

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
ZARAGOZA**



**ESTUDIO DESCRIPTIVO DE PROTOZOARIOS
PATOGENOS Y NO PATOGENOS EN CAVIDAD
NASOBUCOFARINGEA DE 30 PACIENTES DEL SEXO
FEMENINO PROCEDENTES DE CD. NEZAHUALCOYOTL.**

Tesis por:

Vicente Armando Castellanos Avila.

Jorge Antonio Chávez Jardón.

Asesores, Dres:

Fermín Rivera Agüero.

Raúl Morín Zaragoza.

México, D. F., septiembre 17 de 1982.



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.

INDICE

	PAGINA
1.—Resumen	1
2.—Introducción	5
3.—Material y Métodos	11
4.—Resultados	17
5.—Discusión y Conclusiones	21
6.—Bibliografía	28
7.—Tablas	36

RESUMEN

Se efectuó el análisis protozoológico en la región naso-buco-faríngea de 30 pacientes del sexo femenino, que acudieron a la Clínica Odontológica de la E.N.E.P. Zaragoza U.N.A.M., para tratarse caries dentales, los pacientes fueron seleccionados aleatoriamente.

El muestreo se realizó en condiciones de asepsia y antisepsia, utilizando material previamente esterilizado.

Se utilizaron medios de cultivo específicos para cada grupo de protozoarios, analizando: Amébios, flagelados y ciliados. (1) (2)

Asimismo, se seleccionaron fijadores y tinciones necesarias como coadyuvantes en la clasificación taxonómica, hasta el nivel de especie. En este sentido, se utilizaron también las claves taxonómicas y las pruebas de tolerancia a la temperatura, esto último, sobre todo en el caso de amibas del grupo limax. (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10)

Los cultivos de cada paciente se siguieron durante un período no menor de treinta días y se investigaron simultáneamente organismos patógenos y no patógenos, dentro de los primeros destacan los siguientes amébios:

Entamoeba gingivalis, Entamoeba histolytica, Naegleria fowleri, Acanthamoeba castellanii, Acanthamoeba culbertsoni y el ciliado Balantidium coli.

Se enfatiza el hecho de haber aislado amibas del grupo limax patógenas de pacientes sin síntomas ni signos de meningoencefalitis.

Es en este trabajo que se refiere por primera vez en México, la detección

en pacientes del sexo femenino, de amibas patógenas del grupo limax, así como la existencia de una gran diversidad de especies protozoológicas de vida libre, adaptadas al hábitat del cuerpo humano que se seleccionó para este estudio.

- 1.- Kudo, R.R. 1972. Protozoología, 2a. Ed. C.E.C.S.A., México.
- 2.- Mackinnon, D.L. y R.S.J. Hawes, 1961, An introduction to the study of protozoa. University Press, Oxford, Great Britain, pp. 396-441.
- 3.- Jiménez F., Rivera F., Tijerina M., y Martínez A. 1979.
Modificación a la técnica de Paul R. Earl para fijación y tinción.
Arch. Mex Anat., Vol. 16 (1):48-51.
- 4.- Grasse, p.p. 1952-1953. Protozoaires. Traité de Zoologie. Band I. Masson et. Cie Paris, 1071 p.
- 5.- Kahl, A. 1935. Urtiere oder protozoa I wimpertiere oder ciliata (infusoria). In Dahl's die tierwelt. Deutschlands. Gustav Fischer, Jena 886 p.
- 6.- Nissenbaum, G. 1953 A. Combined method for the rapid fixation and ---
adhesion of ciliates and flagellates. Science. 118: 31.
- 7.- Page, F.C. 1967, Re-definition of the genus Acanthamoeba with description of three species. J. Protozool. 14 (4):709-724.
- 8.- Page, F.C. 1967. Taxonomic criteria for limax amoebae, with description of three new species of Hartmannella and three of Valkampfia. J. Protozool. 14: 499-521.
- 9.- Page, F.C. 1974. A further study of taxonomic criteria for limax amoebae. With descriptions of new species and key to genera. Arch. Protisten. 116: 149-184.

- 10.- Westphal, A. 1977. Protozoos. Zoología Especial.
Ed. Omega, Barcelona, España.

INTRODUCCION

Los protozoarios como agentes patógenos de diferentes enfermedades, han sido descritos en la literatura mundial por varios autores y en diversas épocas, fue precisamente Lösch en 1875, quien describió por primera vez el agente causal de la disentería amibiana Entamoeba histolytica Schaudinn, 1903. Por su parte Malmsten en 1857, describió también por vez primera el ciliado responsable de la balantidiasis; Balantidium coli (Malmsten 1857) Stein, 1862, enfermedad que padecen tanto el hombre como el cerdo, (Faust et al. 1974). En el caso de Giardia lamblia Stiles, 1915, fue Leeuwenhoek en 1685 quien descubrió este protozoario en sus propias heces fecales (Faust et al. 1974); sin embargo, la primera descripción adecuada de este parásito fue hecha por Lambl en 1859, quien le dió a este protozoario el nombre de intestinalis (Faust et al. 1974). En relación con Trichomonas vaginalis, Donne 1837, fue el propio Donne quien primero observó y dió nombre a este parásito humano (Faust et al. 1974).

La patogenicidad en el hombre de amibas del género Acanthamoeba Volkonsky, 1931, fue revelada por Fowler et al. (1965) y por Patras y Andújar (1966), quienes aislaron trofozoitos de Acanthamoeba sp. de un paciente con meningoencefalitis crónica. Del mismo modo, Callicot et al. (1968), aislaron amibas del grupo Acanthamoeba-Naegleria en un paciente con meningoencefalitis. Fue Carter quien (1968) aisló por vez primera las pequeñas amibas del género Naegleria Alexieff, 1912 a partir del líquido cefalorra

quideo de un paciente con meningoencefalitis. El mismo Carter verificó -- posteriormente (1969,1970,1972) que se trataba de amibas del grupo *Limax* - que se parecían mucho a *Naegleria gruberi* Schardinger, 1899, y dió esta - nueva especie el nombre de *Naegleria fowleri* Carter, 1970. (1)(2)(3)

Posteriormente, numerosos autores determinaron y ratificaron, la patogenicidad de algunas especies de amibas pequeñas de vida libre: (4)(5)(6)(7)-(8)

Patras y Andújar (1966) (1966), Callicot (1968), Callicot et al. (1968), Singh y Das (1970), Carter (1970, 1972), Jadin y Hermanne (1971), Chang - (1971), 1974), Jadin y Willaert (1972), Jager y Stama (1972), Culbertson et al. 1972, Anderson et al. (1973), Cerva (1973), Jadin (1973, 1974), -- Das (1974), Das (1974), Hermanne (1974), Martin (1974), Vandepitte (1974), Willaert (1974), Kasprzak y Mazur (1974); y más recientemente: Lastovica (1975), Warehurst y Thomas (1975) De Jonckheere y Van der Voorde (1975 y 1977), De Jonckheere (1977), Martínez et al. (1977), Wellings et al. ---- (1977), Cursons et al. (1978), Griffin (1978), De Jonckheere (1978,1979, - 1981), Cursons et al. (1979) y Wyburn Mason (1979).

Simultáneamente empezaron a aparecer numerosas publicaciones que relacionaban a las pequeñas amibas patógenas con cuerpos de agua, utilizados como lugares recreativos por el hombre, Chang (1972), Jadin (1973), Molet - et al. (1976), Wellings et al. (1977), Lyons y Kapur (1977), Derr Harf et al. (1978), De Jonckheere (1979), Kadlec et al. (1980), Janitschke et al. (1980). (9)(10)(11)

En este mismo sentido, es interesante señalar las observaciones que sobre la dispersión y el ciclo de vida de las amibas libres hiciera Jadin ----- (1974), y los trabajos de Desmet-Paix (1974), sobre la presencia de estas amibas en aguas de piscina y aguas minerales.

En México, Rivera et al. (1978), Rivera et al. (1979), Tomasini y López-Ochoterena (1979), Coronado-Gutiérrez y López-Ochoterena (1980) y Rivera et al. (1981), han detectado estas amibas en grifos, piscinas, tinacos y aguas minerales embotelladas, tanto en el Distrito Federal como en la zona suburbana periférica. (12)(13)(14)

Por otra parte, algunos autores han aislado estas pequeñas amibas patógenas de diferentes partes del organismo humano. Wang y Feldman (1967), aislaron organismos pertenecientes al género Hartmannella, Alexeieff 1912 a partir de la faringe humana. Skocil et al. (1970,1971,1972), realizaron un estudio epidemiológico, para determinar la frecuencia de amibas del grupo Limax en comunidades militares. Shanaker et al. (1971) aislaron Naegleria gruberi de las cavidades nasales en un individuo asintomático. Lengy et al. (1971) aislaron organismos del género Hartmannella sp., ----- Alexeieff, 1912, a partir de pus que drenaba del oído de un paciente. Cerova et al. (1973) aislaron amibas Limax de la mucosa nasal humana. (4)(15) Chang et al. (1975) aislaron una cepa patógena del género Naegleria a partir de un exudado de la cavidad nasal humana. (16)

Por todo lo anterior, se decidió realizar un análisis protozoológico de -

especies, tanto de vida libre como patógenas que pudieran aislarse de la -
región nasobucofaríngea humana. Con este fin se muestrearon treinta pa---
cientes del sexo femenino que asistieron a la Clínica Odontológica, E.N.
E.P. Zaragoza, U.N.A.M., de enero a julio de 1981.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Patras, D. & J. Andjar, 1966. Meningoencephalitis due to Hartmannella (Acanthamoeba). Amer. J. Clin. Pathol 46: 226-233.
- 2.- Callicot, J. H. 1968. Amoebic meningoencephalitis due to free-living amoebas of the Hartmannella (Acanthamoeba) Naegleria group. Am J. of Clin. Pathol 49 (1): 84-91.
- 3.- Carter, F.R., 1970. Primary amoebic meningoencephalitis and the experimental pathological change induced by it. J. Pathol. 100:217-244.
- 4.- Cerva, L. 1973. Isolation of limax-Amoebae from the nasal mucosa of a man. Folia Parasitol (Prague) 20:97-103.
- 5.- Gilbertson, C.G., Essinger, P. Wand Overton W. M. 1972. Amoebic cellulocutaneous invasion by Naegleria aerobia with generalized visceral lesions, after subcutaneous inoculation: An experimental study in Guinea pigs. Amer. J. Clin. Pathol. 57 (3): 375-386.
- 6.- Anderson, K., & A. J. Amieson. 1972. Primary Amoebic meningoencephalitis. Lancet i : 902-903.
- 7.- Martinez, J.A., C.A. Sotelo, J. T. Garcia, J. M. Taramo, E. Willaert and W.P. Stamm, 1977. Meningoencephalitis due to acanthamoeba sp. Acta Neuropath. (Berl). 37: 183-191.
- 8.- Chang, S.L. 1971. Small free-living amoebae: Cultivation, quantitation, identification, pathogenesis and resistance. Current. Topics in comparative pathology, 1: 201-254.
- 9.- Chang, S.L., 1972. Pathogenic free-living amoebae and recreational waters. Proc. Water Pollution (Israel)13:1-12.
- 10.- De Jonckheere, J.F., 1979. Pathogenic free-living amoebae in swimming pools, survey in Belgium, Ann Microbiol (Paris), 130 B (21):205-212.

- 11.- Derr Harf, C.B. Molet, J. Schreiber & M. Kremer, 1978. Epidemiology free-living amoebas in the waters of Strasbourg, France, Ann. Parasitol. Hum. Comp. 53 (5): 467-478.
- 12.- Rivera, R., A. Ortega, E. López-Ochoterena & M.E. Paz, 1979. A quantitative, morphological and ecological study of protozoa polluting Tap-Waters in Mexico City. Trans. Amer. Micros. Soc. 98 (3): 465-469.
- 13.- Rivera, F., M. Galván, E. Robles, P. Leal, L. González & M. Lacy, -- 1981. Bottled mineral waters polluted by protozoa in Mexico. J. Protozool. 28 (1): 54-56.
- 14.- Coronado-Gutiérrez R. López-Ochoterena E. 1980. Análisis protozoológico de diez piscinas localizadas en el Distrito Federal y el Edo. de Morelos, México, Rev. Lat. Amer. Microbiol. 22:157-160.
- 15.- Skocil, V., L. Cerva & C. Serbus, 1970. Epidemiological study of amoebae of the Limax group in military communities, First Report. J. Hyg. Epidem. (Praha). 14: 61-66.
- 16.- Chang, S.L., G.R. Healy, L. Mc Cabe, N. Shumalcer & M.G. Schultz, -- 1975. A strain of pathogenic Naegleria isolated from a human nasal swab. H. Lab. Sci. 12 (1): 1-7.

MATERIAL Y METODOS

1.- RECOLECCION.

El muestreo se llevó a cabo en pacientes del sexo femenino tomando tres - muestras de cada paciente, de las siguientes regiones: nariz, boca y fa-- ringe.

Para la realización de este muestreo, se utilizaron hisopos estériles to- mando con éstos una muestra de cada región y colocándolos inmediatamente en su respectivo medio de cultivo. (I)(II)

Los pacientes que se muestrearon, no refirieron ningún síntoma, ni mostra- ron signo alguno a excepción de la caries dental por la que acudieron a - la Clínica.

El muestreo que fue aleatorio, se realizó en la Clínica Odontológica de - la E.N.E.P. Zaragoza U.N.A.M., ubicada en la región Oriente del Distrito Federal, donde se levantan fuertes polvaredas (tolvaneras), que adquieren mayor importancia si se tiene en cuenta que junto al plantel está uno de los tiraderos de basura más grandes de la Cd. de México.

2. DESCRIPCION DE LAS TECNICAS DE MUESTREO.

Nariz.- En condiciones de asepsia y antisepsia se introduce el hisopo en cada una de las fosas nasales haciendo girar suavemente el hisopo y depositándolos en el medio de cultivo correspondiente.

Boca.- En condiciones de asepsia y antisepsia se introduce el hisopo en la cavidad oral y se impregna con la saliva del paciente a lo largo de la arcada inferior.

Faringe.- Con las mismas condiciones de asepsia y antisepsia se barre suavemente con el hisopo la epiglotis, paladar blando e istmo de las fauces, para luego depositar el hisopo en el medio de cultivo correspondiente. (I)
(II)

3.- MEDIOS DE CULTIVO.

Se utilizaron los siguientes medios de cultivo:

- a) OVOMUCOIDE.- Kudo (1972). (I)
- b) BALAMUTH Y SANDZA.- Kudo (1972)(I), Mackinnon y Hawes (1961). (II)
- c) AGAR-PEPTONA DE VICKERMAN.- Mackinnon y Hawes (1961). (II)

Para cada paciente se prepararon 16 tubos con los medios descritos anteriormente, distribuidos de la siguiente manera:

Tres tubos con medio OVOMUCOIDE colocados a 37°C, incubados a esta temperatura.

Tres tubos de ensaye con medio de BALAMUTH Y SANDZA, incubados a 37°C.

Seis tubos de ensaye con medio de AGAR-PEPTONA colocándolos a -- temperaturas, a 25°C y 38°C. (II)

Para cada lote de tubos se empleó un testigo.

4.- PRUEBA DE TOLERANCIA A LA TEMPERATURA.

Sugerida por Griffin (1972) y De Jonckheere (1979). Las amibas del grupo Limax que crecieron a 25°C fueron incubadas a 38°C para determinar su tolerancia a esta temperatura y obtener un dato más de su posible patogenicidad. Tanto estos cultivos, como los que se mantuvieron desde un principio a 38°C se siguieron subcultivando cada mes durante cuatro meses. (III)

5.- PRUEBA DE PATOGENICIDAD EN RATONES PARA AMIBAS DEL GRUPO LIMAX.

Se realizó, mediante la inoculación intranasal en ratones, de cinco a --- seis mil amibas, se siguió posteriormente la observación de la aparición de signos y síntomas de meningoencefalitis.

Los animales enfermos o muertos fueron necropsiados para la revisión patológica del cerebro.

6.- LECTURA.

La lectura de los medios de cultivo inoculados se realizó cada tercer día, utilizando para esto, microscopio de luz de campo claro a 10x, 45x y 100x, durante por lo menos cuatro semanas para cada paciente.

7.- IDENTIFICACION.

Se efectuó utilizando el microscopio de luz y las claves taxonómicas para protozoología con las que se contaba:

- V Kahl (1931)
- IV Grassé (1952)
- II Mackinnon y Hawes (1961)
- I Kudo (1972)
- VII, VIII, VI Page (1966, 1967, 1974)
- IX Westphal (1977)
- Tesis XI Rivera (1979)
- III Griffin (1972)

8.- FIJACION Y TINCIÓN.

Se utilizaron los siguientes métodos:

- FIJADORES: Bouin-Mackinnon y Hawes (1961),
Kudo (1972). (II)(I)
Zenker-Mackinnon y Hawes (1961). (II)

Nissenbaum-Nissenbaum (1953). (X)

TINCIÓN: Hematoxilina férrica

De Heidenhain-Mackinnon y Hawes (1961). (II)

Earl-Modificada - Jiménez et al. (1979). (XII)

- 1.- Kudo, R.R. 1972. Protozoología, 2a. Ed. C.E.C.S.A. México.
- 2.- Mackinnon, D.L. y R.S.J. Hawes, 1961. An introduction to the study of protozoa. University Press, Oxford, Great Britain, pp. 396-441.
- 3.- Griffin, J.L. 1972. Temperature tolerance of pathogenic and non pathogenic free-living amoebas. Science 178.
- 4.- Grasse, pp. 1952-1953. Protozoaires. Traité de Zoologie. Band 1. Masson et. Cie Paris, 1071 p.
- 5.- Kahl, A. 1935. Urtiere oder protozoa I Wimpertiere oder ciliata (infusoria). In Dahl's die tierwelt Deutschlands. Gustav Fischer, Jena - - 886 p.
- 6.- Page, F.C. 1967. Re-definition of the genus Acanthamoeba with description of three species. J. Protozool. 14 (4): 709-724.
- 7.- Page, F.C. 1967. Taxonomic criteria for limax amoebae, with description of three new species of Hartmannella and three of Vahlkampfia. J. Protozool. 14:499-521.
- 8.- Page, F.C. 1974. A further study of taxonomic criteria for limax amoebae. With descriptions of new species and key to genera. Arch. Protisten. 116: 149-184.
- 9.- Westphal, A. 1977. Protozoos. Zoología Especial. Ed. Omega, Barcelona, España.
- 10.- Nissenbaum, G. 1953, A combined Method for the rapid fixation and --- adhesion of ciliates and flagellates. Science. 118:31.
- 11.- Rivera F. 1979. Estudio monográfico de dos especies del grupo limax Naegleria gruberi y Acanthamoeba astronyxis (Protozoa, Sarcodina). Tesis Doctoral Fac. Ciencias U.N.A.M. pp. 1-173.
- 12.- Jiménez F. Rivera F. Tijerina M. y Martínez A. 1979. Modificación a la técnica de Paul R. Earl para fijación y tinción. Arch. Mex. Anat., Vol. 16(1):48-51.

R E S U L T A D O S

1). Los resultados obtenidos aparecen en las tablas números I, II, III y -
IV.

Tabla No. I.- Listado de especies patógenas y no patógenas aisladas de la región nasobucofaringea en treinta pacientes del sexo femenino, identificadas durante el presente estudio y su tolerancia a la temperatura por -- más de cuatro semanas.

Tabla No. II.- Listado de especies patógenas y no patógenas encontradas - en la cavidad nasal.

Tabla No. III.- Listado de especies patógenas y no patógenas encontradas en la cavidad oral.

Tabla No. IV.- Listado de especies patógenas y no patógenas encontradas - en faringe.

Las especies que se sometieron a una temperatura de 38°C. y que lograron resistir dicha temperatura son:

- a) Acanthamoeba castellani.
- b) Acanthamoeba culbertsoni.
- c) Balantidium coli.
- d) Entamoeba gingivalis.
- e) Entamoeba histolytica.
- f) Naegleria fowleri.

2). Los protozoarios más frecuentemente detectados en todo el estudio ---
son:

- 1.- Bodomorpha minima.
- 2.- Naegleria fowleri.
- 3.- Bodo saltans.

De cada grupo los protozoarios más frecuentes son:

Amibidos patógenos - Naegleria fowleri.

Flagelados patógenos - No se detectaron

Ciliados patógenos - Balantidium coli.

Amibidos no patógenos- Naegleria gruberi.

Flagelados no patógenos- Bodomorpha minima.

De cada medio los protozoarios más frecuentes son:

OVOMUCOIDE: Bodomorpha minima.

Chromulina pascheri.

Bodo saltans.

BALAMUTH: Acanthamoeba castellani.

Bodomorpha minima.

Naegleria fowleri.

AGAR PEPTONA: Naegleria gruberi.

VICKERMAN 25°C.: Vahlkampfia limax.

Bodomorpha minima.

Bodo saltans.

VICKERMAN 38°C.: Bodo edax.
Naegleria fowleri.
Acanthamoeba castellanii.
Balantidium coli.
Acanthamoeba culbertsoni.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Grase, P.P. 1952-1953. Protozoaires. Traité de Zoologie. Band I. Masson et. Cie. Paris, 1071 p.
- 2.- Kahl, A. 1935. Urtiere oder protozoa I wimpertiere oder ciliata (infusoria) In Dahl's die tierwelt Deutschalands Gustav Fischer, Jena 886 p.
- 3.- Kudo, R.R. 1972. Protozoologia, 2a. Ed. C.E.C.S.A. México.
- 4.- Page, F.C. 1967. Re-definition of the genus acanthamoeba with description of three species J. Protozool. 14 (9): 7-9-724.
- 5.- Page, F.C. 1967. Taxonomic criteria for limax amoebae, with description of three new species of Hartmannella and three of Vahlkampfia.
- 6.- Page, F.C. 1974. A further study of taxonomic criteria for limax amoebae. With descriptions of new species and key to genera. Arch. Protisten. 116: 149-184.
- 7.- Westphal, A. 1977. Protozoos Zoologia Especial. Ed. Omega, Barcelona, España.
- 8.- Griffin, J.L. 1972. Temperature tolerance of pathogenic and non-pathogenic free-living amoebas. Science. 178.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Del examen de la tabla No. 1 se hace evidente de inmediato la detección y aislamiento de protozoarios patógenos y no patógenos. En cuanto a los primeros cabe destacar dentro del grupo de los amébios, a Entamoeba histolytica, parásito endémico en nuestra población. En este sentido, conviene señalar que Entamoeba histolytica no había sido detectada anteriormente en México dentro del habitat estudiado.

Asimismo se han aislado e identificado organismos de tres especies de amibas pequeñas de vida libre (Acanthamoeba castellani, Acanthamoeba culbertsoni y Negleria fowleri), cuya patogenicidad en los humanos ha sido demostrada por varios autores en diferentes épocas: Fowler et al. (1965), Patras y Andžjar (1966), Callicot et al. (1968), Carter (1966, 1969, 1970, 1972) y más recientemente Anderson et al. (1973), Jadin (1973, 1974), Willaert (1974), de Jonckheere (1978, 1979, 1981), corroboradas para este estudio mediante instilación intranasal de cinco mil a seis mil amibas de cada especie en ratones (Mus-musculus), Willaert (1976), Pernin et al. (1979).

Se efectuó también la prueba de tolerancia a la temperatura para diferenciar entre especies patógenas y no patógenas de amibas del grupo Limax; Griffin (1972) y de Jockheere (1979), cuyos resultados aparecen en la Tabla No. V.

Dentro de los amébios no patógenos identificados y aislados que aparecen

en la tabla No. V, vale la pena comentar la preponderancia de amibas pequeñas del grupo Limax que hasta la fecha no se han considerado patógenas para los humanos (7,10,11 y 12) y que se detectan por primera vez en México dentro de este hábitat. Se desea enfatizar que organismos de Entamoeba gingivalis considerados como habitantes comunes de la cavidad oral sólo se encontraron en cuatro pacientes.

En cuanto al grupo de los flagelados patógenos (tabla No. I), no se detecta ninguna especie. En cambio, en cuanto a los flagelados no patógenos se aislaron e identificaron diez especies consideradas habitualmente como de vida libre (véase tabla No. V del 14 al 23), y no reportadas en nuestro medio hasta la fecha, en este tipo de hábitat.

En cuanto a protozoarios ciliados, sólo se aisló e identificó a organismos de la especie Balantidium coli (véase tabla No. V, No. 6).

Si se analiza la tabla No. I, se evidencia que las especies más frecuentemente encontradas fueron:

- a) Bodoornpha minima.
- b) Naegleria fowleri.
- c) Bodo saltans.

En cuanto a grupo la especie más frecuentemente detectada fue:

- a) Amébidos patógenos: Naegleria fowleri
- b) Amébidos no patógenos: Naegleria gruberi

c) Flagelados no patógenos: Bodonomorpha minima

d) Ciliados patógenos: Balantidium coli

En cambio en cuanto a medio de cultivo utilizado, las tres especies más frecuentemente encontradas fueron:

7. OVOMUCOIDE:

a) Bodonomorpha minima

b) Chromulina pascheri

c) Bodo saltans

II. BALAMUTH Y SANDZA

a) Acanthamoeba castellanii

b) Bodonomorpha minima

c) Entamoeba histolytica

d) Naegleria fowleri

III. AGAR- PEPTONA DE VICKERMAN 25°C.

a) Naegleria gruberi

b) Vahlkampfia limax

c) Bodonomorpha minima

IV. AGAR- PEPTONA DE VICKERMAN 37°C.

a) Bodonomorpha minima

b) Bodo saltans

c) Bodo edax

V. AGAR- PEPTONA DE VICKERMAN 38°C.

- a) Naegleria fowleri
- b) Acanthamoeba castellanii
- c) Balantidium coli
- d) Acanthamoeba culbertsoni
- e) Entamoeba histolytica

Los resultados de este trabajo son también muy importantes si se considera el haberse aislado especies de amibas patógenas del grupo limax de pacientes completamente asintomáticos en relación a la meningoencefalitis, lo -- cual nos lleva a considerar la posible existencia de portadores humanos sa nos de este tipo de amibas productoras de meningoencefalitis amibiana pri- maria.

Por otra parte, dentro de este trabajo un hecho que podría explicar la -- gran cantidad de especies aisladas podría ser la frecuente existencia de tolvaneras que se generan en la región oriente del Distrito Federal, lugar donde se ubica la Clínica donde se muestrearon los pacientes; así como también, la cercanía de la misma a uno de los principales tiraderos de basura de la Ciudad de México.

Sin embargo, la importancia de estos dos elementos debe analizarse más -- profundamente.

CONCLUSIONES

- 1.- Se detectaron y aislaron protozoarios patógenos de un hábitar poco común para ellos (a excepción de Entamoeba gingivalis):
 - a) Entamoeba gingivalis.
 - b) Entamoeba histolytica.
 - c) Balantidium coli.
- 2.- Se aislaron, identificaron y cultivaron especies de amibas patógenas del grupo Limax:
 - a) Acanthamoeba castellanii.
 - b) Acanthamoeba culbertsoni.
 - c) Naegleria fowleri (de pacientes sin ningún signo ni síntoma de meningoencefalitis).

- 3.- Los resultados de este trabajo permiten formular la hipótesis de la existencia de portadores humanos sanos de especies de amibas patógenas del grupo *Limax*.
- 4.- Se aislaron de la región naso-buco-faríngea, se identificaron y cultivaron muchos protozoarios de vida libre cuya presencia en este hábitat se considera poco frecuente y que de hecho es la primera vez que se refiere en México.
- 5.- La ubicación de la Clínica y la procedencia de los pacientes muestreados permiten formular la hipótesis de que las tolvaneras y el gran tiradero de basura de esta zona, juegan un papel determinante en la cantidad y sobre todo diversidad de los protozoarios, patógenos y no patógenos, encontrados en la región nasobucofaríngea humana.
- 6.- Es en este trabajo que se refiere por primera vez en México, la existencia de amibas patógenas del grupo *Limax* en portadores sanos del sexo femenino.
- 7.- De las especies de vida libre aisladas y detectadas, las siguientes no aparecen en la lista taxonómica comentada de protozoarios de vida libre de México.

López Ochoterena y Roure-Cane (1970).

AMEBIDOS NO PATOGENOS

Entamoeba coli

Flabellula mira

FLAGELADOS NO PATOGENOS

Chromulina freiburgensis

Chromulina pascheri

Hymenomonas roseola

Monas guttula

Spiromonas angusta

B I B L I O G R A F I A

- 1.- ANDERSON, K., & A. J. Amieson. 1972. Primary amoebic meningoencephalitis. Lancet i : 902-903.
- 2.- CALLICOT, J.H. 1968. Amoebic meningoencephalitis due to free-living -- amoebas of the Hartmannella (Acanthamoeba)Naegleria group. Am. J. of Clin. Pathol 49(1): 84-91.
- 3.- CALLICOT, J.H., M.N. Jones, E.C. Nelson, J.C. Dos Santos, J.P. Urz, -- R.J. Duma and J. B. Morris.
1968. Meningoencephalitis due to pathogenic free-living amoeba. J. Am. Med. 206: 579.
- 4.- CARTER F.R. 1970. Primary amoebic meningoencephalitis and the experi-- mental pathological changes induced by it. J. Pathol. 100: 217-244.
- 5.- CARTER, F. R. 1972. Primary amoebic meningoencephalitis. An appraisal of present knowledge. Trans. Soc. Trop. Med. Hyg. 66: 193-213.
- 6.- CERVA, L. 1973. Isolation of Limax-Amoebae from the nasal mucosa of a man. Folia Parasitol. (Prague)20: 97-103.
- 7.- CULBERTSON C. G., Ensminger. P. Wand Overton W.M. 1972. Amoebic cellulocutaneous invasion by Naegleria aerobia with generalized visceral le-- sions, after subcutaneous inoculation: An experimental study in Guinea pigs. Amer. J. Clin. Pathol. 57 (3):375-386.
- 8.- CURSONS, R. T., Brown T.J. & Key E.A. 1978. Diagnosis & identifica--- tion of the etiological agents of primary amoebic meningoencephali--- tis (PAM) N.Z. J. Med. Lab. Technol 32 (1): 11-14.
- 9.- CORONADO-Gutiérrez R. López-Ochoterena E. 1980. Análisis protozoológi-

- co de diez piscinas localizadas en el Distrito Federal y el Edo. de Morelos, Méx., Rev. Lat-amer Microbiol. 22: 157-160.
- 10.- CHANG, S.L. 1971. Small free-living amoebae: Cultivation, quantitation, identification, pathogenesis and resistance. Current Topics in comparative pathology, 1: 201-254.
 - 11.- CHANG, S.L. 1972. Pathogenic free-living amoebae and recreational waters. Proc. Water Pollution (Israel) 13: 1-12.
 - 12.- CHANG, S.L., 1974. Etiological, pathological, epidemiological and --diagnostical, considerations of primary amoebic meningo-encephali---tis. C.R. Crit. Rev. Microbiol. 3: 135-159.
 - 13.- CHANG, S.L., G. R. Healy, L. Mc Cabe, B. Shumaker, and M.G. Schultz. 1975. A strain of pathogenic Naegleria isolated from a human nasal --swab. H. Lab. Sci. 12 (1): 1-7.
 - 14-- DAS, S.R. 1974, Pathogenicity of flagellate stage of Naegleria aero-bia and its bearing on the epidemiology of exogenous amoebiasis. Proceedings of an International Colloquium, Antwerp. 103-108
 - 15.- DE JONCKHEERE, J.F., Van Dijck P. y Van de Voorde H. 1975. The ----- effect of thermal pollution on the distribution of Naegleria fowleri. J. Hyg Camb. 75: 7-13.
 - 16.- DE JONCKHEERE, J.F. 1977. Use of an axenic medium for differentia---tion between pathogenic and non-pathogenic Naegleria fowleri isola--

- tes. Appl. Environ Microbiol. 33 (4): 751-757.
- 17.- DE JONCKHEERE, J. F. 1978. Quantitative study of Naegleria fowleri in surface water. Protistologica 14: 475-481.
 - 18.- DE JONCKHEERE, J.F. 1979. Pathogenic free-living amoebae in swimming-pools, survey in Belgium. Ann. Microbiol (Paris). 130 B (2): 205-212.
 - 19.- DE JONCKHEERE, J.F. 1981. Pathogenic and non-pathogenic Acanthamoeba sp. in thermally polluted discharges and surface waters. J. Protozool. 28 (II): 56-59.
 - 20.- DESMET-PAIX, L. 1974. Recherche Systematique d' amibes dans les eaux de piscines et les eaux minerales. In primary amoebic meningoencephalitis and free living amoebae. Proceedings of an International Colloquium. Antwerp. 185-190.
 - 21.- DERR HARF, C.B. Molet, J. Schreiber, and M. Kremer, 1978. Epidemiology of free-living amoebas in the waters of Strasbourg, France, -- Ann. Parasitol. Hum. Comp. 53 (5): 467-478.
 - 22.- GRASSE, P.P. 1952-1953. Protozoaires. Traité de Zoologie. Band 1. - Masson et. Cie Paris, 1071 p.
 - 23.- GRIFFIN, J.L. 1972. Temperature tolerance of pathogenic and non-pathogenic free-living amoebas. Science. 178.

- 24.- JADIN, J.B., Hermanne J. Robyn G. and Willaert E. Van Maercke Y. and Stevens W. 1971. Trois cas De Meningo-encephalite amibienne primitive A Naegleria gruberi observés à Anvers (Belgique) Annales de la -- Belge de Medicine Tropicale, 51: 255-266.
- 25.- JADIN, Willaert E. y Cômpeere F., 1972. De la neccesité du controle - Biologique dex eaux potables. Bull. Acad. Med. 156: 995-999.
- 26.- JADIN, J.B. 1973. De la méningo-éncéphalite Amibienne et du pouvoir pathogène des Amibes "Limax" Ann Biol. T XII, Fasc. 7-8.
- 27.- JADIN, J.B.. 1974. Les amibes dans les eaux. Path. Biol. 22:81-87.
- 28.- JAGER Y STAMM, 1972, Jager, B.V. y W.P. Stamm. 1972. Brain abscess - caused by free-living amoeba probably of the genus Hartmannella in a patient with Hodgkin's disease. Lancet. 1343-1345.
- 29.- JANITSCHKE, K., H. Werner & G. Muller. 1980. Examination on the occurrence of free-living amoebae with possible pathogenic traits in ---- swimming-pools. Zentral bl. Bakteriol. 1 ABT Orig. B. Hyg. Kranken--- haoshyg. Betriebshyg. Praev. Med. 170 (1-2):108-122.
- 30.- KÄHL, A. 1935. Urtiere oder protozoa I wimpertiere oder ciliata (Infu soria). In Dahl's die tierwelf Deutschlands. Gustav Fischer, Jena 886 p.

- 31.- KADLEC, V., J. Skvaroba, L. Cerva & D. Nebaznyva. 1980, Virulent --- Naegleria fowleri in indoor swimming-pool. Folia Parasitol. (Prague). 27 (1): 11-17.
- 32.- KASPRZAK y Manzur, W., & T. Manzur, 1974. Small free-living amoebae isolated from warm lakes: investigation on epidemiology and virulence of the strains. Proceeding of the Third International Congress of Parasitology. 1:188-189.
- 33.- KUDO, R.R. 1972. Protozoologia, 2a. Ed. C.E.C.S.A. México.
- 34.- LASTOVICA, A.J. 1 1975. Ultrastructure of pathogenic and non pathogenic Naegleria amoebae.
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 69 (2): 286-287.
- 35.- LYONS, T.B. & R. Kapur 1977. Limax amoebae in public swimming-pools of Albany Schenectady and Rensselaer counties. New York, U.S.A. Their concentration correlations and significance. Appl. Environ. Microbiol. 33 (3): 551-555.
- 36.- MACKINNON, D.L. & R.S.J. Hawes, 1961. An introduction to the study - of protozoa. University Press, Oxford, Great Britain, pp. 396-441.
- 37.- MARTINEZ, J. A., C.A. Sotelo, J.T. Garcia, J. M. Tarano, E. Willaert & W.P. Stamm, 1977. Meningoencephalitis due to Acanthamoeba sp. Acta Neuropath. (Berl) 37: 183-191.
- 38.- MOLET B., C. Derr-Harf, J. Schreiber & M. Kremer. 1976. Study of --- free-living amoebae in the waters of Strasbourg, France Ann. Parasitol. Hum. Comp. 51 (4): 401-406.

- 39.- NISSENBAUM, G. 1953. A combined Method for the rapid fixation and -- fixation and adhesion of ciliates and flagellates. Science. 118:31.
- 40.- PAGE, F.C. 1967. Re-definition of the genus Acanthamoeba with des--- cription of three species. J. Protozool. 14 (4): 709-724.
- 41.- PAGE, F.C. 1967. Taxonomic criteria for limax amoebae, with descrip- tion of three new species of Hartmannella and three of Valkampfia. - J. Protozool. 14: 499-521.
- 42.- PAGE, F.C. 1974. A further study of taxonomic criteria for limax --- amoebae. With descriptions of new species and key to genera. Arch. - Protisten. 116: 149-184.
- 43.- PATRAS, D. & Andújar. 1966. Meningoencephalitis due to Hartmannella (Acanthamoeba). Amer. J. Clin. Path. 46: 226-233.
- 44.- RIVERA, F., M.E. Paz and E. López-Ochoterena. 1978. Estudio biológi- co de ambas del grupo Limax, géneros Naegleria y Acanthamoeba. Arch. Mex. Anat. 15 (3):45-48.
- 45.- RIVERA, F., A. Ortega, E. López Ochoterena and M.E. Paz 1979. A quan- titative, Morphological and ecological study of protozoa polluting - Tapwaters in México City. Trans. Amer. Micros. Soc. 98 (3): 465-469.
- 46.- RIVERA, F., M. Galván, E. Robles, P. Leal, L. González and A.M. Lacy, 1981. Bottled mineral waters polluted by protozoa in Mexico. J. Pro- tozool. 28 (1): 54-56.

- 47.- SINGH, B.N. & Das, S.R., 1972. Intra-nasal infection of mice with -- flagellate stage of Naegleria aerobia and its bearing on the epidemiology of man meningo-encephalitis.
- 48.- SHUMAKER, J.B., G.R. Healy, D. English, M. Schultz & F.C. Page. ---- 1971. Naegleria gruberi: Isolation from nasal swab of healthy individual. Lancet: 602-603.
- 49.- SKOCIL, V., L. CERVA, & C. Serbus, 1970. Epidemiological study of -- amoebae of the limax group in military communitis, First Report. J. Hyg. Epidem. (Praha). 14: 61-66.
- 50.- SKOCIL, F., L. Cerva & C. Serbus, 1971. Epidemiological study of --- amoebae of the limax group in military communitis. IV. Relation between - the findings of amoebae in the external environment and their incidence - in the soldier during the investigation into the community. J. Hyg. Epi-- dem. (Praha) 15: 445-449.
- 51.- SKOCIL, V., R. Dvorak, J. Sterba, J. Slajs, C. Serbus & L. Cerva. -- 1972. Epidemiological study of the incidence of amoebae of the Limax ---- group in military communitis. V. Relation between the presence of amoebae of the Limax group in nasal swabs and a pathological finding in nasal mu- cosa. J. Hyg. Epidem.(Praha). 16:101-106.
- 52.- TOMASINI-Ortiz, P. y E. López Ochoterena, 1979. Análisis taxonómico de las especies de protozoarios encontrados en el agua potable de la Cd. de México, Distrito Federal, Rev. Lat. amer. Microbiol. 21: 147-151.

- 53.- WANG, S. S., & H.A. Feldman, 1967. Isolation of Hartmannella species from human throats. New Engl. J. Med. 277: 1174-1179.
- 54.- WARHURST, D.C. & S.C. Thomas, 1975. Acanthamoeba-spp. from corneal ulcers. West J. Med. 123. (3):57 A.
- 55.- WELLINGS, F.M., P. T. Anuso, S.L. Chang, & A.L. Lewis, 1977. Isolation and identification of pathogenic Naegleria from Florida Lakes. Appl. Environ. Microbiol. 34. (6): 661-667.
- 56.- WELLINGS, F.M., A.L. Lewis, P.T. Anuso & S.L. Chang, 1977. Naegleria and water sports. Lancet. 1:199-200.
- 57.- WESTPHAL, A. 1977. Protozoos. Zoología Especial.
Ed. Omega. Barcelona, España.
- 58.- WILLAERT, E., 1974. Primary amoebic meningoencephalitis a selected bibliography and tabular survey do cases. Ann. Soc. Belge. Med. Trop. 54: 205-216.
- 59.- WILLAERT, E. 1976. Etude immuno taxonomique des genres Naegleria et Acanthamoeba (Protozoa: Amoebida). Acta Zoológica et Pathologica Antverpiensia. D'Anvers. 65: 201-217.
- 60.- WYBURN-MASON, R., 1979. The Naegleria causation of rheumatoid disease and many human cancers a new concept in Medicine. Med. Hypotheses. 5 (11): 1237-1250.

T A B L A I

INCIDENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS DE PROTOZOARIOS AISLADOS EN LAS CAVIDADES NASAL,
ORAL Y FARINGEA DE 30 PACIENTES FEMENINOS.

PROTOZOARIOS FLAGELADOS DE VIDA LIBRE

- Spiromonas angusta* (Dujardin)Alexeieff.
- Ochromonas mutabilis* Klebs.
- Monas guttula* Ehrenberg.
- Hymenomonas roseola* Stein.
- Chrysoamoeba radians* Klebs.
- Chromulina pascheri* Hofeneder.
- Chromulina freiburgensis* Doflein.

- Bodomorpha minima* Holl.
- Bodo saltans* Ehrenberg.
- Bodo edax* Klebs.

AMEBIDOS DE VIDA LIBRE

- Vahlkampfia limax* Dujardin.
- Naegleria gruberi* Schardinger.
- Flabellula mira* Schaeffer.

- Entamoeba gingivalis* Gros.
- Entamoeba coli* Grassi.

- Amoeba proteus* (Pallas)Leidy.
- Acanthamoeba astronyxis* Ray & Hayes.

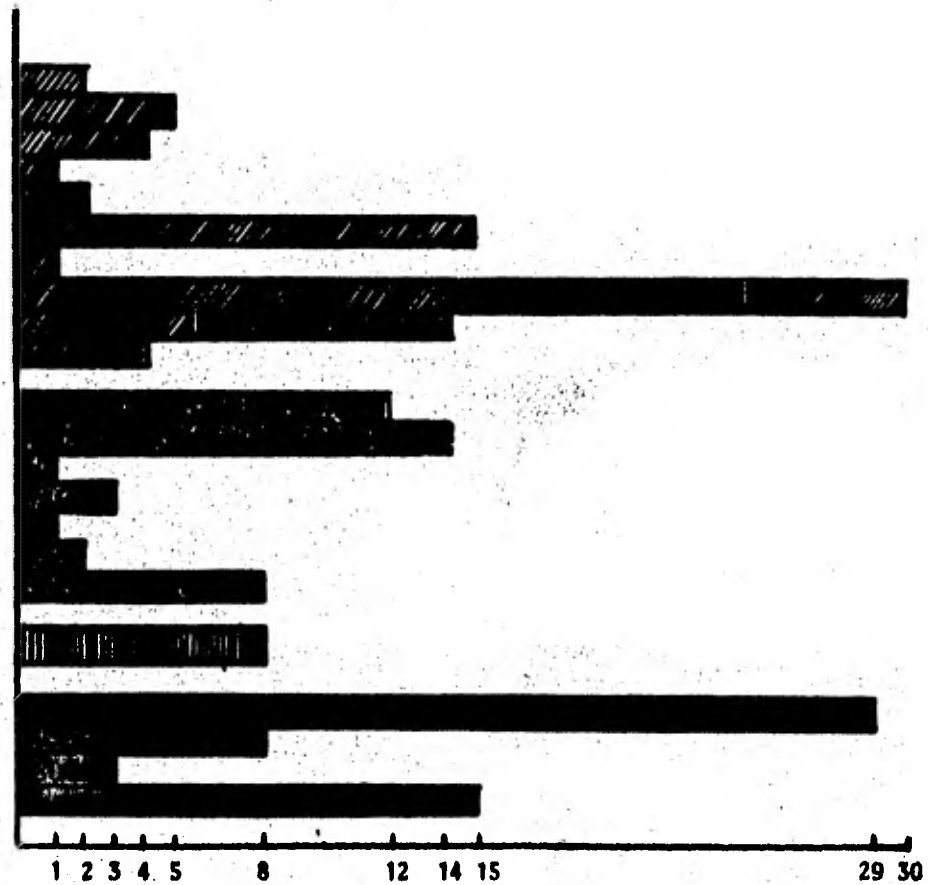
CILIADOS PATOGENOS

- Balantidium coli* (Malmsten)Stein.

AMEBIDOS PATOGENOS

- Naegleria fowleri* Carter.
- Entamoeba histolytica* Schaudinn.
- Acanthamoeba culbertsoni* Singh & Das.
- Acanthamoeba castellanii* Douglas.

NUMERO TOTAL DE MUESTRAS ANALIZADAS: 480.



INCIDENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS.

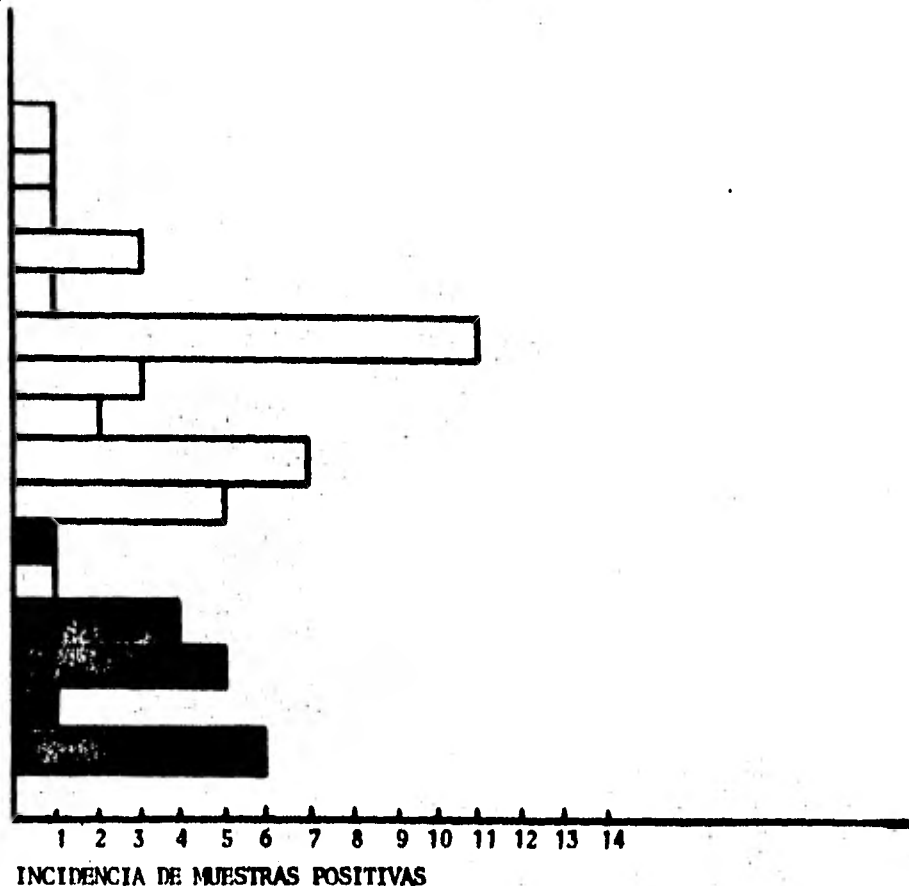
TABLA II.
INCIDENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS EN LA CAVIDAD NASAL -
DE 30 PACIENTES FEMENINOS UTILIZANDO DIFERENTES MEDIOS
DE CULTIVO.

PROTOZOARIOS .

-37-

- Ochromonas mutabilis* Klebs.
- Monas guttula* Ehrenberg.
- Hymenomonas roseola* Stein.
- Chromulina pascheri* Hofeneder.
- Chromulina freiburgensis* Doflein.
- Bodomorpha minima* Holl.
- Bodo saltans* Ehrenberg.
- Bodo edax* Klebs.
- Vahlkampfia limax* Dujardin.
- Naegleria gruberi* Schardinger.
- Entamoeba coli* Grassi.
- Acanthamoeba astronyxis* Ray & Hayes.
- Balantidium coli* (Malmsten) Stein.
- Naegleria fowleri* Carter.
- Entamoeba histolytica* Schaudinn.
- Acanthamoeba castollani* Douglas.

TOTAL DE MUESTRAS ANALIZADAS: 480.



+.- VER MATERIALES Y METODOS.

■ PROTOZOARIOS PATOGENOS.

□ PROTOZOARIOS DE VIDA LIBRE.

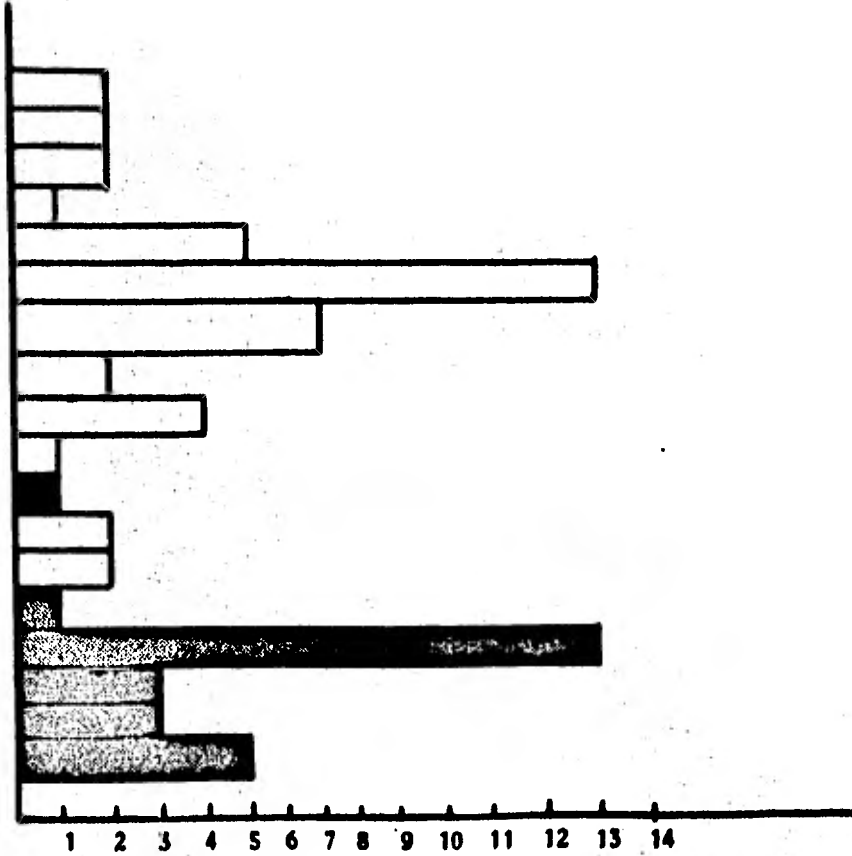
TABLA III

INCIDENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS DE PROTOZOARIOS EN LA CAVIDAD ORAL DE 30 PACIENTES FEMENINAS UTILIZADOS DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO.

PROTOZOARIOS.

- Spiromonas angusta* (Dujardin)Alexeieff.
- Ochromonas mutabilis* Klebs.
- Monas guttula* Ehrenberg.
- Chrysoamoeba radians* Klebs.
- Chromulina pascheri* Hofeneder.
- Bodonomorpha minima* Holl.
- Bodo saltans* Ehrenberg.
- Vahlkampfia limax* Dujardin
- Naegleria gruberi* Schardinger.
- Flabellula mira* Schaeffer.
- Entamoeba gingivalis* Gros.
- Amoeba proteus* (Pallas)Leidy.
- Acanthamoeba astronyxis* Ray & Hayes.
- Balantidium coli* (Malmsten)Stein.
- Naegleria fowleri* Carter.
- Entamoeba histolytica* Schaudinn.
- Acanthamoeba culbertsoni* Singh & Das.
- Acanthamoeba castellanii* Douglas.

NUMERO TOTAL DE MUESTRAS ANALIZADAS: 480.



INCIDENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS

+.- VER MATERIALES Y METODOS.

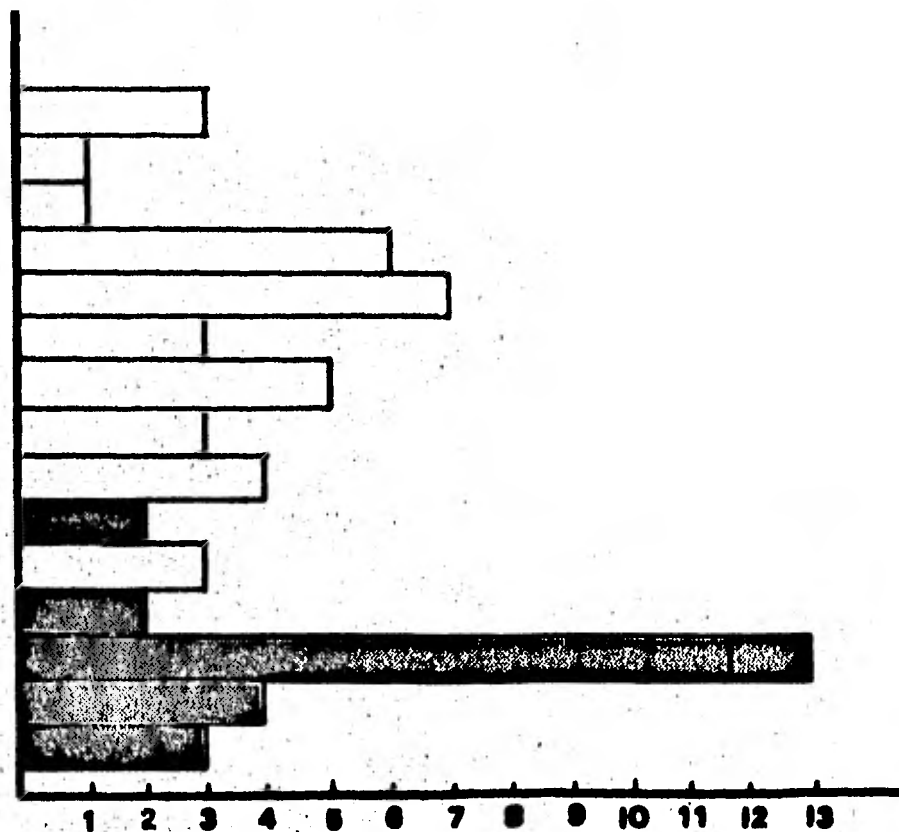
■ PROTOZOARIOS PATOGENOS

□ PROTOZOARIOS DE VIDA LIBRE.

TABLA IV
 INCIDENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS DE PROTOZOARIOS EN LA FARINGE
 DE 30 PACIENTES FEMENINOS UTILIZANDO DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO.

PROTOZOARIOS .

- Ochromonas mutabilis Klebs.
- Monas guttula Ehrenberg.
- Chrysoamoeba radians Klebs.
- Chromulina pascheri Hofeneder.
- Bodomorpha minima Holl.
- Bodo edax Klebs.
- Bodo saltans Ehrenberg.
- Vahlkampfia limax Dujardin.
- Naegleria gruberi Schardinger.
- Entamoeba gingivalis Gros.
- Acanthamoeba astronyxis Ray & Hayes.
- Balantidium coli (Malmsten)Stein.
- Naegleria fowleri Carter.
- Entamoeba histolytica Schaudinn.
- Acanthamoeba castellanii Douglas.



NUMERO TOTAL DE MUESTRAS ANALIZADAS: 480.

INCIDENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS

+ .. VER MATERIAL Y METODOS

■ PROTOZOARIOS PATOGENOS.

□ PROTOZOARIOS DE VIDA LIBRE.

T A B L A V

Amébidos que resistieron (+) de 4 sem. a 38°C.

A M E B I D O S P A T O G E N O S

A M E B I D O S N O P A T O G E N O S

1. ACANTHAMOEBA CASTELLANI-NEFF.
2. ACANTHAMOEBA CULBERTSONI-BOVEE-PAGE.
3. ENTAMOEBIA GINGIVALIS-GROS.
4. ENTAMOEBIA HISTOLYTICA-SCHAUDINN.
5. NAEGLERIA FOWLERI-CARTER.

+
+
+
+
+

7. ACANTHAMOEBA ASTRONYXIS-RAY-HAYES.
8. AMOEBIA PROTEUS-PALLAS.
9. ENTAMOEBIA COLI-GRASSI.
10. FLABELLULA MIRA-SCHAEFFER.
11. NAEGLERIA GRUBERI-SCHARDINGER.
12. VAHLKAMPHIA LIMAX-DUJARDIN.

FLAGELADOS PATOGENOS

N O S E D E T E C T A R O N

FLAGELADOS NO PATOGENOS

13. BODO EDAX-KLEBS.
14. BODO SALTANS-EHRENBERG.
15. BODOMORFA MINIMA-HOLL.
16. CHROMULINA FREIBURGENSIS-DOFLEIN.
17. CHROMULINA PASCHERI-HOFENEDER.
18. CHRYSAMOEBIA RADIANS-KLEBS.
19. HYMENOMONAS ROSEOLA-STEIN.
20. MONAS GUTTULA-EHRENBERG.
21. OCHROMONAS MUTABILIS-KLEBS.
22. SPIROMONAS ANGUSTA-DUJARDIN.

CILIADOS PATOGENOS.

6. BALANTIDIUM COLI - MALMSTEN.