuda a limpiar la membrana que disminuye los gastos de mantenimiento y de productos químicos para la limpieza de las membranas. Además, ayuda a alargar la vida útil de las membranas (Enríquez-Vázquez, 2020).



*Figura 3. Flujo del agua dentro de las membranas (Sypysa, 2019).*

El proceso para cambiar de flujo laminar a turbulento y viceversa se controla por una válvula reguladora, se le conoce como “flushing”, que traducido al español sería un enjuague de membranas realizado por el flujo dentro de las membranas, trabaja de la siguiente forma, cuando la válvula está abierta se genera un flujo turbulento. Cuando la válvula se encuentra restringida, dependiendo del rechazo que se quiere tener se produce un flujo laminar. La calidad del agua como producto final va de la mano con el flujo de alimentación, el agua de alimentación que es aquella que pasa por las membranas se divide en 2, el agua tratada (permeado) es la calidad del agua como producto final y agua sobresaturada de sales (rechazo)., (Figura 4) (Sypysa, 2019).

Mientras más alta sea la presión aplicada, más grande será el flujo del agua. Sin embargo, la capacidad de presión es limitada. Además, se puede presentar un incremento en la temperatura, algunos tipos de membranas tienen un rango de operación óptimo, pero la mayoría está entre 21 a 30 °C, arriba de la temperatura de 38 °C comienza a deteriorarse la membrana (Sypysa, 2019).

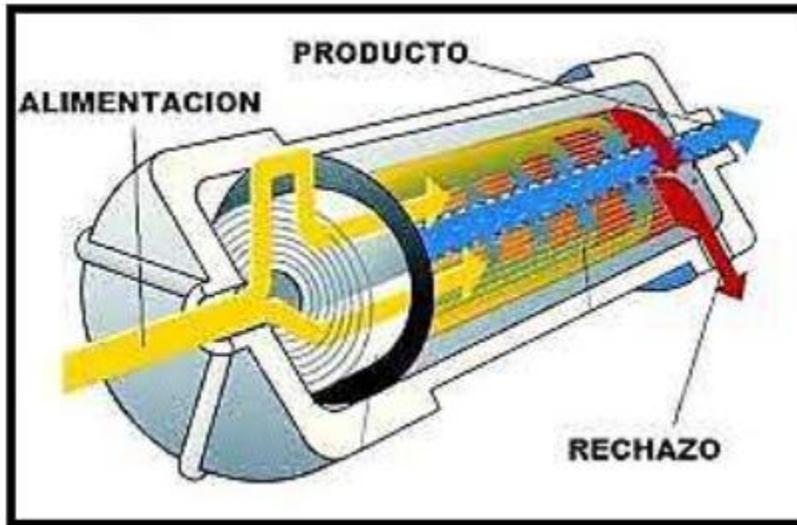


Figura 4. Etapas dentro de la membrana de OI (Sypysa, 2019).

Las variables involucradas en el diseño de una planta de osmosis inversa más importantes son los siguientes: Control en el monitoreo del caudal, la presión, la conductividad, la temperatura, el pH, análisis fisicoquímicos específicos y los tiempos de operación (Sypysa, 2019).

La calidad del pre-tratamiento debe de considerar los siguientes puntos:

1. Eliminar el exceso de turbidez.
2. Ajuste de pH y la temperatura.
3. Mantener una alimentación de flujo constante.
4. Rangos de presión para operarlo (Condiciones promedio).

El pos-tratamiento del agua permeada por lo general implica un ajuste, del pH una desgasificación para eliminar el dióxido de carbono y una desinfección para el proceso de embotellar para el consumo (Enríquez-Vázquez, 2020).

Los principales componentes del equipo son los siguientes:

- Filtros cartucho.

También conocidos como pulidores. Tienen la función de retener sedimentos e impurezas. También existen cartuchos para aplicaciones especiales como la

suavización del agua, usualmente son de materiales desechables, aunque en algunos casos pueden ser lavables y reutilizables (Sypysa, 2019).

- Anti-incrustante.

Sirven para evitar la incrustación y reducir la suciedad de las membranas como carbonato de calcio, sulfato de calcio, sulfato de bario, fluoruro de calcio, sílice e hidróxidos de hierro y aluminio, para reducir al mínimo los gastos de limpieza química, alargando la vida útil de la membrana, su forma de dosificarlo es directamente en línea lo que garantiza la fiabilidad de funcionamiento (Sypysa, 2019).

- Contenedor o Portamembranas.

Son donde se colocan las membranas. Se caracterizan por soportar distintos rangos de presión que van desde (30 – 100 psi ò 2 – 6 bar), para superar la presión osmótica que va con la relación de galones por minuto que se desean tratar. Actualmente existen diferentes materiales con los que se fabrican las portamembranas como: acero inoxidable, fibra de vidrio, PVC, etcétera (Enríquez-Vázquez, 2020).

- Membranas.

Funcionan como una pared que retiene algunas impurezas que pueden atravesar la membrana o quedar atrapadas en ellas, la presión con la que logran pasar estas sustancias es llamada como “*presión osmótica*”. Actualmente existen, una gran variedad de membranas, pero se pueden dividir en 3 configuraciones como son las membranas tubulares, espirales y fibra hueca. Los materiales con los que se fabrican son hidrofílicos y juegan un papel muy importante en el proceso por su composición física y química determinando la permeabilidad de esta (Enríquez-Vázquez, 2020).

## Amibas de Vida Libre (AVL)

Entre los microorganismos que pueden contaminar el agua embotellada además de las bacterias y virus se encuentran las Amibas de Vida Libre (AVL) que son protozoos eucariotas, unicelulares generalmente sin color. Estos organismos se presentan de diferentes formas: Alargadas, reniformes, piriformes, estrelladas u otras más. En general presentan mitocondrias tubulares, aparato de Golgi y peroxisomas. Su movimiento es por medio de flagelos o pseudópodos (Sígala-Regalado, 2008).

El tamaño de las amibas varía en gran medida, pero su naturaleza unicelular limita la talla que llegan alcanzar. La mayoría de las especies en su fase trófica tienen tamaños en el intervalo de 6 a 30  $\mu\text{m}$  y en su fase quística de 6 a 20  $\mu\text{m}$ , aproximadamente. Sin embargo, existen excepciones que pueden llegar a medir hasta cerca de 1 mm de longitud e incluso ser visibles a simple vista. Se han observado algunas variaciones de la especie entre aquellas amibas que se encuentran en un cultivo por algún tiempo con respecto a las que se encuentran en su hábitat natural, lo que se le atribuye a la presencia de alimento, y de ciertas condiciones ambientales, favoreciendo un aumento en la talla (Page, 1988).

## Ecología

Las AVL son cosmopolitas que habitan en ambientes húmedos como el suelo y el agua, aunque también se pueden encontrar en el aire, vehículo que utilizan como medio de dispersión. Se postula que las amibas llamadas “del suelo”, son especies acuáticas que han invadido hábitats terrestres (Smirnov y Goodkov, 1999; y Smirnov y Brown, 2004). Page (1988) mencionó que no hay diferencias entre las amibas terrestres y las acuáticas. Debido a su habilidad de vivir como organismos de vida libre y como endoparásitos, a las amebas también se les conoce como organismos anfizoicos (Bonilla *et al.*, 2004).

Se les han encontrado como habitantes de estanques, ríos y arroyos, lagos, lagos hipersalinos, piscinas, sistemas de tratamiento de agua residual, cuevas, rizosfera,

corrientes subterráneas, sistemas de ventilación, composta, estuarios, pantanos, musgos, e incluso en agua entubada y embotellada. También han sido aisladas de la atmósfera, aunque seguramente en este caso se trató de aislamientos realizados a partir de quistes (Rivera *et al.*, 1994; Ramírez *et al.*, 2005, 2009, 2014, 2017; Bonilla *et al.*, 2010, 2014; Robles *et al.*, 2019).

Puesto que las AVL son habitantes comunes del suelo, juegan un papel dentro del ciclo de los nutrientes, porque estimulan la tasa de transformación bacteriana del fósforo y del nitrógeno a formas aprovechables para las plantas, lo que produce una mayor producción de biomasa vegetal (Fenchel, 1987; Tyndall *et al.*, 1989). Las amibas de vida libre tienen una gran importancia ecológica. Ocupan un lugar esencial en el circuito microbiano de las comunidades naturales acuáticas. Desempeñan un papel importante en el mantenimiento del flujo de energía y reciclado de los nutrientes. Su eficiencia en el uso de los recursos los convierte en un enlace fundamental entre los organismos desintegradores y aquellos que pertenecen a niveles tróficos superiores. Se alimentan y están asociados con bacterias, cianobacterias, diatomeas, otros protozoos y hongos (Bonilla *et al.*, 2004;).

Las AVL se encuentran en mayor proporción en la capa superficial del agua, debido a la abundancia de nutrientes y al establecimiento de quistes aéreos (Bonilla *et al.*, 2004).

Las amibas se alimentan de bacterias mediante fagocitosis y se multiplican por fisión binaria (Aqeel *et al.*, 2014). De esta forma controlan a las poblaciones de bacterias, por lo que son reconocidas como los más importantes depredadores de bacterias llegando a consumir casi un 50% de la biomasa bacteriana y de la materia orgánica particulada en suspensión (Marciano-Cabral, 1988; Bitton, 1999).

Las AVL son ubicuas en la naturaleza. Las especies patógenas son termotolerantes, aunque no todas las termotolerantes son patógenas (Martínez y Janittschke, 1985). Como ya se hizo mención, su hábitat principal es el suelo y desde ahí pueden llegar a los cuerpos de agua arrastrados por escurrimientos o a través del aire (Rivera *et al.*, 1994; Bonilla, 2000).

Las AVL son más frecuentes en cuerpos de agua con temperaturas por arriba de los 25°C y en aguas naturales de los trópicos y subtrópicos, con niveles óptimos de oxígeno, pH cercano a la neutralidad, alimento suficiente (bacterias y materia orgánica) y humedad; sin embargo, pueden soportar variaciones amplias en cualquiera de los parámetros anteriormente mencionados (Bonilla *et al.*, 2004).

## Ciclos de vida

Básicamente en la naturaleza comprenden de 2 estadios de viabilidad biológica: una forma activa que se alimenta y reproduce llamada “Trofozoito” y una forma de resistencia que es inactiva, llamada “quiste” (Bonilla y Ramírez, 2014).

La formación de quistes es el mecanismo de protección que presentan la mayoría de los protozoos, incluidos las AVL, para protegerse de los cambios ambientales. De esta manera pueden sobrevivir a la ausencia de humedad, cambios extremos de temperatura, presión, pH, falta de oxígeno, acumulación de desechos metabólicos, escasez de alimento o algún factor adverso (Schuster, 1979; Marciano-Cabral, 1988).

En el ciclo más sencillo, el trofozoito se reproduce asexualmente por fisión binaria, dando lugar a 2 células hijas. En el caso de *Naegleria* se presenta un estadio “flagelar” temporal en el que el organismo no se alimenta ni se reproduce, solo le sirve para desplazarse a un mejor microambiente. Las amibas en cualquiera de estas fases en que se encuentren se pueden revertir de una a otra forma dependiendo de los cambios ambientales a los que estén sometidas (Bonilla y Ramírez, 2014).

### *Acanthamoeba*

*Acanthamoeba* es el género de AVL que más ampliamente está representado en nuestro planeta. Se ha aislado de una gran variedad de hábitats: El agua de mar, las aguas dulces de los ríos, aguas estancadas, de albercas, de redes de

abastecimientos, de agua embotellada, de sistemas de aire acondicionado, de plantas, del suelo, del aire, enfriadores de agua, aguas residuales, lagunas, polvo, estaciones de lavado ocular, incluso de la boca y de la nariz de los individuos asintomáticos (Oddo, 2006; Yera *et al.*, 2012).

Con base en los criterios morfológicos se han descrito más de 24 especies pertenecientes a este género, aunque solo algunas son patógenas. En su ciclo de vida presenta dos estadios: Trofozoito y Quiste (Figura 5). El trofozoito mide entre 20 y 56  $\mu\text{m}$  y se caracteriza por la presencia de pseudópodos finos que se denominan acantópodos, usados para la locomoción (Bonilla y Ramírez, 2014).

Forma activa o trofozoito de *Acanthamoeba* tiene un abundante citoplasma con múltiples mitocondrias, lisosomas, rizomas y vacuolas; estas amebas tienen un núcleo redondeado colocado en posición central con un prominente nucléolo (Martínez y Visvesvara, 1997).

El quiste mide 11 a 25  $\mu\text{m}$  de diámetro, presenta una pared doble, entre cuyos componentes se encuentra celulosa. La pared celular externa o ectoquiste es ondulada o arrugada en tanto que la pared interna o endoquiste puede ser estrellada, poligonal, esférica u oval. Los poros se forman en la unión del ectoquiste y el endoquiste y están cubiertos por un opérculo. Los quistes se forman como reacción a condiciones ambientales adversas, como desecación, falta de alimento, presencia de agentes químicos (desinfectantes y antimicrobianos) y agentes físicos (calor, congelamiento y radiación ultravioleta) (Bonilla y Ramírez, 2014).

Los quistes son resistentes a numerosos biocidas, a la cloración del agua potable, radiación ultravioleta, a ciertos antibióticos y antisépticos. Pueden resistir durante 20 años la desecación (Yera *et al.*, 2012).

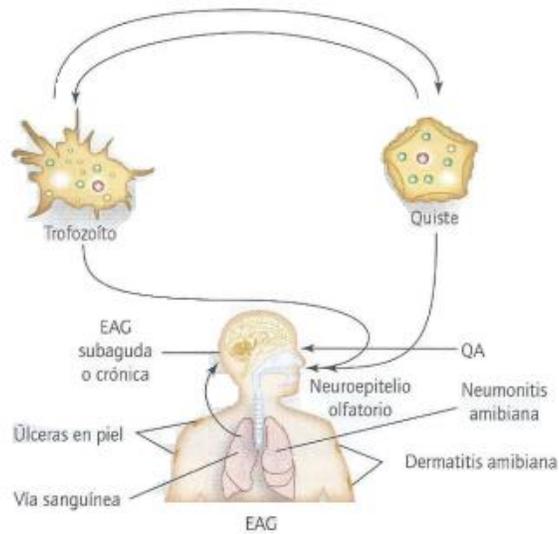


Figura 5. Ciclo de vida de *Acanthamoeba* (Bonilla y Ramírez, 2014).

## *Naegleria*

*Naegleria* es un ameboflagelado de la familia Vahlkampfiidae, que ha sido aislado de muestras de albercas con agua clorada, lagos de aguas termales, depósitos de agua doméstica, aguas contaminadas térmicamente, aguas residuales, suelo, aire, sistemas de humidificación, cultivos celulares, y de las cavidades nasales y garganta de humanos (Hannisch, 1997; Marciano-Cabral, 1988).

Se han identificado más de 30 especies de *Naegleria* en base a su secuencia molecular (De Jonckheere, 2002). Solo una especie *N. fowleri*, ha sido aislada de infecciones en humanos (Schuster, 2002).

Los trofozoítos de *Naegleria* tienen la particularidad de ser termotolerantes, soportando temperaturas hasta de 50°C, con una temperatura óptima de 37°C. *N. fowleri* se desarrolla preferentemente en las aguas calientes ricas en bacterias, en los lagos y los ríos especialmente en verano, en los canales de riego, en las descargas de agua refrigerante de reactores nucleares y en las piscinas donde el agua no es tratada lo suficiente (Yera *et al.*, 2012).

*N. fowleri* tiene tres etapas en su ciclo de vida: El trofozoíto, la forma flagelada y el quiste. La forma vegetativa o trofozoíto mide aproximadamente de 15 a 25 µm, en

cultivo. Están en constante cambio de tamaño y forma, el citoplasma es finamente granular con múltiples mitocondrias, lisosomas y vacuolas y rodeada de pseudópodos los cuales están relacionados con la movilidad de la forma activa (Figura 6). El núcleo está usualmente en el centro, conteniendo cromatina densa y nucléolos esféricos. La forma flagelar es usualmente en forma de pera y biflagelada, sin embargo, se han observado con múltiples flagelos (más de 10) (Bonilla y Ramírez, 2014). Esta forma flagelar ocurre cuando la amiba se encuentra en condiciones ambientales no favorables como: la falta de nutrientes, cambios de temperatura y pH, entre otros. Esta forma es transitoria ya que el organismo no se alimenta ni se divide y después de un tiempo, cuando la amiba encuentra nuevamente un ambiente adecuado, regresa a su forma amebiana; en algunos casos el proceso se realiza en cuestión de minutos (John, 1993).

Los quistes son estructuras de resistencia que se forman en respuesta a condiciones ambientales adversas, son esféricos (8 a 15  $\mu\text{m}$  de diámetro) y poseen una doble pared con uno o dos poros (Bonilla y Ramírez, 2014).

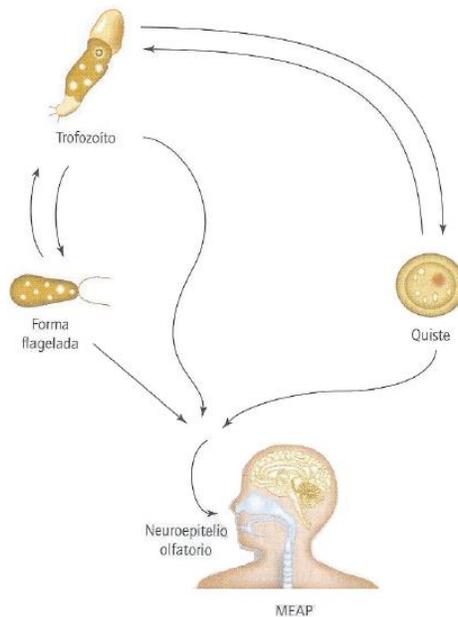


Figura 6. Ciclo de vida de *Naegleria fowleri* (Bonilla y Ramírez, 2014).

## *Balamuthia mandrillaris*

El ciclo de vida comprende una fase de trofozoíto y una de quiste (Figura 7). El trofozoíto de *Balamuthia mandrillaris* mide entre 12 y 60  $\mu\text{m}$ , pero pueden alcanzar hasta 60 y 120  $\mu\text{m}$  de largo. Tiene forma irregular, algunas veces presenta la limax y en otras adopta un aspecto de araña con numerosos pseudópodos, sin ramificaciones. El microorganismo es uninucleado con un núcleo vesicular; a menudo puede tener más de un nucléolo. En cultivos celulares también se han observado trofozoítos multinucleados. Otros organelos presentes son la mitocondria y el retículo endoplasmático, que contiene ribosomas. El trofozoíto se reproduce asexualmente por fisión binaria y la división del núcleo se realiza por mitosis (Bonilla y Ramírez, 2014).

El quiste mide entre 13 a 30  $\mu\text{m}$  y carece de poros; en el plano ultraestructural se reconoce una triple constitución, es decir, una fina capa externa irregular o ectoquiste, una capa interna densa y gruesa o endoquiste y una capa fibrilar amorfa media llamada mesoquiste. Durante la mitosis, el nucléolo y la membrana nuclear permanecen intactos al principio, pero desaparecen a medida que la mitosis continua (Bonilla y Ramírez, 2014).

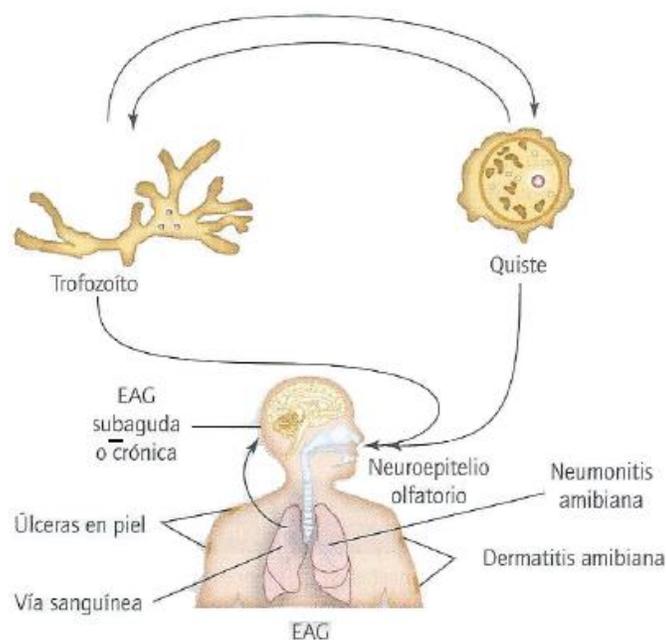


Figura 7. Ciclo de vida de *Balamuthia mandrillaris* (Bonilla y Ramírez, 2014).

## *Sappinia pedata*

La amiba originalmente clasificada como *Sappinia diploidea*, en 2009 fue reclasificada como *Sappinia pedata*. En el único caso descrito de infección cerebral por *S. pedata*, se observó que el manejo de muchas especies de ganado fue un factor importante en la transmisión de la amiba; por lo que el ciclo de vida del parásito tal vez implique un huésped animal intermediario (Figura 8), a diferencia de las otras amibas de vida libre patógenas que no dependen de un huésped para la transmisión y distribución de la enfermedad (Bonilla y Ramírez, 2014).

Su ciclo de vida comprende dos estadios: el trofozoíto y el quiste; el primero mide entre 40 y 60  $\mu\text{m}$ , sus pseudópodos son indistintos y presenta una película que se ondula cuando la amiba se mueve. Una característica distintiva del microorganismo es la presencia de dos núcleos colocados muy juntos uno respecto del otro. En el citoplasma se observa una gran vacuola citoplasmática, mitocondrias con característicos patrones tubulares y una red parecida al aparato de Golgi. La microscopía de transmisión electrónica muestra que los puntos de unión entre los dos núcleos comprimidos tienen hileras de filamentos como perpendiculares a las membranas nucleares aplanadas. Los trofozoítos se dividen por fisión binaria y la división del núcleo se realiza por mitosis. Los quistes miden de 13 a 37  $\mu\text{m}$  y se observan dos núcleos; pueden sobrevivir a los jugos gástricos durante su paso por el estómago, así como a las emulsificantes propiedades de la bilis del hígado; por tal razón, su presencia en las heces no es indicativa de infección. Una vez en las heces que tienen abundancia de bacterias, las amibas pueden enquistar. Debido a su constante vinculación con la presencia de heces se le ha caracterizado como coprozoica (Bonilla y Ramírez, 2014).

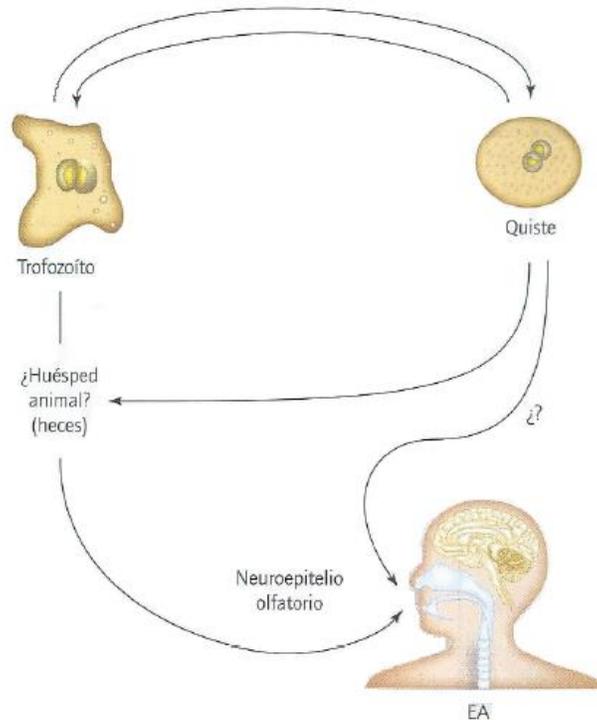


Figura 8. Ciclo de vida *Sappinia pedata* (Bonilla y Ramírez, 2014).

## Importancia Médica

El estudio de las AVL como agentes patógenos comenzó en 1958, en los laboratorios Eli Lilly en Indianápolis, donde se empleaban cultivos celulares en pruebas de seguridad de la vacuna contra la poliomielitis. Culbertson observó la aparición de zonas de lisis en los cultivos y los atribuyó al virus; pero los ratones y monos inoculados como parte de la prueba, murieron de forma inesperada. Los estudios histopatológicos revelaron que una amiba era la causante de la muerte de los animales; más tarde se determinó que la amiba pertenecía al género *Acanthamoeba* (Bonilla y Ramírez, 2014).

La mayoría de las especies de AVL son inocuas, pero se han descrito 4 géneros que contienen especies patógenas para el hombre y los animales. A la fecha se han descrito las especies *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, algunas del género *Acanthamoeba* spp y *Sappinia pedata*. En comparación con otras enfermedades causadas por protozoos, las infecciones causadas por AVL destacan por su amplia

distribución, extrema virulencia y falta de tratamiento efectivo (Martínez y Visvesvara, 1997).

## Enfermedades

### Meningoencefalitis amibiana primaria

*N. fowleri* es causante de la meningoencefalitis amibiana primaria (MEAP) o naegleriosis, es una enfermedad fulminante que ocurre en personas sanas que han tenido contacto con agua contaminada por esas amibas, que presenta como característica temperatura elevada y bajas concentraciones de cloro libre residual (Bonilla *et al.*, 2004; Schuster y Visvesvara, 2004).

El mayor número de casos se ha presentado en niños y jóvenes previamente sanos con antecedente de haber nadado durante el verano en cuerpos de agua naturales contaminados o artificiales o inadecuadamente clorados (Lasake, *et al.*, 2010; Goudot *et al.*, 2012). Los trofozoitos presentes en el agua entran a las fosas nasales, penetran el epitelio nasal y migran a través de los nervios olfatorios al cerebro (Schuster y Visvesvara, 2004).

El curso clínico se caracteriza por confusión mental, en algunos casos crisis convulsivas; pérdida del apetito, visión doble y borrosa, alucinaciones, coma profundo y finalmente la muerte. La mayoría de los pacientes muere dentro de la primera o segunda semana después de la aparición de los primeros síntomas, dependiendo del manejo y resistencia del paciente, así como la virulencia de las amibas (Martínez y Visvesvara, 1997).

### Encefalitis amibiana granulomatosa

La encefalitis amibiana granulomatosa (EAG) o acantamoebosis es una enfermedad subaguda o crónica causada por varias especies del género *Acanthamoeba*. Se presenta en individuos inmunodeprimidos o inmunodeficientes como alcohólicos

crónicos, embarazadas, VIH positivos, enfermos con SIDA, con lupus eritematoso sistémico o cáncer (Martínez y Visvesvara, 1997).

La puerta de entrada es el tracto respiratorio o la piel, desde donde y siguiendo la vía hematogena o una progresión local siguiendo las vías nerviosas, las amibas llegan al sistema nervioso central (Oddó, 2006). El periodo de incubación varía de semanas a meses con un diagnóstico fatal en la mayoría de los casos (Schuster y Visvesvara, 2004).

## Queratitis amebiana

La queratitis amebiana (QA) es otra enfermedad causada por *Acanthamoeba* la cual es más frecuente en individuos sanos que utilizan algún tipo de lente de contacto o en pacientes inmunosuprimidos. Esta es una inflamación crónica de la córnea que puede causar la pérdida del ojo (Martínez y Visvesvara, 1997).

## Otras Infecciones

*Acanthamoeba* también puede causar infecciones nasofaríngeas y cutáneas, estas se desarrollan cuando las amibas, ya sea en forma de trofozoito o de quiste se introducen por una lesión de la piel o por las fosas nasales. Pueden permanecer localizadas, pero en general las amibas se diseminan a otras partes del cuerpo, en particular al sistema nervioso central y no hay delimitación definida entre estas infecciones y la encefalitis (Bonilla y Ramírez, 2014). En la tabla 4, se comparan las características de las enfermedades causadas por las AVL.

## Amibas como vectores de patógenos

Por otro lado, se ha demostrado que las AVL, participan como vectores de diferentes especies de bacterias actuando como endosimbiontes de las AVL (Barker *et al.*, 1992). Una de estas bacterias es *Legionella pneumophila*, capaz de multiplicarse dentro de la célula amebiana, causar lisis y liberarse nuevamente en el ambiente.

Las AVL ayudan a mantener a *Vibrio cholerae* en aguas naturales en algunas partes del mundo donde no hay una asociación evidente de casos reportados por cólera clínica. También algunas bacterias coliformes y *Mycobacterium avium* sobreviven dentro de las amibas, aunque sin multiplicarse. De esta manera el quiste amebiano no solo ofrece a las bacterias un mecanismo de protección para evadir ambientes hostiles, sino también les provee un medio para transporte y colonización de nuevos hábitats aprovechando los mecanismos de dispersión de las AVL (Greub y Raoult, 2004; Hsu *et al.*, 2011).

Tabla 4. Comparación de características clínicas y patológicas entre MEAP, EAG, y QA (Martínez y Visvesvara, 1997; Bonilla y Ramírez, 2014).

Agente Biológico/ Enfermedad	<i>Naegleria fowleri</i> : Meningoencefalitis Amibiana Primaria (MEAP)	<i>Acanthamoeba</i> spp. Encefalitis Amibiana Granulomatosa (EAG)	<i>Acanthamoeba</i> spp: Queratitis Amibiana
<b>Factores de Riesgo</b>	Actividades relacionadas con aguas termales o calentadas artificialmente. Buen estado de salud. Exposición a aguas contaminadas.	Inmunosupresión. Enfermedades crónicas degenerativas.	Uso de lentes de contacto suaves. Trauma corneal. Contacto con agua contaminada usando lentes de contacto.
<b>Epidemiología</b>	Cosmopolita. Verano.	Cosmopolita. Cualquier día del año.	Cosmopolita. Cualquier día del año.
<b>Portales de Entradas</b>	Neuroepitelio olfatorio.	Pulmones. Piel. Neuroepitelio olfatorio.	Traumatismo Corneal.
<b>Periodo de Incubación</b>	1 a 15 días.	Semanas a Meses.	Días.
<b>Síntomas</b>	Dolor de cabeza intenso, fiebre, vómito, rigidez de nuca, cambios de personalidad y coma.	Dolor de cabeza, fiebre, náusea, vómito, confusión, somnolencia, irritabilidad, cambios de personalidad, hemiparesia, letargo, afasia y ataxia.	Dolor ocular intenso, lagrimeo, fotofobia, visión borrosa y enrojecimiento.

<b>Diagnóstico</b>	Examen de LCR en búsqueda de trofozoítos, tinción de H & E en vivo y tejido <i>post mortem</i> .	Biopsia de lesiones, neuroimagen, tinciones, H & E, IFA, IIF de tejido.	Raspado de córnea y cultivo, tinciones: Blanco de calcoflúor, Wright, Giemsa, Azul de Evans, Técnica de PCR, Microscopía confocal.
<b>Tratamiento</b>	Anfotericina B, intratecal, Miconazol, Rifampicina.	Combinación de compuestos del grupo de los azoles, isotianato de pentamidina, fluctosina, azitromicina, y sulfadiazina.	Polihexameten biguanida junto con propamidina o hexamidina, isotianato de propamidina (Brolene).
<b>Recuperación</b>	Pobre.	Pobre.	Excelente.

## Clasificación Taxonómica

La clasificación de los protozoos y de otros organismos por encima del nivel de organización de las bacterias siempre ha sido dependiente de la microscopia por el tamaño de los organismos: las estructuras de estas especies son útiles en los estudios comparativos de su morfología y por lo tanto de su taxonomía y sistemática. Las propiedades fisiológicas han desempeñado un papel importante en la clasificación de estos microorganismos eucariotas.

La clasificación de las amibas ha cambiado a lo largo del tiempo, de las más recientes está la de Adl *et al.*, 2012 (Tabla 5).

*Tabla 5. Clasificación de los eucariontes desde los rangos más altos de acuerdo con Adl et al., 2012.*

	SUPER-GRUPOS		EJEMPLOS
Eukaryota.	Amorphea	Amoebozoa	Tubulinea
			Mycetozoa
		Ophistokonta	Fungi
			Choanomonada
			Metazoa
	Apusomonada		
	Breviata		

	Excavata		Metamonada		
			Malawimonas		
			Discoba		
	Diaphoretickes			Cryptophyceae	
				Centrohelida	
				Telonemia	
				Haptophyta	
			Sar		Cercozoa
					Foraminifera
		Archaeplastida		Radiolaria	
				Alveolata	
				Stramenopiles	
				Glaucophyta	
		Incertae Sedis Eukaryota		Rhodophyceae	
				Chloroplastida	
		Incertae Sedis			

## ANTECEDENTES

No se han realizado estudios de AVL en agua de garrafón, los más cercanos son los realizados en agua mineral embotellada.

- Rivera y colaboradores en 1981. Realizaron en México un estudio de protozoos en aguas minerales embotelladas. Siendo las especies más comunes *Naegleria gruberi*, *Acanthamoeba astronyxis*, y *Vahlkampfia* spp, citando que algunas cepas de *Naegleria* y *Acanthamoeba* tienen el potencial de causar enfermedades humanas que pueden llevar a la muerte.
- Salazar y colaboradores en 1982. Realizaron un aislamiento de Amibas de Vida Libre de diez diferentes marcas de agua mineral embotellada en Río de Janeiro, Brasil. Donde aislaron los géneros *Vahlkampfia*, *Glaeseria*, *Acanthamoeba*, *Filamoeba*, *Amoeba*, *Platyamoeba* y *Hartmanella*, destacando *Acanthamoeba* como patógena.
- Fluvía y colaboradores en 1983, realizaron un aislamiento de amebas de vida libre a partir de aguas minerales y mineromedicinales envasadas. Donde aislaron las

especies *Vermamoeba leptocnemus*, *Vannella simplex*, *V. platypodia*, *Acanthamoeba triangularis*, *Echinamoeba exundans*, y *Naegleria* spp.

## JUSTIFICACIÓN

La mala distribución del agua, su escasez y su mala calidad, hace que la población tenga desconfianza de ingerir el agua que se suministra por las tuberías de la red municipal. Esto ha dado como resultado que surja una oportunidad de negocios para empresarios y corporaciones a distinta escala con la venta de agua embotellada supuestamente de buena calidad, en diferentes presentaciones, dentro de las cuales está la que se vende en garrafones de 20 litros. La importancia que ha cobrado el tema sobre la calidad del agua embotellada ha provocado que se ponga atención en la calidad del agua, poniendo particular atención a microorganismos que pueden contaminar el agua, entre los que están las bacterias, virus y protozoos. Como es el caso de las amibas de vida libre (AVL), las cuales han cobrado importancia debido a su patogenicidad y escaso tratamiento para las infecciones que causan estas amibas. En México y en el mundo hay pocas investigaciones que involucren a las AVL con el agua embotellada y ninguna en agua de garrafón, de ahí la importancia de realizar este tipo de estudios. Considerando que México es el primer lugar a nivel mundial en consumo de agua embotellada y que el envase de garrafón es un producto que se consume a gran escala y dadas las diferentes empresas que comercializan este producto, resulta de importancia establecer la calidad amebológica del agua de garrafón que se comercializa en el Área Metropolitana de la Ciudad de México.

# OBJETIVOS

## General

- Determinar las Amibas de Vida Libre en agua de garrafón de 20 litros distribuidos en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México.

## Particulares

- Aislar e identificar morfológicamente las amibas de vida libre en agua de garrafón que se distribuyen en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México.
- Determinar los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, Conductividad, cloro libre residual y sólidos disueltos totales.

# MATERIALES Y MÉTODOS

## Toma de muestra

Se examinaron 47 garrafones de agua embotellada de 20 litros, de diferentes marcas comerciales, incluyendo tanto purificadoras grandes (PG) como purificadoras locales (PL). Se tomaron dos muestras del mismo garrafón, una muestra fue tomada de forma directa al abrir el garrafón (M1) y la otra muestra se tomó cuando el garrafón estuvo aproximadamente a la mitad de su capacidad con el dispensador utilizado habitualmente (M2) para hacer un total de 94 muestras. Se estudiaron diferentes marcas comerciales de agua distribuidas en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. Las personas que proporcionaron las muestras de agua llenaron un cuestionario, donde se registró la marca del garrafón de agua, duración del garrafón, si se utiliza algún dispensador para servir el agua y alguna observación respecto al aspecto del agua.

Las muestras de agua se tomaron en envases de plástico de 1 litro previamente esterilizados y etiquetados con datos del usuario y fecha de la toma, la muestra se

transportó a temperatura ambiente al laboratorio. Además, se tomó una muestra de agua de 1.5 litros para la determinación de los parámetros fisicoquímicos, esta muestra se transportó en refrigeración al laboratorio. Los parámetros que se analizaron fueron: pH, conductividad, cloro libre residual y sólidos disueltos totales. Estos análisis fueron realizados por el laboratorio de Calidad de Agua del Grupo de Investigación CyMA dirigido por la QFB Esperanza del Socorro Robles Valderrama.

## Trabajo de laboratorio

### Aislamiento

Las muestras de agua para la determinación de las AVL fueron procesadas por filtración a través de una membrana de 1.2  $\mu\text{m}$  de la marca Millipore en condiciones estériles con la ayuda de vacío para favorecer la filtración. Una vez que se filtró la muestra, la membrana se colocó hacia abajo en placas de medio Agar no nutritivo enriquecido con *Enterobacter aerogenes* (NNE). Las placas fueron incubadas a 30° C y se revisaron a partir del primer día y hasta 15 días para detectar el crecimiento amibiano, usando un microscopio invertido marca Zeiss. Las muestras que no presentaron crecimiento después de los 15 días posteriores al cultivo se consideraron como negativas.

### Identificación

Las amibas aisladas se identificaron tomando en cuenta las características morfológicas de las formas trófica y quística; así como la temperatura de crecimiento y la prueba de flagelación en el caso de sospechar que la amiba perteneciera al género *Naegleria*.

Para la observación de las amibas se realizaron preparaciones en fresco con un microscopio óptico (Zeiss K7 con contraste de fases) para poder observar el tipo de pseudópodos y el movimiento de la amiba a 40x y 100x. La determinación de género y especie se realizó bajo las especificaciones de las claves de Page (1988).

## Prueba de flagelación

La prueba de flagelación se realizó agregando agua destilada estéril al cultivo de las cepas probables de pertenecer al género *Naegleria*. El cultivo se incubó a la temperatura de aislamiento (30 °C) y se observó con el microscopio invertido cada media hora, durante cuatro horas para detectar la fase flagelada.

## Prueba de patogenicidad

La prueba de patogenicidad se realizó a las cepas aisladas de los géneros *Naegleria* y *Acanthamoeba*. A un grupo de cinco ratones macho de tres semanas de edad (Cepa CD1) se les inoculó un concentrado de los cultivos axénicos de las amebas. Para preparar el cultivo, los trofozoítos se concentraron a 4500 RPM (Centrifuga Boeco U-32) durante 15 min y se ajustaron a una concentración de  $1 \times 10^4$  a  $1 \times 10^6$  trofozoítos por mL. De ese concentrado se tomó un volumen de 0.02 mL, y se inoculó a través de los orificios nasales del ratón. Los ratones se observaron durante un período de 21 días. Los ratones que murieron, o se sacrificaron al término de la prueba se diseccionaron y se les extrajo el cerebro, hígado, pulmones y riñones, que se colocaron en placas con medio NNE, las cuales se incubaron a la temperatura de aislamiento. Los cultivos se observaron diariamente durante una semana para detectar desarrollo amebiano y recuperar la ameba (De Jonckheere, 1980).

## Histogramas

Con los datos de los garrafones positivos para la presencia de AVL se realizaron histogramas con los parámetros fisicoquímicos (Conductividad, pH, Cloro Libre Residual y Sólidos Disueltos Totales) con el fin de conocer si había alguna tendencia o comportamiento en la distribución de las amibas.

Un histograma es un resumen gráfico de la variación de un conjunto de datos. La naturaleza gráfica del histograma nos permite ver pautas que son difíciles de observar en una simple tabla numérica (Gutiérrez-Álvarez *et al.*, 2004).

- Se representan con una gráfica de barras.
- Están compuestos por rectángulos, donde la base es la línea de las abscisas (x) y la altura, la de las coordenadas (y).
- El rango de valores de la variable se divide en intervalos de igual amplitud. Así cada intervalo se representa con un rectángulo que tiene a este segmento como base.
- El criterio para calcular la altura de cada rectángulo es el de mantener la proporcionalidad entre las frecuencias de los datos en cada intervalo y el área de los rectángulos.
- Es útil en variables cuantitativas continuas, como los de intervalo o razón.
- Para graficar el histograma se hace un gráfico de barras, en el cual las bases de las barras son los intervalos de clases y altura es la frecuencia de las clases. Si se unen los puntos medios de la base superior de los rectángulos, se obtiene el polígono de frecuencias

Los intervalos se realizaron conforme a la literatura de Hines y Montgomery (1996). Donde fue necesario obtener de cada parámetro fisicoquímico el número de datos “N”, el máximo “Max”, mínimo “Min” con los que se sacó el rango “R” de cada uno de los parámetros. Con la siguiente formula:

$$R = y_{Max} - y_{Min}$$

Una vez obtenido el rango, se realizó la obtención de los intervalos “K”, mediante la regla de Sturges donde:

$$K = 1 + 3.322 \log(N)$$

Cabe señalar que el resultado obtenido fue redondeado.

Finalmente se obtuvo la amplitud “A” mediante la siguiente formula:

$$\text{Amplitud (A)} = \frac{\text{Rango}}{\text{No. de Clases deseadas.}}$$

Con base en los datos obtenidos se sacaron los límites inferiores y superiores de cada parámetro fisicoquímico para obtener la frecuencia acumulada, relativa y los histogramas.

## RESULTADOS

### Amibas de vida libre

De los 47 garrafones muestreados, 25 fueron positivos para AVL tanto al abrir el garrafón (M1) como a la mitad de uso (M2), 16 fueron negativos para las dos muestras y 6 fueron negativos al inicio (M1), pero positivos a la muestra a mitad de uso (M2) (Figura 9).

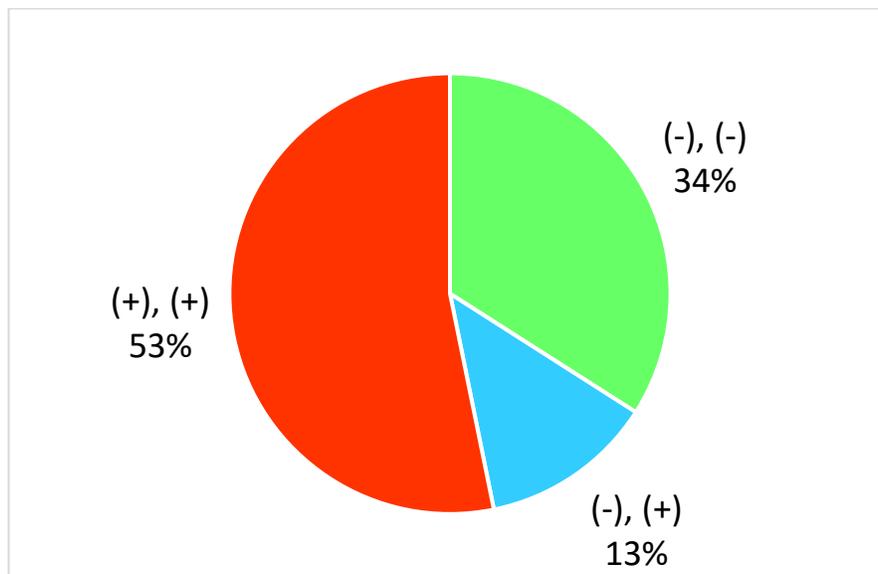


Figura 9. Porcentaje de muestras positivas y negativas para la presencia de AVL en M1 y en M2.

De los 25 garrafones que fueron positivos para la presencia de AVL en las dos muestras (M1 y M2), 19 pertenecieron a purificadoras locales (PL) y 6 a

purificadoras grandes (PG). De los 16 garrafones que fueron negativos para ambas muestras, 15 pertenecieron a purificadoras grandes y 1 a purificadora local. Finalmente, de los 6 garrafones que fueron negativos en la primera muestra, pero positivos en la segunda, 4 correspondieron a purificadoras grandes y 2 a purificadoras locales (Tabla 6). Esto se pudo deber a una posible contaminación, ya sea por el dispensador que algunos usuarios utilizaron o también se pudo deber a que el agua de garrafón tuvo algún contacto con el aire y el polvo. Ya que como menciona Bonilla y colaboradores (2004) el aire puede servir como medio de dispersión para las AVL.

*Tabla 6. Presencia de AVL en M1 y M2 de los garrafones analizados.*

<b>MARCA</b>	<b>PURIFICADORA</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>
Bon	Grande	(-)	(-)
Bon	Grande	(-)	(-)
Bon	Grande	(-)	(-)
Cie	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Epu	Grande	(-)	(-)
Fre	Local	(-)	(-)
Cie	Grande	(-)	(+)
Epu	Grande	(-)	(+)
Epu	Grande	(-)	(+)
Jung	Grande	(-)	(+)
AqSo	Local	(-)	(+)
Arte	Local	(-)	(+)
Bon	Grande	(+)	(+)

Bon	Grande	(+)	(+)
Cie	Grande	(+)	(+)
Epu	Grande	(+)	(+)
Epu	Grande	(+)	(+)
Jung	Grande	(+)	(+)
Sin marca	Local	(+)	(+)
Sin marca	Local	(+)	(+)
Sin marca	Local	(+)	(+)
Sin marca	Local	(+)	(+)
Sin marca	Local	(+)	(+)
Afr	Local	(+)	(+)
AqCly	Local	(+)	(+)
AqCly	Local	(+)	(+)
Art	Local	(+)	(+)
Jir	Local	(+)	(+)
Las Hu	Local	(+)	(+)
Lib	Local	(+)	(+)
Man	Local	(+)	(+)
M. Car	Local	(+)	(+)
Oas	Local	(+)	(+)
Oas	Local	(+)	(+)
Pur	Local	(+)	(+)
Sta Ma	Local	(+)	(+)
Xcar	Local	(+)	(+)

En total se procesaron 94 muestras, de las cuales se obtuvieron 15 especies pertenecientes a 12 géneros (Tabla 7). Por las características del quiste y la temperatura de aislamiento, la especie aislada del género *Naegleria*, probablemente pertenezca a la especie *N. gruberi*.

Tabla 7. Riqueza específica y clasificación de las Amibas de Vida Libre aisladas (Smirnov et al., 2011; Adl et al., 2012).

SUPERGRUPO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
<b>Amoebozoa</b>	Discosea	Centramoebida	Acanthamoebidae	<i>Acanthamoeba</i>	<i>hatchetti</i>
					<i>polyphaga</i>
					<i>royreba</i>

		Dactylopodida	Vexilliferidae	<i>Vexillifera</i>	<i>bacillipedes</i>	
		Dermamoebida	Mayorellidae	<i>Mayorella</i>	<i>spatula</i>	
		Vannellida	Vannellidae	<i>Platyamoeba</i>	<i>stenopodia</i>	
				<i>Vannella</i>	<i>platypodia</i>	
	Tubulinea	Echinamoebida	Echinamoebidae	<i>Echinamoeba</i>	<i>exundans</i>	
				<i>Filamoeba</i>	<i>nolandi</i>	
		Euamoebida	Vermamoebidae	<i>Vermamoeba</i>	<i>vermiformis</i>	
				<i>Saccamoeba</i>	<i>stagnicola</i>	
	Excavata	Discoba	Discicristata	Guttulinopsidae	<i>Guttulinopsis</i>	<i>nivea</i>
				Vahlkampfiidae	<i>Naegleria</i>	<i>vulgaris</i>
sp						
<i>Vahlkampfia</i>						<i>avara</i>

La especie más frecuente fue *Vermamoeba vermiformis* al encontrarse en 22 de las 94 muestras estudiadas, siguiendo *Guttulinopsis nivea* y *Acanthamoeba polyphaga* (Figura 10).

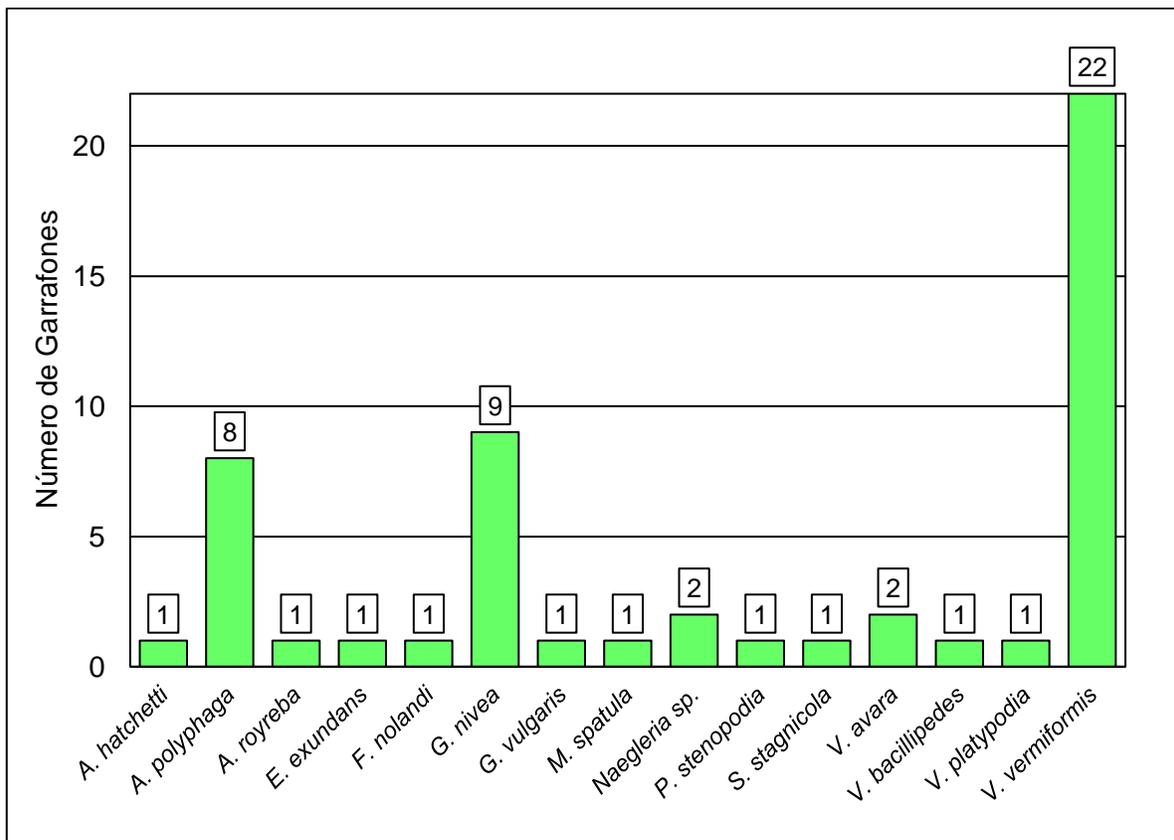


Figura 10. Frecuencia de aislamiento de las especies de AVL.

En la tabla 8 se muestran las especies de amibas que se aislaron de los garrafones.

Tabla 8. Especies de AVL aisladas de los garrafones analizados.

NÚMERO	MARCA	ESPECIE
1	Art (PL)	<i>Acanthamoeba polyphaga</i> , <i>Vermamoeba vermiformis</i>
2	Art (PL)	<i>Guttulinopsis vulgaris</i> , <i>V.vermiformis</i>
3	Epu (PG)	<i>V. vermiformis</i>
4	Bon (PG)	Negativa
5	Oas (PL)	<i>V. vermiformis</i>
6	Jung (PG)	<i>G. nivea</i> , <i>V.vermiformis</i>
7	Epu (PG)	Negativa
8	Fre (PL)	Negativa
9	Epu (PG)	Negativa
10	Las Hue (PL)	<i>A. hatchetti</i> , <i>A. polyphaga</i> , <i>V. vermiformis</i>
11	Man (PL)	<i>G. nivea</i> , <i>V.vermiformis</i>
12	Bon (PG)	<i>Filamoeba nolandi</i>
13	Epu (PG)	Negativa
14	AqCly (PL)	<i>A. polyphaga</i> , <i>V. vermiformis</i>
15	Bon (PG)	Negativa
16	AqCly (PL)	<i>Platyamoeba stenopodia</i> , <i>Mayorella spatula</i>
17	Jung (PG)	<i>Naegleria</i> sp
18	Bon (PG)	Negativa
19	Bon (PG)	<i>Vahlkampfia avara</i> , <i>V. vermiformis</i>
20	Sin Marca (PL)	<i>A. polyphaga</i>
21	Sin Marca (PL)	<i>V. vermiformis</i>
22	Epu (PG)	<i>Naegleria</i> sp.
23	Epu (PG)	Negativa
24	Cie (PG)	<i>Echinamoeba exundans</i>
25	Aq So (PL)	<i>V. vermiformis</i>
26	Sin Marca (PL)	<i>A. polyphaga</i> , <i>V. vermiformis</i>
27	Epu (PG)	Negativa
28	Epu (PG)	Negativa
29	Epu (PG)	<i>A. royreba</i>
30	Epu (PG)	<i>G. nivea</i> , <i>V.vermiformis</i>
31	Epu (PG)	Negativa

32	Oas (PL)	<i>G. nivea, V.vermiformis</i>
33	Sta Ma (PL)	<i>Saccamoeba stagnicola, Vannella platypodia, V. vermiformis, Vexillifera bacilipedes</i>
34	Epu (PG)	Negativa
35	Epu (PG)	Negativa
36	Epu (PG)	Negativa
37	M Car (PL)	<i>G. nivea, V. vermiformis</i>
38	Afr (PL)	<i>V. avara, V. vermiformis</i>
39	Sin Marca (PL)	<i>G. nivea, V. vermiformis</i>
40	Cie (PG)	<i>V. vermiformis</i>
41	Xca (PL)	<i>A. polyphaga, G. nivea, V. vermiformis</i>
42	Jir (PL)	<i>A. polyphaga, G.nivea</i>
43	Cie (PG)	Negativa
44	Puri (PL)	<i>V. vermiformis</i>
45	Epu (PG)	Negativa
46	Sin Marca (PL)	<i>A. polyphaga</i>
47	Lib (PL)	<i>G. nivea, V. vermiformis</i>

## Parámetros Fisicoquímicos

En la tabla 9 se muestran los valores de los parámetros fisicoquímicos en los garrafones analizados y en la tabla 10 se muestran las medidas de tendencia central para los parámetros fisicoquímicos.

Tabla 9. Resultados de Parámetros Fisicoquímicos de Conductividad, pH, Cloro libre residual y Sólidos disueltos totales (SDT).

NÚMERO	MARCA	AVL	CONDUCTIVIDAD ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	pH	COLORO LIBRE RESIDUAL (mg/L)	SDT (mg/L)
1	Art (PL)	Positiva	459	6.96	0	220
2	Art (PL)	Positiva	95	7.04	0.02	67.5
3	Epu (PG)	Positiva	54	6.93	0.1	35
4	Bon (PG)	Negativa	353	7.04	0.03	258
5	Oas (PL)	Positiva	217	7.14	0.03	160
6	Jung (PG)	Positiva	115	7.17	0.4	105
7	Epu (PG)	Negativa	109	5.4	0.3	55
8	Fre (PL)	Negativa	944	6.88	0.1	530
9	Epu (PG)	Negativa	32.4	5.88	0.05	16.25

10	Las Hue (PL)	Positiva	229	7.07	0.06	160
11	Man (PL)	Positiva	82.3	7.31	0.18	68.8
12	Bon (PG)	Positiva	338	7.52	0.06	243
13	Epu (PG)	Negativa	7.9	6.26	0.17	11
14	AqCly (PL)	Positiva	176	7.41	0.6	116
15	Bon (PG)	Negativa	343	7.2	0.28	238
16	AqCly (PL)	Positiva	106	6.6	0.07	87.5
17	Jung (PG)	Positiva	450	7.16	0.06	275
18	Bon (PG)	Negativa	340	6.95	0.6	238
19	Bon (PG)	Positiva	720	7.95	0.11	458
20	Sin Marca (PL)	Positiva	353	7.65	1.71	233
21	Sin Marca (PL)	Positiva	325	6.66	0.03	240
22	Epu (PG)	Positiva	383	7.07	0.13	250
23	Epu (PG)	Negativa	46.6	5.14	0.11	35
24	Cie (PG)	Positiva	31.5	5.96	0.02	166
25	Aq So (PL)	Positiva	439	7.2	0.05	256
26	Sin Marca (PL)	Positiva	48.8	5.01	0.02	24
27	Epu (PG)	Negativa	360	7.58	0.2	225
28	Epu (PG)	Negativa	39.9	6.13	0.08	34.7
29	Epu (PG)	Positiva	54.6	5.22	0.1	37.5
30	Epu (PG)	Positiva	47.5	5.01	0.02	39.3
31	Epu (PG)	Negativa	50.3	4.86	0	35
32	Oas (PL)	Positiva	203	6.4	0	135
33	Sta Ma (PL)	Positiva	438	7.19	0.03	273
34	Epu (PG)	Negativa	224	5.86	0.02	145
35	Epu (PG)	Negativa	30	5.1	0.07	30
36	Epu (PG)	Negativa	13.7	4.98	0	10
37	M Car (PL)	Positiva	330	7.41	0	233
38	Afr (PL)	Positiva	147.5	7.34	0.03	215
39	Sin Marca (PL)	Positiva	964	7.58	0	615
40	Cie (PG)	Positiva	332	5.81	0	260
41	Xca (PL)	Positiva	296	6.8	0	168
42	Jir (PL)	Positiva	339	7.93	0	225
43	Cie (PG)	Negativa	315	5.72	0	200
44	Puri (PL)	Positiva	530	7.95	0	328
45	Epu (PG)	Negativa	67.1	5.1	0	30
46	Sin Marca (PL)	Positiva	414	7.26	0	288
47	Lib (PL)	Positiva	425	7.25	0	263

Tabla 10. Medidas de tendencia central para parámetros fisicoquímicos de Conductividad, pH, Cloro libre residual y Sólidos disueltos totales (SDT).

	Conductividad	pH	Cloro Libre Residual	SDT
<b>Promedio</b>	264.2148936	6.61787234	0.124255319	177.352128
<b>Mínimo</b>	7.9	4.86	0	10
<b>Máximo</b>	964	7.95	1.71	615
<b>Moda</b>	353	7.04	0	35
<b>Dev. Est.</b>	224.0086178	0.92941762	0.274168662	135.002037
<b>Varianza</b>	50179.86086	0.86381711	0.075168455	18225.5501

Con los datos de los 31 garrafones positivos para la presencia de AVL se obtuvieron histogramas con los parámetros fisicoquímicos (Conductividad, pH, Cloro Libre Residual y Sólidos Disueltos Totales) con el fin de conocer si había alguna tendencia o comportamiento en la distribución de las amibas (Figuras 11, 12, 13 y 14).

## Conductividad

La conductividad ( $K_{25}$ ) es una medida de capacidad que tiene el agua para conducir una corriente eléctrica, donde se establece el grado de mineralización en las muestras de agua. (Aguilar-Ramírez, 2002). En los garrafones analizados se registró un promedio de  $264.21 \mu\text{S cm}^{-1}$ , presentando como valor máximo de  $964 \mu\text{S cm}^{-1}$  y como valor mínimo de  $7.9 \mu\text{S cm}^{-1}$  (Tablas 9 y 10). De los treinta y uno garrafones que fueron positivos para la presencia de AVL, diez estuvieron en el intervalo de  $31.5 - 156 \mu\text{S cm}^{-1}$ , cinco en el intervalo de  $157 - 313 \mu\text{S cm}^{-1}$ , trece en el intervalo de  $314 - 470 \mu\text{S cm}^{-1}$  y tres en el intervalo de  $471 - 964 \mu\text{S cm}^{-1}$  (Figura 11).

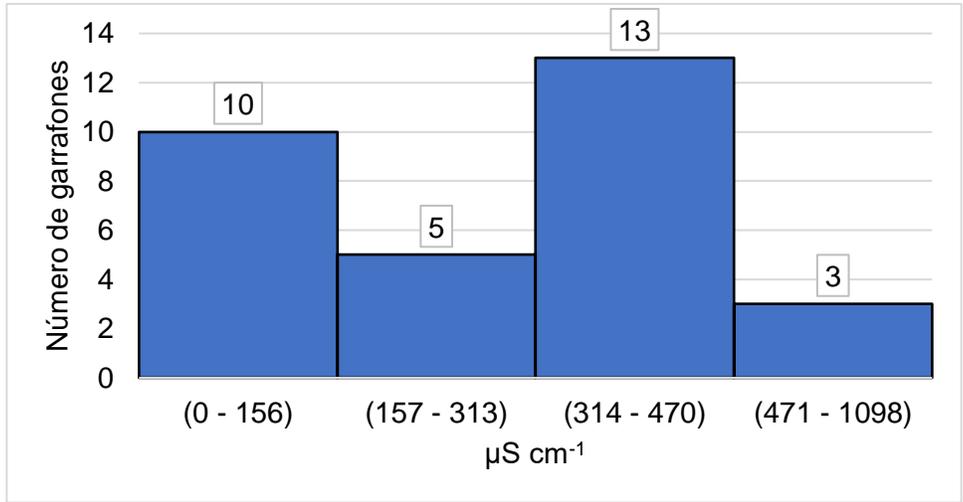


Figura 11. Valores de Conductividad en los garrafones positivos para AVL.

## pH

El pH presentó un promedio de 6.61, un valor mínimo de 4.86 y un valor máximo de 7.95 (Tablas 9 y 10). De los treinta y uno garrafones que fueron positivos para la presencia de AVL, tres se encontraron en el intervalo de 5.0 – 5.5, dos en el intervalo de 5.6 – 6.1, tres en el intervalo de 6.2 – 6.7, trece en el intervalo de 6.8 - 7.3 y diez en el intervalo de 7.4 - 7.9 (Figura 12).

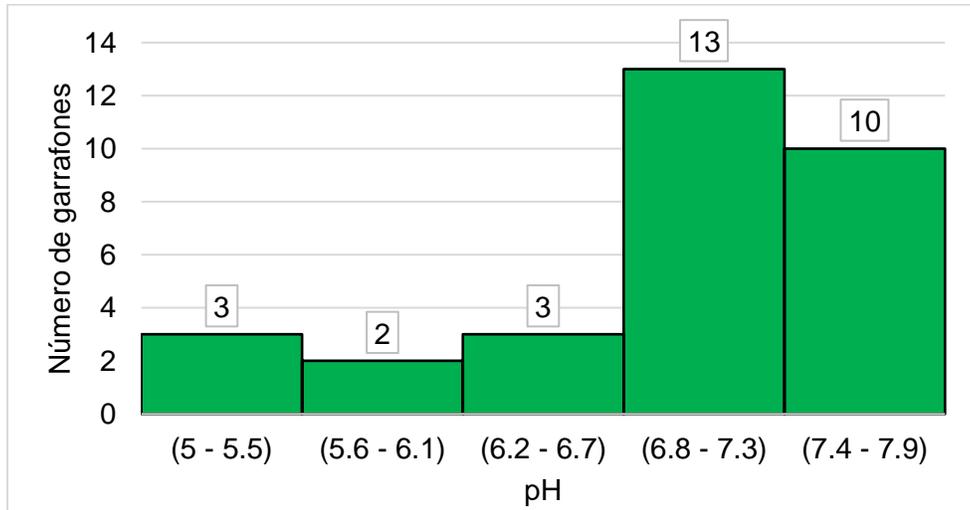


Figura 12. Valores de pH en los garrafones positivos para AVL.

## Cloro Libre Residual

En los garrafones analizados se registró un promedio de 0.12 mg/L, un valor mínimo de 0.0 mg/L y un máximo de 1.71 mg/L (Tabla 10).

Los treinta y uno garrafones positivos para la presencia de las AVL estuvieron en todo el intervalo de cloro libre residual (0 a 1.71 mg/L) (Tabla 9); la gran mayoría (veinte ocho garrafones) estuvo en el intervalo de 0 – 0.3 mg/L (Figura 13).

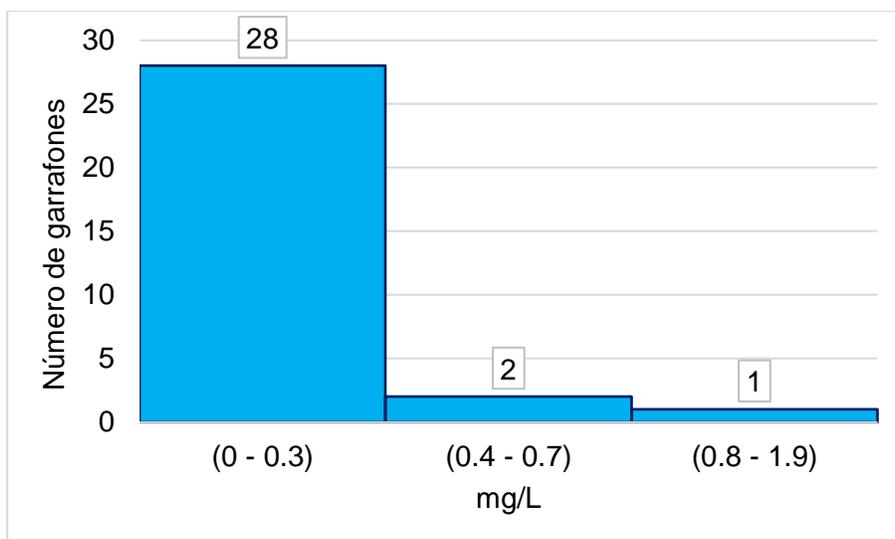


Figura 13. Valores de Cloro Libre Residual en los garrafones positivos para AVL.

## Sólidos Disueltos Totales

En los garrafones analizados se registró un promedio de 177.35 mg/L, con un valor mínimo de 10 mg/L y un máximo de 615 mg/L (Tabla 10). Del total de garrafones positivos para la presencia de las AVL (Tabla 9), siete estuvieron en el intervalo de 24 - 99 mg/L, siete en el intervalo de 100 - 199 mg/L, catorce en el intervalo de 200 a 299 mg/L y tres en el intervalo de 300 a 699 mg/L, (Figura 14).

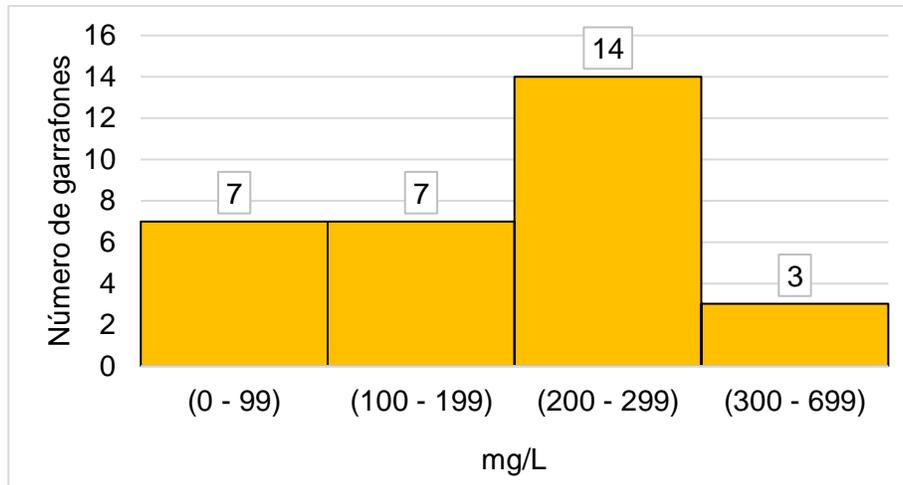


Figura 14. Valores de Sólidos Disueltos Totales en los garrafones positivos para AVL.

## Encuestas

De los 47 usuarios participantes, 33 (70%) pertenecieron a los municipios del Estado de México y 14 (30%) a las alcaldías de la Ciudad de México.

La adquisición de los garrafones fue principalmente en purificadoras locales, tienda local y servicio a domicilio por medio de un repartidor, y solo el 6% se adquirió en supermercado (Figura 15).

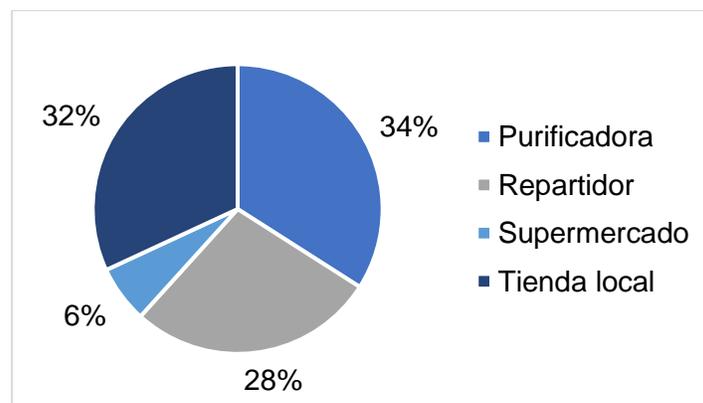
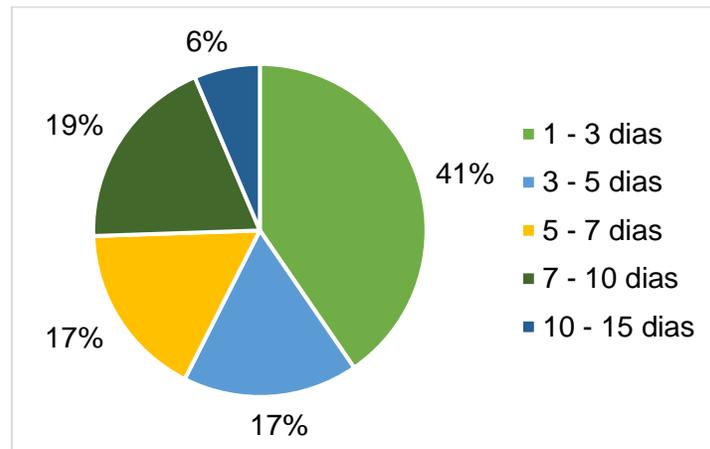


Figura 15. Lugar de adquisición del garrafón de agua.

De los 47 garrafones estudiados, 22 (47%) fueron de purificadoras locales (PL), que generalmente tienen su propia marca. Los otros 25 (53%) fueron de purificadoras

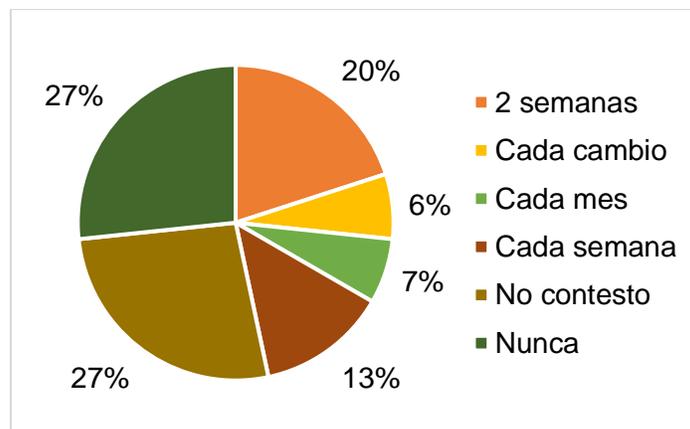
grandes (PG), que comprendieron las marcas: Bonafon (Bon), Epura (Epur), Ciel (Cie) y Junghas (Jung).

El tiempo de duración del garrafón del agua depende del número de miembros de la familia va desde 1 a 3 días hasta 10 a 15 días (Figura 16).



*Figura 16. Duración de los garrafones entre los usuarios.*

De total los usuarios, 35 sirven el agua de su garrafón de manera directa, mientras que 12 usan dispensador. De los usuarios que utilizan dispensador el 27% nunca han lavado, el 20% lo lava cada 2 semanas, el 13% cada semana, el 7% cada mes, el 6% cada cambio de garrafón y el 27% no contestó la pregunta (Figura 17).



*Figura 17. Limpieza del dispensador.*

El 87% de los usuarios no reportó ninguna irregularidad en el agua del garrafón. El 13% mencionó que el agua tenía una consistencia arenosa al momento de ingerirla, debido a la presencia de partículas suspendidas en el líquido y sabor a cloro y a humedad.

## DISCUSIÓN

Los estudios de las amibas de vida libre en agua embotellada en garrafón no han tenido una debida atención. La mayoría de los estudios se han concentrado en aguas recreativas y en agua mineral envasada.

Generalmente el agua purificada proveniente de las empresas grandes es considerada como una de las más puras para el consumo humano. Sin embargo, en varias de ellas se pudo demostrar la presencia de amibas de vida libre.

Los garrafones que presentaron más especies de AVL fueron de purificadoras locales. Esto puede deberse a un mal mantenimiento y servicio que se le proporciona a este tipo de negocios. También puede deberse a que muchas purificadoras no dan mantenimiento a sus equipos, tienen poco personal y algunas operan de manera clandestina, por lo que ahorran en permisos, pago de impuestos, costos de controles. En la cuestión de verificaciones sanitarias, al no ser recurrentes, no dan mantenimiento continuo a sus filtros. Incluso varias de ellas no disponen del agua que venden ya que muchas compran agua de pipa (Montero-Contreras, 2017).

La presencia de la especie *Acanthamoeba polyphaga* supondría un peligro para las personas inmunocomprometidas e inmunosuprimidas. Sin embargo, la cepa aislada en este estudio no fue patógena en los ratones. Sin embargo, se debe tener precaución cuando se encuentre esta especie en el agua, porque se ha demostrado que diferentes aislamientos, pueden presentar diferentes grados de patogenicidad (Hernández-Gómez, 2019)

*Acanthamoeba hatchetti*, se ha reportado con cierto grado de patogenicidad en ratones. Además de presentar algunas infecciones subclínicas o encefalitis aguda, subaguda o crónica (García-Miranda, 1993). Sin embargo, la presencia de este organismo no debería darse en ningún tipo de agua comercial. *Acanthamoeba royreba* se ha reportado como una de las amibas del género *Acanthamoeba* con baja capacidad invasiva (González-Robles *et al.*, 2013), pero se ha vinculado a algunos casos de queratitis y encefalitis (Cabello-Vílchez, 2019). Aunque la presencia de esta especie solo se detectó en un garrafón, su presencia en el agua embotellada de garrafón tampoco es deseable.

Del género *Naegleria* se encontraron dos cepas que, por las características del quiste y la temperatura de aislamiento, probablemente pertenezca a la especie *Naegleria gruberi*, la cual no ha sido reportada como patógena. Para confirmar la especie se tendrían que realizar otras pruebas como la biología molecular.

*Vermamoeba vermiformis* se ha reportado asociada a infecciones cerebrales y el género *Vahlkampfia* a casos de queratitis en humanos, pero no se ha determinado su papel como agentes causales de estas enfermedades (Michel *et al.*, 2000; Lorenzo-Morales *et al.*, 2007; Scheid, 2007; Bonilla y Ramírez, 2014).

*Guttulinopsis nivea* es considerada como coprófila y es muy común en lugares donde también se encuentra *Klebsiella pneumoniae* y/o *Escherichia coli* (Raper *et al.*, 1977). Su presencia en el agua embotellada de garrafón daría un indicio de contaminación con bacterias coliformes. A *Guttulinopsis vulgaris* se le ha relacionado con ambientes con alto contenido de materia orgánica (Bass *et al.*, 2016; Page, 1988). Por lo que la presencia de estas especies, indican mala calidad del agua.

*Vannella platypodia* se ha registrado como una de las amibas frecuentes en cuerpos de agua natural como son los ríos de la cuenca de México (Andrade-Sánchez, 2015; Bonilla *et al.*, 2014). Esto puede deberse a que su estadio de forma flotante le permite mantenerse suspendida en la columna de agua, lo cual le permite tener una mayor presencia y frecuencia en los cuerpos de agua natural (Ettinger *et al.*, 2002). Sin embargo, en el agua embotellada de garrafón, que debería cumplir con la

calidad de agua potable, y aunque no es patógena, no debería estar presente. Afortunadamente esto se cumplió en casi todos los garrafones analizados. Aunque no es la primera vez que se reporta en agua para consumo ya que Rivera *et al.*, 1981 y Fluvía y colaboradores en 1983 reportaron la presencia de esta especie en agua mineral y minero medicinal envasada.

Las otras especies de amibas encontradas: *Mayorella spatula*, *Vexillifera bacillipedes*, *Saccamoeba stagnicola*, *Echinamoeba exundans*, *Platyamoeba stenopodia* y *Filamoeba nolandi* han sido reportadas en diversos cuerpos de agua natural (Ramírez *et al.*, 2009, 2010, 2012, 2016, 2017; Brown y Smirnov, 2004; Baumgartner *et al.*, 2003) y probablemente estaban presentes en el agua de origen que se sometió a tratamiento de potabilización en la red pública, lo que indica deficiencias en este tratamiento. Estas amibas no se han reportado como patógenas y solamente estuvieron presentes en pocos garrafones.

La presencia de amibas de vida libre en agua embotellada de garrafón es un hecho que debería sorprender, sin embargo, Fluvía y colaboradores (1983) mencionan que la presencia de Amibas de Vida Libre era de esperarse, pues lo que se controla es la calidad bacteriológica, no la amebológica.

Con respecto a la conductividad, la mayoría de las AVL aisladas del agua de garrafón se encontraron en el intervalo de 31.5 - 450  $\mu\text{Scm}^{-1}$ , esto concuerda con Bonilla y colaboradores (2014), que reportaron la presencia de estas amibas en valores de 75 y 76  $\mu\text{Scm}^{-1}$ . A valores mayores de 451  $\mu\text{Scm}^{-1}$  solamente se encontraron en tres garrafones, lo que podría indicar que estos valores no son muy adecuados para la presencia de las amibas. Este parámetro se ha tomado en cuenta poco para la presencia de las AVL, por lo que los resultados encontrados en este estudio pueden contribuir a conocer su relación con estas amibas.

Cabe mencionar que García-Ortíz (2017), realizó un análisis fisicoquímico de distintas marcas de agua embotellada de la Ciudad de México y Área Metropolitana. En donde reporta valores de conductividad que van desde 6.35  $\mu\text{Scm}^{-1}$  a 761  $\mu\text{Scm}^{-1}$ .

El pH es un parámetro fisicoquímico que cumple con un papel importante en el hábitat de los organismos, debido a que determina la acidez del medio.

Las AVL se presentaron en un intervalo amplio de pH (5.0 – 7.9), pero la mayoría (23 garrafones) se encontró en valores de 6-8 – 7.9, lo que está en concordancia con lo que se menciona en la literatura de que las amibas de vida libre se encuentran en valores cercanos a la neutralidad (Bonilla *et al.*, 2004). Estudios anteriores han reportado la presencia de AVL en un amplio intervalo de pH, de 4.6 a 9.5, por lo que los valores encontrados en este estudio no afectaron la presencia de las estas amibas (Bonilla y Ramírez, 1993; Bonilla *et al.*, 2000).

Las concentraciones de cloro libre residual encontradas en el agua de garrafón fueron bajas (0 – 0.6 mg/L), saliéndose de este intervalo solamente un garrafón con 1.71 mg/L. Estas concentraciones de cloro no fueron impedimento para la presencia de las AVL, en la literatura se señala que estas amibas pueden soportar concentraciones de 2 y 3 mg/L (Bonilla *et al.*, 2004; Bonilla y Ramírez, 2014).

En la concentración de 1.71 mg /L se aisló la especie *Acanthamoeba polyphaga*, lo que no es de sorprender ya que se conoce que esta especie y en general las del género *Acanthamoeba* son resistentes a condiciones ambientales extremas, debido a que la pared de su quiste contiene celulosa y esto le confiere una gran resistencia (Bonilla *et al.*, 2004). Así tenemos que Hernández-Gómez (2019) reportó en albercas esta especie en concentraciones de cloro de 3.3 mg/L.

Sin embargo, es importante mencionar que el agua de garrafón no debería contener cloro, porque este químico no se utiliza para la purificación del agua, pero se usa en el lavado de los garrafones, por lo que su presencia indica que los garrafones no fueron bien enjuagados ya que normalmente se usa agua de la red municipal, la cual si contiene cloro como método de desinfección.

Las AVL estuvieron presentes en casi todas las concentraciones de sólidos disueltos totales, pero la mayor frecuencia estuvo en el intervalo de 200 – 299 mg/L. Esto concuerda con lo reportado por Andrade (2015), que aisló estas amibas en ríos de la Cuenca de México en concentraciones de SDT de 40 – 221 mg/L. Este

parámetro se ha tomado poco en consideración para la presencia de las AVL, por lo que los resultados encontrados en este estudio pueden contribuir a conocer su relación con estas amibas.

Podemos mencionar que esta zona urbana junto con muchas otras ciudades principales en nuestro país enfrenta cierta incertidumbre sobre el consumo de agua potable. El consumo de agua embotellada de garrafón es una respuesta a los distintos factores relacionados a la sustentabilidad del abastecimiento de agua en la zona.

La mayoría de los usuarios adquirió su garrafón de agua en purificadoras locales. Esto puede deberse a que estas purificadoras responden a una necesidad de gran parte de la población de adquirir agua embotellada a precios más accesibles, comparados a los que ofrecen las purificadoras grandes. Sin olvidar la cercanía que pueden tener estos negocios con la residencia de los usuarios. También se ha observado el aumento de marcas de garrafones tanto de purificadoras grandes como locales (Montero-Contreras, 2017).

La diferencia de los usuarios en la preferencia de la marca que consumen no es muy significativa. Sin embargo, la elección de marca va muy relacionada a distintos factores socioeconómicos. Como la publicidad, el alcance del servicio y el costo.

El 41% de los usuarios dijeron que se terminan un garrafón en un lapso de 1 a 3 días aproximadamente. Sin embargo, el consumo de agua embotellada puede variar durante la temporada de calor e incrementarse hasta tres garrafones por semana, dependiendo del uso, el número de integrantes de la familia, etc. (Carrillo, 2019). Actualmente, se cree que, en la Ciudad de México, el consumo de agua potable ha crecido considerablemente hasta un 140% por el confinamiento causado por la pandemia por Covid-19. Haciendo que una familia pase de consumir de 2 a 3 garrafones por semana, hasta consumir 7 garrafones por casa (Montero, 2020).

La mayoría de los usuarios mencionaron que se sirven del garrafón de manera directa, lo que se tiene que cuidar en este caso es no dejar abierto el garrafón al aire libre, que puede propiciar la contaminación del líquido por el polvo y el aire,

donde algunos microorganismos como las amibas de vida libre pueden interactuar con el medio y contaminar el agua del garrafón.

Una cuarta parte de los usuarios utilizan dispensador para servirse el agua del garrafón, pero la mayoría de ellos nunca han lavado el dispensador. Con lo que se propicia la contaminación del agua, pues el dispensador puede alojar microorganismos a lo largo del tiempo.

## CONCLUSIONES

- Se determinaron 15 especies pertenecientes a 12 géneros. De estas, la especie *Vermamoeba vermiformis* fue la más frecuente al estar en 22 de los 47 garrafones analizados.
- La cepa aislada de *Acanthamoeba polyphaga* no fue patógena en los ratones. Pero se debe tener precaución cuando se encuentre esta especie en el agua, porque los diferentes aislamientos, pueden presentar diferentes grados de patogenicidad.
- La presencia de AVL en el agua de garrafón no se debería de dar, porque este tipo de agua se vende como agua para el consumo humano y debería estar libre de cualquier tipo de microorganismo.
- Los parámetros de pH y cloro libre residual se encontraron dentro de los valores reportados como adecuados para la presencia de las amibas de vida libre.
- La conductividad y los sólidos disueltos se han tomado poco en cuenta en los estudios ambientales de las amibas de vida libre. En este estudio la mayoría de las amibas se encontraron en un intervalo 31.5 a 470  $\mu\text{Scm}^{-1}$  de conductividad y de 24 a 299 mg/L de sólidos disueltos totales, valores que son adecuados para el agua potable.
- Es necesario considerar un control amebológico del agua embotellada de garrafón, ya que, al ser comercializada como agua potable para consumo humano, debería tener ausencia de AVL.

## REFERENCIAS CITADAS

- Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., Brown, M. W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., le Gall, L., Lynn, D. H., McManus, H., Mitchell, E. A. D., Mozley-Stanridge, S. E., Parfrey, L. W., . . . Spiegel, F. W. (2012). The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(5), 429–514. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2012.00644.x>
- Aguilar-Ramírez, I. (2002). *Estudio bacteriológico y fisicoquímico de la calidad del agua de la laguna de Mecoacan, Tabasco, México*. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. UNAM. <http://132.248.9.195/ppt2002/0305706/Index.html>
- Andrade-Sánchez, M. A. (2015). *Determinación de amibas de vida libre en ríos de la cuenca de México*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2015/enero/0725030/Index.html>
- Aqeel, Y., Siddiqui, R., Ateeq, M., Raza Shah, M., Kulsoom, H., & Khan, N. A. (2014). Atomic Force Microscopic Imaging of *Acanthamoeba castellanii* and *Balamuthia mandrillaris* Trophozoites and Cysts. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 62(1), 85–94. <https://doi.org/10.1111/jeu.12147>
- Barker, J., Brown, M. R., Collier, P. J., Farrell, I., & Gilbert, P. (1992). Relationship between *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba polyphaga*: physiological status and susceptibility to chemical inactivation. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8), 2420–2425. <https://doi.org/10.1128/aem.58.8.2420-2425.1992>
- Barragán, D. (2015). *El agua embotellada: Un despojo que inició hace 30 Años*. SinEmbargo MX. <https://www.sinembargo.mx/24-04-2015/1316594>
- Bass, D., Silberman, J. D., Brown, M. W., Pearce, R. A., Tice, A. K., Jousset, A., Geisen, S., & Hartikainen, H. (2016). Coprophilic amoebae and flagellates, including *Guttulinopsis*, *Rosculus* and *Helkesimastix*, characterise a divergent and diverse rhizarian radiation and contribute to a large diversity of faecal-

associated protists. *Environmental Microbiology*, 18(5), 1604–1619.

<https://doi.org/10.1111/1462-2920.13235>

- Baumgartner, M., Yapi, A., Grobner-Ferreira, R., & Stetter, K. O. (2003). Cultivation and properties of *Echinamoeba thermanum* n. sp., an extremely thermophilic amoeba thriving in hot springs. *Extremophiles*, 7(4), 267–274. <https://doi.org/10.1007/s00792-003-0319-6>
- Bitton, G. (1999). *Wastewater Microbiology* (2<sup>a</sup> ed.). Wiley. Canada.
- Bonilla, P., & Ramírez, E. (1993). Sistema de tratamiento de lecho de raíces: Las amebas de vida libre. *Revista Ciencia y Tecnología*, 15, 22–25.
- Bonilla, P., & Ramírez, E. (2014). Capítulo 5: Amibas de vida libre patógenas y oportunistas. En M. A. Becerril (Ed.), *Parasitología médica*. (4<sup>a</sup> ed., pp. 37–50). McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. De C.V.
- Bonilla, P., Ramírez, E., Ortiz, R., & Eslava, C. (2004). La Ecología de las Amibas Patógenas de Vida Libre en Ambientes Acuáticos. En I. Rosas, A. Cravioto, & E. Ezcurra (Eds.), *Microbiología Ambiental* (pp. 67–81). PUMA-UNAM. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT.
- Bonilla, P., Ramírez, E., Ortiz, R., Calderón, A., Gallegos, E., & Hernández, D. (2000). Occurrence of free-living amoebae in aquatic systems of Huasteca Potosina, México. En M. Munawar, S. Lawrence, & D. Malley (Eds.), *Aquatic Ecosystem of Mexico: Status and Scope*. (pp. 37–44). Ecovision World Monograph Series. Backhuys Publishers.
- Bonilla-Lemus, P., Caballero Villegas, A. S., Carmona Jiménez, J., & Lugo Vázquez, A. (2014). Occurrence of free-living amoebae in streams of the Mexico Basin. *Experimental Parasitology*, 145, S28-S33. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.07.001>
- Brown, S., & Smirnov, A. V. (2004). Diversity of gymnamoebae in grassland soil in southern Scotland. *Protistology*, 3(3), 191–195. [https://www.researchgate.net/profile/Smirnov-Alexey-2/publication/237643922\\_Diversity\\_of\\_gymnamoebae\\_in\\_grassland\\_soil\\_in\\_Southern\\_Scotland/links/57c45ae908aee465796c1eb2/Diversity-of-gymnamoebae-in-grassland-soil-in-Southern-Scotland.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Smirnov-Alexey-2/publication/237643922_Diversity_of_gymnamoebae_in_grassland_soil_in_Southern_Scotland/links/57c45ae908aee465796c1eb2/Diversity-of-gymnamoebae-in-grassland-soil-in-Southern-Scotland.pdf)

- Cabello-Vílchez, M. (2019). *Acanthamoeba* spp. un agente oportunista en infecciones humanas. *Revista De Investigación (de La Universidad Norbert Wiener)*, 4(1), 11–32.  
<https://revistadeinvestigacion.uwiener.edu.pe/index.php/revistauwiener/article/view/34>
- Carrillo, C. (2019). Consumen familias hasta 2 garrafones. *Diario El Mundo*.  
<https://www.diarioelmundo.com.mx/index.php/2019/05/08/consumen-familias-hasta-2-garrafontes/>
- Comisión Nacional del Agua. (2007). *Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento Datos Básicos para Proyectos de Agua Potable y Alcantarillado*. Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento.  
<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/Libros/11DisenoDePlantasPotabilizadorasTipoDeTecnologiaSimplificada.pdf>
- Consejo Nacional de Población. (2010). Capítulo V. Análisis de Resultados. En *Delimitación de las zonas metropolitanas de México*. (pp. 35–191). Secretaría de Gobernación.  
[http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Delimitacion\\_de\\_las\\_zonas\\_metropolitanas\\_de\\_Mexico\\_2010\\_-\\_Analisis\\_de\\_resultados](http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Delimitacion_de_las_zonas_metropolitanas_de_Mexico_2010_-_Analisis_de_resultados)
- De Jonckheere, J. F. (1980). Growth characteristics, cytopathic effect in cell culture, and virulence in mice of 36 type strains belonging to 19 different *Acanthamoeba* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(4), 681–685.  
<https://doi.org/10.1128/aem.39.4.681-685.1980>
- De Jonckheere, J. F. (2002). A Century of Research on the Amoeboflagellate Genus *Naegleria*. *Acta Protozoológica*, 41, 309–342.  
[https://www.researchgate.net/profile/Johan-De-Jonckheere/publication/241626969\\_A\\_Century\\_of\\_Research\\_on\\_the\\_Amoeboflagellate\\_Genus\\_Naegleria/links/5419866f0cf203f155adfa26/A-Century-of-Research-on-the-Amoeboflagellate-Genus-Naegleria.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Johan-De-Jonckheere/publication/241626969_A_Century_of_Research_on_the_Amoeboflagellate_Genus_Naegleria/links/5419866f0cf203f155adfa26/A-Century-of-Research-on-the-Amoeboflagellate-Genus-Naegleria.pdf)
- De la Rosa-Montiel, M. C. (2014). *El consumo del agua embotellada en el Distrito Federal y su impacto económico-social. Un enfoque institucional*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

<https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2019/07/El-consumo-del-agua-embotellada-en-el-Distrito-Federal-y-su-impacto-econ%C3%B3mico-social.-Un-enfoque-institucional.pdf>

- De Mers, L. D., & Renner, R. C. (1993). Alternative Disinfection Technologies for Small Systems. *Opflow*, 19(2), 1–6. <https://doi.org/10.1002/j.1551-8701.1993.tb00318.x>
- Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización NOM-127-SSA1-1994.
- Enciso, A. (2010). La Jornada: México, primer lugar en consumo de agua embotellada; la demanda crece 40%. *La Jornada*.  
<https://www.jornada.com.mx/2010/05/18/sociedad/041n1soc>
- Enríquez-Vázquez, J. (2020). *Diseño de una planta embotelladora de agua mediante un sistema de purificación por osmosis inversa*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.  
<http://132.248.9.195/ptd2020/noviembre/0805608/Index.html>
- Environmental Protection Agency (EPA). (1999). *Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual*.  
<https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi?Dockkey=2000229L.txt>
- Ettinger, M., Webb, S., Harris, S., McIninch, S., C.Garman, G., & Brown, B. (2002). Distribution of free-living amoebae in James River, Virginia, USA. *Parasitology Research*, 89(1), 6–15. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0707-3>
- Fahey, R. J. (1990). The UV Effect on Wastewater. *Water Engineering & Management*., 137(12), 15–18.
- Fenchel, T. (1987a). Ecology of Protozoa. *Brock/Springer Series in Contemporary Bioscience*. Published. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-06817-5>
- Fenchel, T. (1987b). *The Biology of Free-Living Phagotrophic Protists*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. [https://www.researchgate.net/profile/Tom-Fenchel/publication/44455276\\_The\\_Biology\\_of\\_Free-](https://www.researchgate.net/profile/Tom-Fenchel/publication/44455276_The_Biology_of_Free-)

[Living Phagotrophic Protists/links/0deec5389ea9b85f89000000/The-Biology-of-Free-Living-Phagotrophic-Protists.pdf](#)

- Fluvia, C., Mascaró, C., Guevara, D. C., Pérez, M. I., Mascaró, M. L., & Osuna, A. (1983). Aislamiento de amebas de vida libre a partir de aguas minerales y mineromedicinales envasadas. *Revista Ibérica de Parasitología*, 43(1), 33–38. [https://bibliotecavirtual.ranf.com/i18n/catalogo\\_imagenes/grupo.cmd?path=1000700](https://bibliotecavirtual.ranf.com/i18n/catalogo_imagenes/grupo.cmd?path=1000700)
- García-Miranda, G. A. (1993). *Estudio de la evolución clínico-neurohistopatológica de la encefalitis amibiana granulomatosa (EAG) inducida en ratones por Acanthamoeba hatchetti (Acanthamoebidae Sawyer Griffin, 1975)*. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2014/anteriores/microformas/0190106/Index.html>
- García-Ortíz, L. A. (2017). *Análisis comparativo de la calidad de las aguas embotelladas que se consumen en la Ciudad de México y Área Metropolitana*. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas. IPN. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/22801>
- Gaytán, M., Castro, T., Bonilla, P., Lugo, A., & Vilaclara, G. (1997). Preliminary study of selected drinking water samples in Mexico City. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 13(2), 73–78. [https://www.researchgate.net/profile/Patricia-Bonilla-Lemus/publication/26474503\\_Preliminary\\_study\\_of\\_selected\\_drinking\\_water\\_samples\\_in\\_Mexico\\_City/links/5511b6150cf270fd7e316bc3/Preliminary-study-of-selected-drinking-water-samples-in-Mexico-City.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Patricia-Bonilla-Lemus/publication/26474503_Preliminary_study_of_selected_drinking_water_samples_in_Mexico_City/links/5511b6150cf270fd7e316bc3/Preliminary-study-of-selected-drinking-water-samples-in-Mexico-City.pdf)
- Giese, A. C., & Christensen, E. (1954). Effects of Ozone on Organisms. *Physiological Zoology*, 27(2), 101–115. <https://www.jstor.org/stable/30154518>
- González-Robles, A., Salazar-Villatoro, L., Omaña-Molina, M., Lorenzo-Morales, J., & Martínez-Palomo, A. (2013). *Acanthamoeba royreba*: Morphological features and in vitro cytopathic effect. *Experimental Parasitology*, 133(4), 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.01.011>

- Goudot, S., Herbelin, P., Mathieu, L., Soreau, S., Banas, S., & Jorand, F. (2012). Growth dynamic of *Naegleria fowleri* in a microbial freshwater biofilm. *Water Research*, 46(13), 3958–3966.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.05.030>
- Greub, G., & Raoult, D. (2004). Microorganisms Resistant to Free-Living Amoebae. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(2), 413–433.  
<https://doi.org/10.1128/cmr.17.2.413-433.2004>
- Gutiérrez-Álvarez, A. M., Babativa, Y. L., & Lozano, I. (2004). Presentación de datos. *Revista Ciencias de la Salud*, 2(1), 65-73.  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-72732004000100011&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-72732004000100011&lng=en&tlng=es)
- Hannisch, W., & Hallagan, L. F. (1997). Primary amebic meningoencephalitis: a review of the clinical literature. *Wilderness & Environmental Medicine*, 8, 211–213. [https://www.wemjournal.org/article/S1080-6032\(97\)70971-2/pdf](https://www.wemjournal.org/article/S1080-6032(97)70971-2/pdf)
- Hernández-Gómez, P. Y. (2019). *Detección de amibas de vida libre en aguas de piscina*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2019/septiembre/0795824/Index.html>
- Hilleboe, H. E. (1974). *Manual de tratamiento de aguas negras*. Departamento de Sanidad del Estado de Nueva York. Limusa. México.
- Hines, W. W., & Montgomery, D. C. (1996). *Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Administración*. (2ª Edición en español). Compañía Editorial Continental, S. A. de C. V. <http://vicamswitch.mx/wp-content/uploads/2019/05/Montgomery-y-Hines-Probabilidad-y-estad%C3%ADstica.pdf>
- Hofmann, R., Andrews, B., & Lachmaniuk, P. (2004). Guidelines for Ultraviolet Disinfection of Drinking Water: Considerations for Ontario. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67(20–22), 1805–1812.  
<https://doi.org/10.1080/15287390490492476>
- Hsu, B. M., Huang, C. C., Chen, J. S., Chen, N. H., & Huang, J. T. (2011). Comparison of potentially pathogenic free-living amoeba hosts by *Legionella* spp. in substrate-associated biofilms and floating biofilms from spring

environments. *Water Research*, 45(16), 5171–5183.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.07.019>

- Huff, C. B., Smith, H. F., Boring, W. D., & Clarke, N. A. (1965). Study of Ultraviolet Disinfection of Water and Factors in Treatment Efficiency. *Public Health Reports (1896–1970)*, 80(8), 695. <https://doi.org/10.2307/4592510>
- John, D. T. (1993). Opportunistically pathogenic free-living amoebae. En J. P. Kreier & J. R. Baker (Eds.), *Parasitic Protozoa* (2<sup>a</sup> ed., Vol. 3, pp. 143–246). Academic Press Inc.
- Lasake, I., Korte, J., Lamendella, R., Kaneshiro, E. S., Marciano-Cabral, F., & Oerther, D. B. (2010). Identification of *Naegleria fowleri* in Warm Ground Water Aquifers. *Journal of Environmental Quality*, 39(1), 147–153. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0062>
- Lorenzo-Morales, J., Martínez-Carretero, E., Batista, N., Álvarez-Marín, J., Bahaya, Y., Walochnik, J., & Valladares, B. (2007). Early diagnosis of amoebic keratitis due to a mixed infection with *Acanthamoeba* and *Hartmannella*. *Parasitology Research*, 102(1), 167–169. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0754-x>
- Marciano-Cabral, F. (1988). Biology of *Naegleria* spp. *Microbiological Reviews*, 52(1), 114–133. <https://doi.org/10.1128/mr.52.1.114-133.1988>
- Martinez, A. J., & Janitschke, K. (1985). Acanthamoeba, an opportunistic microorganism: A review. *Infection*, 13(6), 251–256. <https://doi.org/10.1007/bf01645432>
- Martinez, A. J., & Visvesvara, G. S. (1997). Free-living, Amphizoic and Opportunistic Amebas. *Brain Pathology*, 7(1), 583–598. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1997.tb01076.x>
- Martínez-Melgarejo, I. D. (2016). *Evaluación del sistema de potabilización para abastecimiento de agua segura en el Instituto de Ingeniería de la UNAM*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingeniería. UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2017/febrero/0755850/Index.html>
- Michel, R., Schmid, E. N., Böker, T., Hager, D. G., Müller, K. D., Hoffmann, R., & Seitz, H. M. (2000). *Vannella* sp. harboring Microsporidia-like organisms

isolated from the contact lens and inflamed eye of a female keratitis patient. *Parasitology Research*, 86(6), 514–520.

<https://doi.org/10.1007/s004360050704>

- Montero, D. (2020). Capitalinos han consumido 140% más de agua embotellada durante la pandemia. *Boletines UAM*.  
<http://www.comunicacionsocial.uam.mx/boletinesuam/436-20.html>
- Montero-Contreras, D. (2017). *Purificadoras de agua y consumo masivo: el agua de los pobres*. Agua.org.mx. <https://agua.org.mx/purificadoras-agua-consumo-masivo-agua-los-pobres/>
- Montero-Contreras, D. P. (2016). El consumo de agua embotellada en la Ciudad de México desde una perspectiva institucional. *Agua y Territorio*, 7, 35–49. <https://doi.org/10.17561/at.v0i7.2961>
- Oddó, D. (2006). Infecciones por amebas de vida libre: Comentarios históricos, taxonomía y nomenclatura, protozoología y cuadros anátomo-clínicos. *Revista chilena de infectología*, 23(3), 200–214. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182006000300002>
- Page, F. C. (1988). *A new key to Freshwater and soil Gymnamoebidae with instructions for culture*. Ambleside: Freshwater Biological Association.
- Rajeshwar, K., & Ibañez, J. G. (1997). *Environmental Electrochemistry: Fundamentals and Applications in Pollution Abatement*. Elsevier Science & Technology Books. [https://www.researchgate.net/profile/Jorge-Ibanez-9/publication/284100018\\_Environmental\\_Electrochemistry\\_Fundamentals\\_and\\_Applications\\_in\\_Pollution\\_Abatement/links/56bb473108ae2d6f2013a35e/Environmental-Electrochemistry-Fundamentals-and-Applications-in-Pollution-Abatement.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jorge-Ibanez-9/publication/284100018_Environmental_Electrochemistry_Fundamentals_and_Applications_in_Pollution_Abatement/links/56bb473108ae2d6f2013a35e/Environmental-Electrochemistry-Fundamentals-and-Applications-in-Pollution-Abatement.pdf)
- Ramírez, E., Ibarra, D. P., Robles, E. S., Sainz, M. G., Martínez, M. E., Ayala, R., Correa-Metrio, A., y Rivera-Aguilar, V. M. (2017). Occurrence of Gymnamoebae and physico-chemical parameters in an industrial wastewater treatment system. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*. 6(4), 13–20.

- Ramírez, E., Robles, E., Ayala, R., Martínez, B. (2012). Calidad amebológica del agua de pozos utilizados para suministro de agua potable en el Estado de Hidalgo. *Ingeniería*. 16(3), 219-228.  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46725267006>
- Ramírez, E., Robles, E., Bonilla, P., Sainz, G., Lopez, 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. *Engineering in Life Sciences*. 5(3), 253–258.  
<https://doi.org/10.1002/elsc.200420071>
- Ramírez, E., Robles, E., González, M. E., y Martínez, M. E. (2010). Microbiological and Physicochemical Quality of Well Water Used as a Source of Public Supply. *Air, Soil and Water Research*. 3, 105–112.  
<https://doi.org/10.4137/aswr.s4823>
- Ramírez, E., Robles, E., Martínez, B., Ayala, R., Sainz, G., Martínez, M. E., y González, M. E. (2014). Distribution of free-living amoebae in a treatment system of textile industrial wastewater. *Experimental Parasitology*. 145, S34-S38. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.07.006>
- Ramírez, E., Robles, E., Martínez, M. E., Sainz, M. G., Martínez, B., Rivas, B. I., y Rocha, A. (2016). Distribution of free-living amoebae in springs in Morelos, Mexico. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*. 5(6), 057–067.
- Ramírez, E., Robles, E., Sainz, M. G., Ayala, R., y Campoy, E. (2009). Calidad Microbiológica del Acuífero de Zacatepec, Morelos, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 25(4), 247–255.  
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37012013005>
- Raper, K. B., Worley, A. C., y Kessler, D. (1977). Observations on *Guttulinopsis vulgaris* and *Guttulinopsis nivea*. *Mycologia*. 69(5), 1016–1030.  
<https://doi.org/10.1080/00275514.1977.12020153>
- Rivera, F., Bonilla, P., Ramírez, E., Calderón, A., Gallegos, E., Rodríguez, S., Ortiz, R., Hernández, D., y Rivera, V. (1994). Seasonal distribution of air-borne pathogenic and free-living amoebae in Mexico City and its suburbs. *Water, Air, and Soil Pollution*. 74(1–2), 65–87. <https://doi.org/10.1007/bf01257148>

- Rivera, F., Galván, M., Robles, E., Leal, P., González, L., y Lacy, A. M. (1981). Bottled Mineral Waters Polluted by Protozoa in Mexico. *The Journal of Protozoology*. 28(1), 54-56. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1981.tb02803.x>
- Robles, E., Ramírez, E., Sáinz, M. G., Martínez, B., Ayala, R., González, M. E., Hernández, P., y Olmos, M. (2019). Microbiological and Physico-chemical Study of Swimming Pool Water. *International Research Journal of Advanced Engineering and Science*. 4(4), 15–20.
- Salazar, H. C., Moura, H., y Ramos, R. T. (1982). Isolamento de amebas de vida livre a partir de água mineral engarrafada. *Revista de Saúde Pública*. 16(5), 261–267. <https://doi.org/10.1590/s0034-89101982000500001>
- Scheid, P. (2007). Mechanism of intrusion of a microspordian-like organism into the nucleus of host amoebae (*Vannella* sp.) isolated from a keratitis patient. *Parasitology Research*, 101(4), 1097–1102. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0590-z>
- Schuster, F. (1979). Small amebas and ameboflagellates. En S. H. Hutner (Ed.), *Biochemistry and physiology of protozoa*. (Vol. 1, pp. 215–285). Academic Press.
- Schuster, F. L. (2002). Cultivation of Pathogenic and Opportunistic Free-Living Amebas. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(3), 342–354. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.3.342-354.2002>
- Schuster, F. L., & Visvesvara, G. S. (2004). Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *International Journal for Parasitology*, 34(9), 1001–1027. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.06.004>
- Sígala-Regalado, I. (2008). *Registro protozoológico en cinco biotopos de la cueva de los Riscos, Querétaro, México*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. <http://132.248.9.195/ptd2008/septiembre/0631622/Index.html>
- Sistema de Aguas de la Ciudad de México (SACMEX). (2017). *Ley de Agua y Sustentabilidad Hídrica. Sistema de Aguas de la Ciudad de México*. <https://www.sacmex.cdmx.gob.mx/storage/app/media/index/LeySustentabilidad.pdf>

- Smirnov, A. V., & Brown, S. (2004). Guide to the methods of study and identification of soil gymnamoebae. *Protistology*, 3(3), 148–190.  
[https://www.researchgate.net/profile/Smirnov-Alexey-2/publication/284552966\\_Guide\\_to\\_the\\_methods\\_of\\_study\\_and\\_identification\\_of\\_soil\\_gymnamoebae/links/57c847f508aec24de044eea4/Guide-to-the-methods-of-study-and-identification-of-soil-gymnamoebae.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Smirnov-Alexey-2/publication/284552966_Guide_to_the_methods_of_study_and_identification_of_soil_gymnamoebae/links/57c847f508aec24de044eea4/Guide-to-the-methods-of-study-and-identification-of-soil-gymnamoebae.pdf)
- Smirnov, A. V., & Goodkov, A. V. (1999). An illustrated list of basic morphotypes of Gymnamoebia (Rhizopoda, Lobosea). *Protistology*, 1, 20–29.  
[https://www.researchgate.net/profile/Smirnov-Alexey-2/publication/228585031\\_An\\_illustrated\\_list\\_of\\_basic\\_morphotypes\\_of\\_Gymnamoebia\\_Rhizopoda\\_Lobosea/links/57c46c9008ae5e5a8191b9f2/An-illustrated-list-of-basic-morphotypes-of-Gymnamoebia-Rhizopoda-Lobosea.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Smirnov-Alexey-2/publication/228585031_An_illustrated_list_of_basic_morphotypes_of_Gymnamoebia_Rhizopoda_Lobosea/links/57c46c9008ae5e5a8191b9f2/An-illustrated-list-of-basic-morphotypes-of-Gymnamoebia-Rhizopoda-Lobosea.pdf)
- Smirnov, A. V., Chao, E., Nassonova, E. S., & Cavalier-Smith, T. (2011). A Revised Classification of Naked Lobose Amoebae (Amoebozoa: Lobosa). *Protist*, 162(4), 545–570. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2011.04.004>
- Sommer, R., Cabaj, A., Hirschmann, G., & Haider, T. (2008). Disinfection of Drinking Water by UV Irradiation: Basic Principles - Specific Requirements - International Implementations. *Ozone: Science & Engineering*, 30(1), 43–48.  
<https://doi.org/10.1080/01919510701759181>
- SYPYSA. (2019). *Osmosis inversa*. SYPYSA. Tratamiento de Agua.  
<https://www.sypysa.com.mx/soluciones-tratamiento-agua/>
- Torres-Mercado, T. (2015). Proyecto de decreto por el que se reforman diversas disposiciones de la Ley Federal de Presupuesto y Responsabilidad Hacendaria. LXII Legislatura. Senado de la Republica.  
[https://www.senado.gob.mx/64/gaceta\\_comision\\_permanente/documento/55588](https://www.senado.gob.mx/64/gaceta_comision_permanente/documento/55588)
- Tourliere, M. (2015). El agua embotellada, el gran negocio del Siglo XXI. *Proceso*. <https://www.proceso.com.mx/reportajes/2015/12/5/el-agua-embotellada-el-gran-negocio-del-siglo-xxi-156018.html>
- Tsai, G. J., y Yu, S. C. (1997). Microbiological evaluation of bottled uncarbonated mineral water in Taiwan. *International Journal of Food*

*Microbiology*. 37(2–3), 137–143. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(97\)00065-2](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(97)00065-2)

- Tyndall, R. L., Ironside, K. S., Metler, P. L., Tan, E. L., Hazen, T. C., y Fliermans, C. B. (1989). Effect of thermal additions on the density and distribution of thermophilic amoebae and pathogenic *Naegleria fowleri* in a newly created cooling lake. *Applied and Environmental Microbiology*. 55(3), 722–732. <https://doi.org/10.1128/aem.55.3.722-732.1989>
- Yera, H., Goldschmidt, P., y Chaumeil, C. (2012). Amibes libres: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia*. *EMC - Biologie Médicale*. 7(4), 1–8. [https://doi.org/10.1016/s2211-9698\(12\)57770-8](https://doi.org/10.1016/s2211-9698(12)57770-8)

## ANEXOS

Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.

*Tabla 11. Límites permisibles de características microbiológicas (NOM-127-SSA1-1994).*

CARACTERÍSTICA	LIMITE PERMISIBLE
<b>Organismos coliformes totales</b>	Ausencia o no detectables
<b><i>E. coli</i> o coliformes fecales u organismos termotolerantes</b>	Ausencia o no detectables

*Tabla 12. Límites permisibles de características físicas y organolépticas (NOM-127-SSA1-1994).*

CARACTERÍSTICA	LIMITE PERMISIBLE
<b>Color</b>	20 unidades de color verdadero en la escala de platino-cobalto.
<b>Olor y Sabor</b>	Agradable (se aceptarán aquellos que sean tolerables para la mayoría de los consumidores, siempre que no sean resultado de condiciones objetables desde el punto de vista biológico o químico).
<b>Turbiedad</b>	5 unidades de turbiedad nefelométricas (UTN) o su equivalente en otro método.

Tabla 13. Límites permisibles de características químicas (NOM-127-SSA1-1994).

CARACTERÍSTICA	LIMITE PERMISIBLE
Aluminio	0,20
Arsénico	0,05
Bario	0,70
Cadmio	0,005
Cianuros (como CN-)	0,07
<b>Cloro residual libre</b>	<b>0,2-1,50</b>
Cloruros (como Cl-)	250,00
Cobre	2,00
Cromo total	0,05
Dureza total (como CaCO <sub>3</sub> )	500,00
Fenoles o compuestos fenólicos	0,3
Fierro	0,30
Fluoruros (como F-)	1,50
<b>Hidrocarburos aromáticos en microgramos/l:</b>	
Benceno	10,00
Etilbenceno	300,00
Tolueno	700,00
Xileno (tres isómeros)	500,00
Manganeso	0,15
Mercurio	0,001
Nitratos (como N)	10,00
Nitritos (como N)	1,00
Nitrógeno amoniacal (como N)	0,50
<b>pH (potencial de hidrógeno)</b>	<b>6,5-8,5</b>
<b>Plaguicidas en microgramos/l:</b>	
Aldrín y dieldrín (separados o combinados)	0,03
Clordano (total de isómeros)	0,20
DDT (total de isómeros)	1,00
Gamma-HCH (lindano)	2,00
Hexaclorobenceno	1,00
Heptacloro y epóxido de heptacloro	0,03
Metoxicloro	20,00
2,4 D	30,00
Plomo	0,01
Sodio	200,00
<b>Sólidos disueltos totales</b>	<b>1000,00</b>

Sulfatos (como SO <sub>4</sub> =)	400,00
Sustancias activas al azul de metileno (SAAM)	0,50
Trihalometanos totales	0,20
Yodo residual libre	0,2-0,5
Zinc	5,00

**Nota: Los límites se expresan en mg/l, excepto cuando se indique otra unidad. Las filas en color amarillo son los parámetros que se analizaron en este estudio.**

"Quisiera ser el soñador ardiente  
de inmenso afán y poderoso vuelo  
ceñido con estrellas en la frente,  
y empuñando la lámpara del cielo...  
Y así volar, fluctuando entre los mundos  
y el abismo sin astros indescrito  
y ante el destino de la vida adverso  
donde su barco sin piloto avanza  
mitigar el dolor del Universo  
con los cantos de amor y de esperanza."

*Alfonso Luis Herrera (1868 – 1942).*

