

*Universidad Nacional Autónoma de  
México*

*Facultad de Estudios Superiores Iztacala*

***“CARACTERIZACIÓN DE AMIBAS DE VIDA LIBRE  
PRESENTES EN AGUA SUBTERRÁNEA DEL  
ACUÍFERO DE ZACATEPEC, MORELOS”***

***T E S I S***

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

***B I Ó L O G O***

***P R E S E N T A:***

**JOSÉ LUIS LIMÓN TERRAZAS**

***Directora de Tesis:***

**M. EN C. ELIZABETH RAMÍREZ FLORES**

**Los Reyes Iztacala, Estado de México 2007**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## DEDICATORIAS

*A mi madre y mi padre Yolanda y José Luis, por su apoyo y confianza incondicional y sabios consejos.*

*A mis hermanos Alejandra, Gerardo, a mis sobrinos Itzel y Gael, por su cariño y apoyo constante que me brindan siempre.*

*A mi abuelita Socorro, por su apoyo y cariño que me ha brindado siempre.*

*A todos mi amigos y compañeros de la generación 2004-2007.*

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por haberme formado en sus aulas y brindarme una educación profesional de excelencia.*

*A mi directora de tesis M. en C. Elizabeth Ramírez Flores, gracias por su apoyo y orientación que me prestó para formar parte de su equipo de trabajo a lo largo de este proyecto.*

*A los profesores:*

*Dra. Patricia Bonilla Lemus*

*Dr. Pedro Ramírez García*

*M. en C. Elizabeth Ramírez Flores*

*QFB. Esperanza del S. Robles Valderrama*

*M. en C. María Dolores Hernández Martínez*

*Por su apoyo y disposición dada a lo largo del presente proyecto de investigación.*

*Un especial agradecimiento a los ingenieros:*

*Ing. Fernando Lara Guerrero*

*Ing. Pedro Soto Navarro*

*Ing. Vicente Parra*

*Ing. Alfonso García Sesento*

*Ing. Felipe Nieto López*

*Ing. Ramiro Pelayo Barajas*

*Por todas las facilidades brindadas para la realización de este trabajo y su participación en los muestreos, mi agradecimiento a:*

*Subgerencia de Explotación y Monitoreo Geohidrológico*

*Gerencia de Aguas Subterráneas*

*Comisión Nacional del Agua (CNA)*

*y*

*Subdirección de Aguas Subterráneas*

*Dirección Técnica*

*Dirección General del Organismo de la Cuenca del Río Balsas*

*CNA Cuernavaca*



*Agradecimiento al programa PAPCA 2006 de la FES Iztacala por el apoyo económico para la realización de esta tesis.*

# ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>RESÚMEN.....</b>	<b>4</b>
<b>II.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>5</b>
<b>III.</b>	<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>8</b>
	A) Amibas de vida libre (AVL).....	8
	B) Agua subterránea.....	13
<b>IV.</b>	<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>19</b>
<b>V.</b>	<b>ÁREA DE ESTUDIO .....</b>	<b>21</b>
<b>VI.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>27</b>
<b>VII.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>28</b>
<b>VIII.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>29</b>
	I. Trabajo de Campo.....	29
	II. Trabajo de Laboratorio.....	29
<b>IX.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>31</b>
<b>X.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>57</b>
<b>XI.</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>58</b>
<b>XII.</b>	<b>APÉNDICE .....</b>	<b>62</b>
	Medio de Cultivo.....	62
	Glosario.....	63
	Catálogo de Amibas de Vida Libre.....	68

## I. RESÚMEN

Las amibas de vida libre (AVL) habitan en ambientes como el suelo y el agua, pudiéndose encontrar también en el aire; algunas especies pueden causar enfermedades en el humano y animales. El agua subterránea constituye la principal fuente de abastecimiento de agua potable del país, estas albergan, por lo general, una microbiota escasa debido a su bajo contenido en materias nutritivas. La presente investigación tuvo como objetivo determinar la distribución temporal y espacial de las AVL en el acuífero de Zacatepec, Morelos. Este es uno de los cuatro acuíferos con que cuenta el estado de Morelos. Los pozos estudiados se encuentran localizados en los municipios de: Coatlán del Río, Cuachichinola, Mazatepec, Miacatlan, Puente de Ixtla y Xochitepec. La metodología se dividió en dos rubros. Trabajo de campo: Donde se realizaron 12 muestreos en 8 pozos del acuífero de Zacatepec, donde se colectaron 1000 ml de agua subterránea en envases esterilizados y transportados a temperatura ambiente. En el sitio se midieron los parámetros fisicoquímicos: pH, oxígeno disuelto y temperatura. Trabajo de Laboratorio: Donde se llevó a cabo el aislamiento y cultivo de las AVL, en medio específico Agar no Nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes* (NNE), incubándose a 30 °C y a 37 °C, 42 °C para la prueba de temperatura. La identificación morfológica se llevó a cabo tomando en cuenta las características tanto del trofozoito como del quiste siguiendo las claves taxonómicas de Page (1988). *Hartmannella vermiformis* fue la más frecuente con un 41.50% la cual no ha sido reportada como patógena, aunque estuvo asociada a un caso de encefalitis, no se pudo comprobar su participación como causante de la enfermedad y en casos clínicos humanos en la superficie ocular. Las menos frecuentes fueron *Guttulinopsis nivea* 0.68%, *Mayorella cultura* 0.68%, *Vannella cirrifera* 0.68%, *Vannella platypodia* 0.68%, y *Vannella lata* 0.68%. De las amibas con potencial patógeno se encontraron *Acanthamoeba polyphaga* (6.80%) y *Acanthamoeba royreba* (2.04%), presentando una baja incidencia en comparación con el estudio realizado por Ramírez y colaboradores (2001) en el acuífero del Valle del Mezquital, donde predominó este género con un 67.3%. En el caso de *Naegleria sp.*, también se presentó en porcentajes bajos (8.16%) que por las características de su quiste, probablemente pertenezca a la especie *N. gruberi*, la cual no ha sido reportada como patógena.

## II. INTRODUCCIÓN

A los acuíferos confluyen las acumulaciones de agua, ya sean superficiales o subterráneas. En casi todas ellas pueden vivir microorganismos, tanto en los charcos más pequeños como en los lagos, ríos, o mares. Los geógrafos hablan de aguas subterráneas y superficiales y distinguen las continentales o interiores es decir, las de los manantiales, ríos y lagos de las de los mares u océanos con sus zonas litorales. Todas las aguas son biótotos de los microorganismos correspondientes. En cada una de ellas imperan condiciones físicas y químicas muy diversas, de las cuales depende la composición de las comunidades biológicas y de la microbiota. Las aguas subterráneas o freáticas y los manantiales albergan, por lo general, una microbiota escasa debido a su pobreza en materias nutritivas, en tanto que los animales y plantas de mayor desarrollo faltan casi por completo en ellas. En cambio los ríos, lagos y mares poseen una flora y fauna muy variada. Las aguas constituyen, por tanto, biótotos diversos cuyo conocimiento es imprescindible para comprender su microbiología (Rheinheimer, 1987). En México había hasta el año 2001 una disponibilidad promedio de 469,199 Hm<sup>3</sup> de agua al año, lo que ubicaba en el mundo como uno de los países con una disponibilidad media. En el 2006 la extracción bruta de agua ascendió a 72,564 Hm<sup>3</sup>, de las cuales el 62.2% era agua superficial y el 37.8% subterránea (<http://www.inegi.gob.mx/>).

En la actualidad el agua subterránea constituye la principal fuente de abastecimiento de agua potable del país. Los problemas de sobre explotación de acuíferos en muchas zonas así como otras actividades antropogénicas, han ocasionado deterioro de la calidad del agua subterránea en algunos sitios. En muchos es notorio el grave decremento del nivel de los acuíferos, debido a la disminución de sitios de recarga natural por la elevada urbanización influyendo en la afectación de la calidad del agua de recarga (Iturbe y Silva, 1992).

De acuerdo con la Comisión Nacional del Agua se han identificado en México 459 acuíferos con más del 20% de sobreexplotación, la extracción promedio anual de estos se calcula en 24 km<sup>3</sup> a través de 140 mil aprovechamientos subterráneos. El mayor número se encuentra en el noroeste del país sin embargo, los que reciben una descarga significativa se localizan en el sureste, de hecho a excepción de esta zona; existen problemas de disponibilidad debido a que las recargas son menores a las extracciones, esto se agrava aún mas por el deterioro de su calidad, debido a la contaminación (CNA, 1994).

En acuíferos de aguas limpias, el número de protozoarios puede ser bajo o aún cero, mientras que en acuíferos orgánicamente contaminados su abundancia es generalmente mucho más alta. Las aguas residuales son una fuente importante de la contaminación del agua subterránea, a veces como resultado de usar las aguas residuales para la irrigación. El ejemplo más conocido por ser el más antiguo y más grande esquema del mundo es el del acuífero del Valle de Mezquital, que ha dado lugar a la contaminación extensa del acuífero (Ramírez *et al.*, 2001).

De todos los ambientes acuáticos, la biología del agua subterránea es una de las menos estudiadas. Hasta hace relativamente poco se consideraba que la posibilidad de que ocurrieran procesos biológicos en el agua subterránea era poca y no significativa. Sin embargo en las últimas décadas algunos estudios han reportado que existen microorganismos en el agua subterránea y que pueden realizar funciones importantes (Bitton y Gerba, 1984). El interés en las investigaciones en el área de la microbiología del agua subterránea se ha incrementado por la creciente demanda de esta fuente de abastecimiento, se requiere que no exista riesgo a la salud de los consumidores (Iturbe y Silva, 1992).

Las fuentes de contaminación química y microbiológica son numerosas. Estas fuentes incluyen la disposición en el suelo de los efluentes de agua de desecho, lodos, desechos sólidos, efluentes de tanques sépticos y escurrimientos urbanos, uso inadecuado de fertilizantes agrícolas para la producción de cultivos agrícolas bajo sistemas intensivos que requieren así mismo de grandes cantidades de plaguicidas para el control fitosanitario (Gerba y Bitton, 1984., Zoller, 1994., García y Piña, 2003). Más de 200 substancias orgánicas e inorgánicas sintéticas se han identificado en suministros de agua subterránea (Zoller, 1994). Con respecto a la contaminación por microorganismos patógenos, la contaminación bacteriana parece ser el problema más común; aunque también se han detectado problemas de salud por brotes de algunos virus como el de la hepatitis y la gastroenteritis, pero se sabe muy poco acerca de otros grupos microbianos como los protozoos (Craun, 1984; Cullimore, 1992; Chapelle, 1993; Zellikson, 1996).

Las amibas de vida libre (AVL) son protozoos cosmopolitas que habitan ambientes húmedos como el suelo y el agua, aunque también se pueden encontrar en el aire, vehículo que utilizan como medio de dispersión. En los ecosistemas acuáticos desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento de flujos de energía y el reciclado de los nutrimentos. Su eficiencia en el uso de los recursos los convierten en un enlace fundamental entre los organismos desintegradores y aquellos pertenecientes a niveles tróficos superiores. Algunas

amibas de vida libre son capaces de causar enfermedades en el humano y otros animales. Pueden encontrarse en el medio ambiente, donde se alimentan de bacterias y materia orgánica. Sin embargo, como oportunistas pueden producir infecciones serias en ojos y en el sistema nervioso central.

Los únicos géneros de amibas de vida libre que hasta hace poco tiempo se conocían como patógenos eran *Naegleria* y *Acanthamoeba*, pero a medida que se ha estudiado más de este grupo de protozoos, se ha detectado que otras amibas como *Balamuthia mandrillaris* y *Sappinia diploidea*, pueden invadir el sistema nervioso central y causar infecciones severas al hombre (Ramírez y Bonilla, 1995; Schuster y Visvesvara, 2004; Oddó *et al.*, 2006).

En la mayoría de los casos, estas infecciones se pueden transmitir por contacto con agua contaminada con estas amibas. Esto pone a la población en riesgo creciente a este tipo de infecciones emergentes. Específicamente, existen poblaciones que son altamente susceptibles a las infecciones oportunistas, y siempre que se acrecientan tales infecciones se está considerando a pacientes con SIDA y otras formas de inmunosupresión.

En lo referente a los sistemas de agua subterránea ha prevalecido la idea errónea de que los acuíferos se encuentran protegidos de manera natural de las diversas fuentes de contaminación. Sin embargo, las aguas subterráneas pueden sufrir de contaminación tanto por condiciones naturales como antropogénicas. Se ha observado que a partir de la década de los años setenta se ha registrado una tasa alarmante de contaminantes de origen industrial, municipal y agrícola en el agua subterránea. El control de la contaminación de los acuíferos es, por tanto, una acción imprescindible; para llevarla a cabo se requiere conocer las principales características de los suelos y los acuíferos y entender cómo se contaminan mediante los procesos que se efectúan en la zona que los precede (Caballero, 2006; Leal, 2006).

Por lo mencionado anteriormente, las aguas subterráneas son un recurso muy valioso para su conservación en cantidad y calidad que asegure el abasto de las futuras generaciones. Siendo que en México y en muchas partes del mundo no se la ha dado la debida importancia a la contaminación del agua subterránea probablemente eso se debe a la complejidad en su análisis y entendimiento para su solución (Iturbe y Silva, 1992).

## I. MARCO TEÓRICO

### A) Amibas de vida libre (AVL)

Las amibas son protozoos unicelulares de forma variada que pueden ser solitarios o coloniales. Estos organismos han logrado explotar una gran diversidad de ambientes y muchas especies presentan diversos grados de asociación con otros organismos (Kudo, 1969). A mediados del siglo XX se descubrió que algunas amibas pequeñas del suelo y el agua, que hasta entonces se consideraban inocuas, podían invadir a los seres humanos, pudiendo causarles la muerte o un daño cerebral irreversible. Debido a su habilidad para vivir como organismos de vida libre y como endoparásitos, a estas amibas se les conoce también como organismos anfizoicos. Algunas son patógenas por si mismas pero también pueden actuar como vectores de bacterias patógenas como *Legionella pneumophila* y *Vibrio* spp (Bonilla *et al.*, 2004).

En comparación con otras enfermedades causadas por protozoos, las infecciones causadas por AVL destacan por su amplia distribución, su virulencia y que a la fecha se carece de un tratamiento específico y efectivo.

Las AVL patógenas son más frecuentes en cuerpos de agua con temperaturas por encima de los 30°C y aguas naturales de los trópicos y subtrópicos. Los factores ambientales favorables para el desarrollo de estos géneros de amibas son intervalos de temperatura entre 30°C y 45°C, niveles óptimos de oxígeno, pH cercano a la neutralidad, alimento suficiente (bacterias y materia orgánica) y pueden estar presentes aún en un mínimo de humedad. Sin embargo, algunas amibas, como las del género *Acanthamoeba*, pueden soportar variaciones amplias (Bonilla *et al.*, 2004).

Algunas amibas de vida libre de los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia* y *Sappinia* han sido identificadas como agentes infecciosos en humanos y animales. Las especies patógenas descritas hasta la fecha son: *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, *Sappinia diploidea* y algunas del género *Acanthamoeba* (*A. castellani*, *A. culbertsoni*, *A. hatchetti*, *A. healyi*, *A. polyphaga*, *A. rhyodes*, *A. astronyxis*, *A. royreba* y *A. divionensis*).

*Naegleria fowleri* es capaz de producir en el hombre meningoencefalitis amibiana primaria (MEAP), enfermedad fulminante y mortal. Mientras que *Balamuthia mandrillaris* y varias especies del género *Acanthamoeba* pueden provocar encefalitis amibiana granulomatosa (EAG). *Acanthamoeba* spp., también puede provocar infecciones severas en pulmón, oídos,

nariz y Queratitis amibiana (QA) en ojos. *Sappinia diploidea* también causa encefalitis, pero sin la aparición de granulomas en el tejido nervioso (Schuster y Visvesvara, 2004).

- Importancia Ecológica.

Las AVL son microorganismos cosmopolitas, prácticamente ubicuos, debido a su tamaño, facilidad de transportación y formación de quistes de alta resistencia. Todas estas características le permiten invadir otros medios diferentes al original (Bonilla, 2000). Se les localiza en todos los ambientes; pero principalmente en el suelo, desde ahí pueden llegar a los cuerpos de agua arrastradas por escurrimientos o a través del aire. En el agua desempeñan un papel fundamental en el flujo energético, en el reciclado de los nutrientes y son un eslabón importante en las cadenas alimentarias acuáticas (Bonilla *et al.*, 2004). En ambientes acuáticos pueden ser encontradas en el mar y hasta en pequeñas charcas en donde juegan un papel importante dentro del control poblacional de las bacterias, siendo éstas su principal alimento; otras fuentes de alimentación para estos organismos son los hongos, levaduras y algas entre otros. En el ambiente edáfico estas amibas participan en el incremento de la tasa de transformación del fósforo a formas aprovechables para las plantas (García, 2000).

El enquistamiento en la mayoría de las AVL les permite sobrevivir a las variaciones ambientales adversas, así como permanecer viables en sequías, cambios de pH, una falta casi total de oxígeno y escasez de alimento además, les permite el desplazamiento a través de corrientes de aire, en cuyo caso, su dispersión depende del fenómeno que lo provoque (vientos principalmente) y del tamaño del quiste de la amiba; aquellos organismos que tengan medidas menores de 20  $\mu\text{m}$  en su quiste, podrán permanecer en el aire por más tiempo y tendrán mayor dispersión. La mayoría de especies de amibas tienen tamaños en el intervalo de de 6 a 15  $\mu\text{m}$  de aquí que su distribución sea cosmopolita, sobre todo en cuerpos de agua, tales como ríos, estanques, arroyos, lagos, sistemas de tratamientos de aguas residuales, corrientes subterráneas e incluso en agua potable y agua embotellada (Rivera *et al.*, 1989; 1990).

- Importancia Médica.

Las AVL se encuentran ampliamente distribuidas en el ambiente y sólo algunas representan un alto potencial patógeno para animales y el hombre produciéndoles severas infecciones en la piel, los ojos y el sistema nervioso (Schuster y Visvesvara, 2004). A estas amibas también se les ha llamado anfizóicas porque además de vivir en el ambiente pueden parasitar a otros organismos (García, 2000).

*Naegleria fowleri* causa una infección aguda que afecta al sistema nervioso central (SNC) llamada *Meningoencefalitis amebiana primaria* (MEAP) o naegleriosis. 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 inadecuadamente clorados. La ruta de invasión de *N. fowleri* es a través de la aspiración por las fosas nasales del agua contaminada; los trofozoítos invaden la mucosa olfatoria, atraviesan el nervio olfativo, la lámina cribiforme y llegan al espacio subaracnoideo. En el análisis histopatológico de los tejidos, solamente se han observado trofozoítos (Bonilla *et al.*, 2004).

Las amibas producen edema y necrosis hemorrágica en el tejido cerebral mediante la producción de hidrolasas lisosomales y fosfolipasas que degradan la mielina y provocan daños graves e irreversibles en el individuo infectado. También se han descrito otras enzimas como aminopeptidasas, hidrolasas, esterases, fosfatasas ácidas y alcalinas, que directa o indirectamente dañan al SNC. La enfermedad se caracteriza por cefalea intensa, fotofobia, fiebre, náusea, vómito en proyectil y rigidez de cuello, coma, convulsiones y finalmente la muerte. La mayoría de los pacientes mueren en la primera o segunda semana después de la manifestación de los primeros síntomas, dependiendo del manejo y resistencia del paciente, así como de la virulencia de las amibas (Bonilla *et al.*, 2004).

El diagnóstico se realiza observando preparaciones de líquido cefalorraquídeo (LCR) en vivo o teñidas con Wright, Giemsa o Hematoxilina y Eosina. Sin embargo, uno de los principales problemas para identificar a las amibas es que pueden confundirse con macrófagos, células epiteliales o pasar inadvertidas como simples partículas de sedimento del LCR. En las muestras clínicas, el diagnóstico se confirma con el aislamiento de las amibas en agar no nutritivo (NNE) con bacterias. La MEAP es muy semejante a la meningitis bacteriana y los resultados de laboratorio son muy similares, pero los cultivos para bacterias son negativos.

El único fármaco contra *N. fowleri* es la Anfotericina B, pero solamente es efectivo cuando se administra al inicio de la infección (Bonilla *et al.*, 2004).

*Balamuthia mandrillaris* y *Acanthamoeba spp.*, son organismos oportunistas capaces de producir encefalitis amibiana granulomatosa (EAG), en el caso de *Acanthamoeba* también se llama acantamoebosis, una enfermedad subaguda o crónica. Se presenta en individuos inmunosuprimidos o inmunodeficientes, como alcohólicos crónicos, VIH positivos, enfermos con SIDA, con lupus eritematoso sistémico o cáncer. También se han descrito casos de EAG sin ninguna predisposición. La puerta de entrada al torrente sanguíneo puede ser a través de los pulmones, vía neuroepitelio olfativo y lesiones de la piel. Las lesiones que produce *Acanthamoeba* son granulomatosas, encontrándose en ellas trofozoítos y quistes. Los datos clínicos comparados con los que provoca *Naegleria* son menos intensos y de un curso más lento. Las principales manifestaciones clínicas son dolor de cabeza, cambios de personalidad, fiebre leve, convulsiones, hemiparesia, nivel deprimido de la conciencia y coma (Bonilla *et al.*, 2004).

El cuadro clínico puede confundirse con tuberculosis cerebral, encefalitis viral, cáncer y absceso cerebral. El diagnóstico clínico es difícil, de hecho, la mayoría de los casos han sido diagnosticados *post mortem*. No obstante, es posible realizar un diagnóstico rápido buscando trofozoítos en el LCR o trofozoítos y quistes del tejido cerebral. *Acanthamoeba* también puede cultivarse en medio NNE con bacterias. En estudios *in vitro* el ketoconazol y clotrimazol han mostrado cierta efectividad, aunque no se ha confirmado su efectividad en humanos. En casos clínicos se han utilizado con cierto éxito itraconazol, miconazol, sulfametazina, pentamidina y gluconato de cloroexidina (Bonilla *et al.*, 2004; Oddó *et al.*, 2006).

Otra infección importante causada por *Acanthamoeba spp.*, es la Queratitis amebiana (QA). Esta es una inflamación crónica en la córnea que puede causar la pérdida del ojo. Las amibas invaden el estroma corneal por una solución de continuidad del epitelio, debido a un traumatismo menor o abrasión de la córnea. Se caracteriza por severo dolor ocular asociado con fotofobia, generalmente unilateral, visión borrosa y congestión de la conjuntiva. Existe un anillo de infiltrado estromal y lesión de la córnea. Los principales factores de riesgo son el uso de lentes de contacto suaves, uso de soluciones salinas caseras, exposición a agua contaminada y traumatismos menores del ojo. Otros factores que favorecen el establecimiento de la Queratitis amebiana (QA) son la producción de lágrimas con baja actividad microbiana y la contaminación bacteriana secundaria (Bonilla *et al.*, 2004).

La Queratitis amebiana (QA) se confunde frecuentemente con queratitis causada por *Herpes simplex*. Se puede realizar un diagnóstico rápido usando un raspado de la córnea y tiñendo el material con Giemsa tricrómica, Wright, Hemacolor y examinando con microscopía óptica de luz. También se puede usar la tinción blanco de Calcoflúor y anticuerpos fluorescentes en raspados y secciones de tejido de la córnea. *Acanthamoeba* puede ser cultivada, colocando parte del raspado corneal en medio NNE. El tratamiento no es sencillo debido a la resistencia de estos organismos a la mayoría de los fármacos usados contra bacterias, hongos, protozoos y virus. No obstante algunos pacientes han sido tratados con éxito usando ketoconazol, miconazol, isotionato de propamidina y biguamida de polioximetileno (Bonilla *et al.*, 2004).

Un cuadro muy similar al descrito para *Acanthamoeba* es producido por *B. mandrillaris*. Sin embargo, no está claro si *Balamuthia* se comporta como organismo oportunista o si es un patógeno primario letal, que no depende del estado del hospedero. La información al respecto es escasa y los cuadros observados se han presentado principalmente en individuos inmunocompetentes. *B. mandrillaris* tiene requerimientos muy especiales para su cultivo. Crece en cultivos de células Vero (riñón de mono verde africano) y en el medio axénico BM3 (Schuster, 2002).

Solamente se ha reportado un caso de la encefalitis causado por *Sappinia diploidea* en un paciente masculino. La amiba se había aislado e identificado previamente del ambiente y de las heces de los seres humanos, alces, bisonte y ganados; pero no se le había implicado con alguna patología. Se piensa que otros patógenos amibianos están esperando ser reconocidos por su capacidad para producir citopatología en tejido fino, esto podría indicar su potencial para causar enfermedad. Así, que hay buenas razones de estudiar a las amibas basadas en su papel como parásitos facultativos (Bonilla *et al.*, 2004; Schuster y Visvesvara 2004).

El conocimiento sobre los mecanismos que utilizan las AVL patógenas para evadir la respuesta inmune es muy escaso. Se sabe que la respuesta inmune comprende la presencia de células fagocíticas; la producción de enzimas que sintetizan células del sistema inmunológico (linfocitos) y la producción de enzimas que destruyen las amibas. Por otro lado se ha demostrado la presencia de anticuerpos en suero humano normal contra *Acanthamoeba* y *Naegleria*. Adicionalmente, es posible que la exposición a otro grupo de amibas genere alguna protección contra las AVL patógenas, ya que se ha demostrado que existe reacción cruzada con antígenos de *Entamoeba histolytica* (Marciano-Cabral, 2003).

Para prevenir la naegleriosis, se recomienda la educación al público, difundir el conocimiento entre la comunidad biomédica, la limpieza y la cloración del agua de albercas (concentraciones de cloro libre residual de 1.0 a 2.0 mg/l  $^{-1}$  de agua a 26° C) y el mantenimiento adecuado de abastecimientos públicos de agua. En el caso de la EAG, es más difícil prevenirla debido a que *Acanthamoeba* es oportunista, por lo que la única recomendación es evitar los factores de riesgo, especialmente si se sabe que se está inmunosuprimido. En el caso de la Queratitis amibiana (QA) se recomienda seguir las recomendaciones del fabricante de lentes de contacto y no usarlos durante la práctica de deportes acuáticos (Bonilla *et al.*, 2004).

## **B) Agua subterránea.**

El agua subterránea es uno de los recursos naturales mas importantes; ya que es una fuente de abastecimiento para diversos sectores de una población, como son: el urbano, el rural, el industrial y comercial. A nivel mundial el agua subterránea constituye un alto porcentaje como fuente de suministro, así tenemos que en México constituye el 20%, el 30% en Canada, cerca del 50% en Estados Unidos y el 70% en Europa (Caballero, 2006).

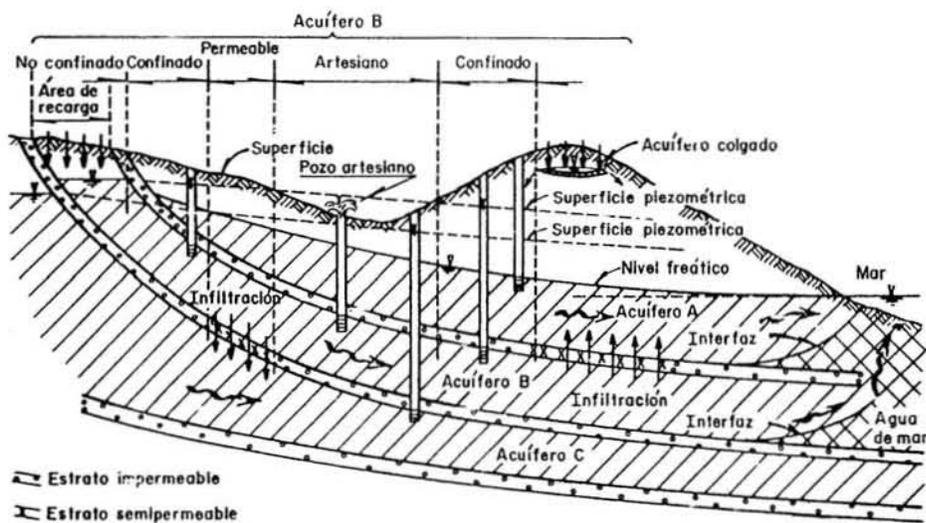
Las formaciones rocosas o de material poroso capaces de almacenar cantidades significativas de agua se denominan acuíferos. Estos se forman en rocas no consolidadas, grava y arena. La mayoría de los acuíferos se consideran como grandes sistemas de almacenamiento de agua bajo tierra, en los cuales este líquido entra al reservorio por recarga natural o artificial (Iturbe y Silva, 1992).

Una parte de las precipitaciones acuosas se filtra en el suelo poroso y constituyen el agua subterránea, que queda retenida sobre las capas impermeables. Procede también de los ríos y lagos por filtración marginal. El estrato del suelo que conduce el agua subterránea se llama capa acuífera, y el que se encuentra debajo que es impermeable se denomina capa de retención. El nivel de las aguas subterráneas esta sujeto muchas veces a oscilaciones estacionales dependientes principalmente de las precipitaciones. El contenido mineral del agua subterránea es muy variable, pues depende de las condiciones geológicas. Normalmente el agua subterránea es muy pobre en sustancias nutritivas a causa de la filtración que experimenta a través de las distintas capas del terreno. Por la misma razón también se pensaba que era escaso su contenido bacteriano. Por eso estas aguas desempeñan un papel importante en el abastecimiento del agua potable (Rheinheimer, 1987).

- o Tipos de Acuíferos.

Los acuíferos se clasifican en no confinados y en confinados dependiendo de la ausencia o presencia de nivel freático.

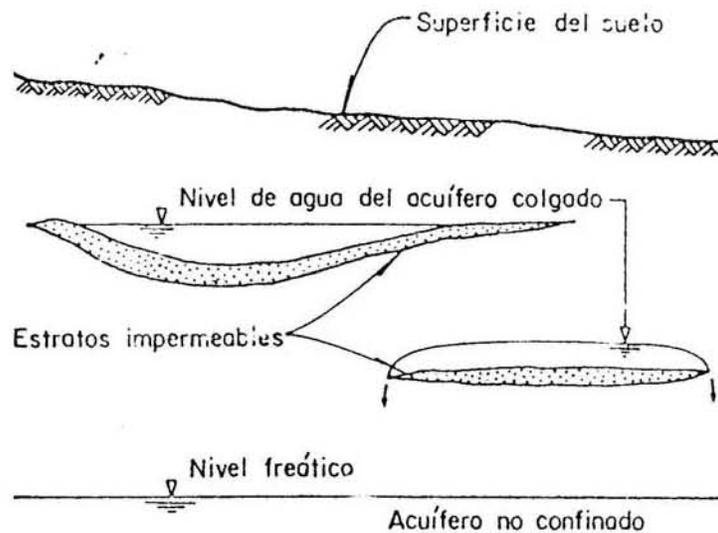
Los acuíferos no confinados tienen como frontera superior el nivel freático y por lo general se ubican cerca de la superficie del terreno. Se conocen como libres, freáticos, o no artesianos (Figura 1).



**Figura 1.** Clasificación de acuíferos. Tomado de Iturbe y Silva, 1992.

Los acuitardos son formaciones geológicas semipermeables que, conteniendo agua en gran cantidad, la transmiten muy lentamente, por lo que en estas formaciones tampoco resulta adecuado emplazar captaciones; no obstante, en determinados casos, la presencia de un acuitardo puede proporcionar a un acuífero que esté en contacto con él, una recarga vertical que puede llegar a ser importante. Las arcillas limosas y arenosas son formaciones que pueden comportarse como acuitardos.

Los acuíferos colgados (Figura 2) son un caso especial de los acuíferos no confinados; se presentan en estratos muy permeables de la zona no saturada donde hay pequeñas capas, generalmente arcillosas y muy impermeables, en las cuales se acumula el agua y por ello se denominan acuíferos.



**Figura 2.** Acuífero colgado. Tomado de Iturbe y Silva, 1992.

Un acuífero confinado es el que se encuentra entre dos acuitardos. Los acuíferos confinados son llamados también artesianos, se presentan cuando el agua subterránea se halla bajo una presión mayor que la atmosférica. Si se abre un pozo de este tipo de acuífero, el nivel del agua sube más arriba de la frontera del acuífero y se dice que hay una condición artésiana (ver Figura 1). En algunos casos, dependiendo de la topografía, dicho nivel rebasa el del terreno y entonces se tiene un pozo artésiano. Las elevaciones y caídas del nivel del agua en tales pozos son resultado de cambios de presión y no de volumen. La superficie piezométrica de estos acuíferos es una superficie imaginaria que coincide con el nivel de la presión hidrostática del agua en el acuífero (Figura 2). El nivel del agua en un pozo artésiano define la elevación de la superficie piezométrica en ese punto.

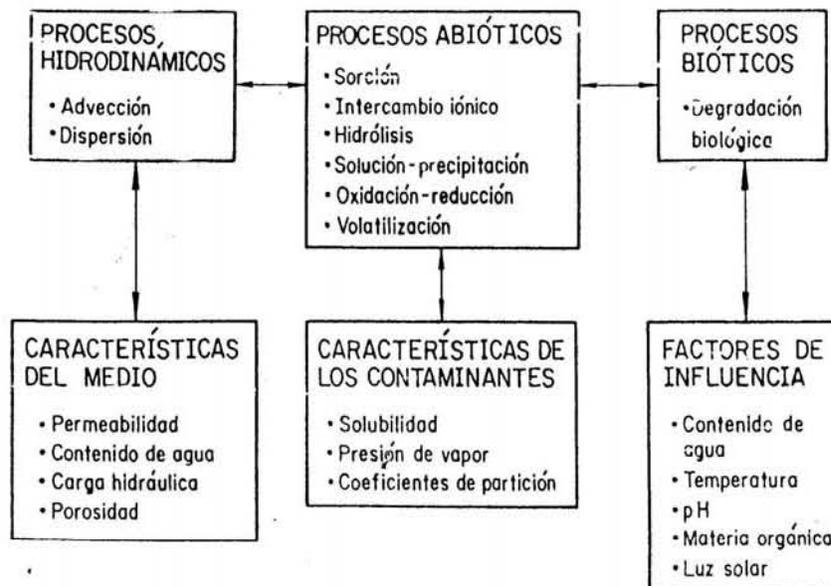
- Calidad del agua y procesos de transporte

La calidad y contaminación del agua subterránea son conceptos relativos, ya que dependen del uso al que se destine dicho líquido. Las actividades del hombre relacionadas con: disposición de aguas residuales en suelos, construcción de rellenos sanitarios en sitios inadecuados, escurrimientos superficiales en zonas urbanas, explotación de acuíferos, entre otras, pueden ocasionar la contaminación de suelos y acuíferos. La magnitud del problema

depende de las características hidrogeológicas del sitio, del tipo de contaminantes presentes de acuerdo con las actividades realizadas, así como de las condiciones de la zona que puede ser saturada o no saturada.

Aun se desconoce mucho acerca del movimiento de los contaminantes en el subsuelo. En la zona saturada el transporte se lleva a cabo principalmente por advección y dispersión. En la zona no saturada, la complejidad de este movimiento se incrementa por la interrelación de los diversos procesos que intervienen en él, así como a las propias condiciones del terreno y el tipo de contaminantes.

El movimiento de contaminantes tanto en la zona saturada como en la no saturada, depende de tres tipos de procesos (Figura 3).



**Figura 3.** Procesos de influencia en el transporte de contaminantes. Tomado de Iturbe y Silva, 1992.

### 1. Procesos hidrodinámicos.

Los procesos de advección y dispersión están involucrados en el transporte subsuperficial de los contaminantes.

La advección se refiere al transporte del soluto a una velocidad equivalente a la del agua subterránea en movimiento.

La dispersión alude a la extensión del frente de concentración de un soluto como resultado de la variación espacial de la permeabilidad del acuífero, la mezcla del fluido y la difusión molecular. Esta extensión se traduce en una dilución de la concentración del soluto.

## 2. Procesos abióticos.

Los procesos abióticos en el subsuelo incluyen: absorción–desorción de solutos hacia la superficie de los materiales, intercambio iónico, complejación, hidrólisis, reacciones de solución-precipitación, reacciones ácido–base, oxidación–reducción.

Las propiedades físicas que influyen en los procesos abióticos son: solubilidad, presión de vapor y coeficiente de partición.

El proceso abiótico de mayor influencia en el transporte de contaminantes orgánicos sintéticos es el de sorción. Se refiere a la retención de un soluto en la fase sólida por medio de una partición entre la fase sólida y la acuosa.

## 3. Procesos bióticos.

La degradación biológica ocurre tanto en la zona saturada como en la no saturada, y se realiza por organismos aerobios y anaerobios.

Los compuestos químicos orgánicos e inorgánicos que penetran en las aguas subterráneas pueden transformarse por los procesos biológicos. Los microorganismos no fotosintéticos obtienen su energía de la oxidación de los compuestos orgánicos y de los inorgánicos reducidos como hierro, nitrógeno o azufre. Los microorganismos utilizan oxígeno en condiciones aerobias, y nitratos, sulfatos y dióxido de carbono en condiciones anaerobias. Estas condiciones de óxido-reducción de la materia orgánica constituyen la principal ruta para la biodegradación de contaminantes orgánicos en el suelo.

En algunos acuíferos se ha determinado el predominio de las bacterias sobre otras especies de microbios sin embargo, sólo entre 1 y 10 por ciento del total son activas metabólicamente y capaces de crecer en un medio con nutrientes muy diluidos.

- Recarga artificial de acuíferos.

La problemática de los acuíferos del país es diversa pues depende de las características hidrogeológicas de las zonas, del uso de los acuíferos y de las aportaciones que estos reciben. Aunque no se dispone de información suficiente para diagnosticar la calidad de las aguas subterráneas de los principales acuíferos del país, dicha calidad se ha deteriorado debido a las actividades humanas.

Las infiltraciones al subsuelo ocasionadas por los excedentes del riego agrícola, descargas de aguas residuales, y rellenos sanitarios aportan gran cantidad de sales y diversos tipos de contaminantes orgánicos e inorgánicos, así como organismos patógenos generados en los afluentes de las áreas urbanas e industriales. Debido a esta situación, se han iniciado diversos estudios sobre recarga artificial de acuíferos con el objetivo primordial de evitar el decremento de los niveles piezométricos.

En varios países se utilizan dos fuentes de abastecimiento para la recarga artificial: el agua de lluvia, que requiere grandes obras de captación y almacenaje en los sitios de mayor escurrimiento (por ejemplo, al pie de las cadenas montañosas) o bien pozos de captación en las ciudades y el agua residual, que necesita sistemas de tratamiento avanzados a fin de obtener eficiencias altas en la remoción de los diversos grupos de contaminantes, ya que la calidad del agua de recarga debe ser similar a la del agua potable (Iturbe y Silva, 1992).

## I. ANTECEDENTES

- 1) Félix Dujardin en 1841 fue el primero en observar y reportar a las amibas de vida libre agruparlas y nombrarlas *Amoeba limax* (Rivera *et al.*, 1991).
- 2) Culbertson en 1958 encuentra un efecto citopático de amibas en cultivos celulares de riñón de mono, y declara que la amiba tiene potencial patógeno. Los primeros casos en que se determino como agente infeccioso a *Naegleria fowleri*, se reportaron en Australia donde se aisló y tipifico por Fowler en 1965 (García, 2000).
- 3) Las primeras investigaciones en México sobre AVL se iniciaron en 1978 por Rivera y colaboradores al reportar amibas del género *Naegleria* sp, aisladas en piscinas, grifos y reservorios naturales de agua dulce de la Ciudad de México; al siguiente año Rivera y colaboradores aislaron *N. gruberi*, *A. culbertsoni*; *A. astronyxis*, en aguas del grifo de la ciudad de México, para 1981 Rivera y colaboradores reportaron *N. gruberi* y *A. astronyxis* en aguas minerales embotelladas y en 1993 se reportaron los tres primeros casos de queratitis amebiana (QA) en México (Omaña, 1997).
- 4) En 1982 se empiezan a realizar estudios por los miembros del Área de Microbiología Ambiental del Laboratorio de Conservación y Mejoramiento del Ambiente (CyMA) de la UNAM campus Iztacala; realizando estudios en diferentes cuerpos de aguas naturales termales de uso recreativo y piscinas de varios estados de la República Mexicana (Distrito Federal, Estado de México, Hidalgo, Michoacán, Morelos y San Luis Potosí) (Rivera *et al.*, 1989; Rivera *et al.*, 1990; Ramírez y Bonilla, 1995; Bonilla *et al.*, 2000).
- 5) De los pocos estudios realizados sobre la biología del agua subterránea, está el de Novarino y colaboradores (1997), quienes observaron que los protozoarios que predominan en los acuíferos eran los flagelados heterótrofos, que el tamaño de estos bacteriófagos estaba muy relacionada con la disposición de alimento y que la riqueza de especies es mayor en acuíferos contaminados orgánicamente. Sin embargo, también observaron algunos géneros amibianos: *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Mayorella*, *Rosculus*, *Vahlkampfia*, *Vannella*, *Platyamoeba*.

- 6) En el estudio publicado específicamente sobre el grupo de amibas de vida libre en agua subterránea de Ramírez y colaboradores (2001), que realizaron en el acuífero del Valle del Mezquital, Hidalgo; se aislaron 289 de aislamientos de amibas de vida libre de 7 géneros (*Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Platyamoeba*, *Vahlkampfia*, *Mayorella*, *Echinamoeba* y *Vannella*) y 30 especies, de los cuales predominó *Acanthamoeba*. Se observó que la irrigación con aguas residuales favoreció la presencia de las amibas de vida libre (AVL) en el acuífero, que la diversidad y la densidad de las AVL fueron más altas dentro de la zona de irrigación y que la presencia de las amibas con potencial patógeno podría plantear un riesgo a la salud de los usuarios.
  
- 7) De mayo 2005 a abril 2006 se realizó el estudio de la distribución temporal de las amibas de vida libre en los manantiales Las Fuentes y El Túnel del acuífero del Valle de Cuernavaca en el estado de Morelos; donde el manantial “Las Fuentes” presentó una mayor riqueza específica y mayor número de amibas en comparación con el manantial “El Túnel”. La abundancia y diversidad de especies encontradas en los manantiales fueron relativamente bajas, comparado con lo reportado en el acuífero del Valle del Mezquital (Campos, 2007).

## I. ÁREA DE ESTUDIO



**Figura 4.** Localización del acuífero de Zacatepec, Morelos. Tomado de <http://earth.google.com>

### ➤ Localización

El área de estudio está situado en el estado de Morelos, cuyas coordenadas geográficas extremas son: Al norte  $19^{\circ}08'$ , al sur  $18^{\circ}20'$  de latitud norte; al este  $98^{\circ}38'$ , al oeste  $99^{\circ}30'$  de longitud oeste en su porcentaje territorial, el estado de Morelos representa el 0.2% de la superficie del país, colindando al norte con el estado de México y el Distrito Federal; al este con el estado de México y Puebla; al sur con Puebla y Guerrero; al oeste con Guerrero y estado de México, su capital es Cuernavaca (Figura 4).

### ➤ Clima

El clima que predomina en el estado de Morelos es cálido, que rige sobre todo en las zonas bajas de los ríos Amacuzac y Nexapa. En menor grado se presenta el clima de tipo semicálido, en una franja que va de este a oeste situada en la región norte, en la zona de transición entre la sierra y los valles. El templado o mesotérmico se distribuye en la zona norte y se localiza en las partes altas de los valles de Cuernavaca y de Cuautla principalmente. Los climas semifríos se reducen a pequeñas áreas en el extremo norte,

concentrándose en las partes más altas de la sierra, como son la Cordillera Neovolcánica y la Sierra Nevada o Transversal (<http://www.inegi.gob.mx/geografia/>).

## ➤ **Hidrología**

### **Aguas superficiales**

- Región Hidrológica Río Balsas

El estado de Morelos tiene tres cuencas: Río Atoyac, Río Balsas-Mezcala y Río Grande de Amacuzac.

- Río Atoyac

Con una superficie dentro del estado de 653.17 km<sup>2</sup>, la corriente más importante de esta cuenca es uno de los principales formadores del Río Balsas. Se origina en los deshielos que descienden de altitudes del orden de 4,000 m.s.n.m. del flanco oriental del volcán Iztaccíhuatl en los límites entre el Estado de México y Puebla.

La aportación al estado de Morelos es mínima, ya que dentro de la entidad sólo son escurrimientos que drenan hacia la corriente principal (Río Atoyac), teniendo su aprovechamiento máximo en el estado de Puebla.

- Río Balsas-Mezcala

Tiene una superficie dentro del estado de 1.66 km<sup>2</sup>. La aportación al estado de Morelos es nula, pues en realidad el aprovechamiento máximo de esta cuenca es hacia el estado de Guerrero.

- Río Grande de Amacuzac

Tiene una superficie dentro del estado de 4,303.30 Km<sup>2</sup>. Esta cuenca es la que ocupa la mayor parte del estado. Su corriente principal es uno de los más importantes afluentes derechos del Río Balsas y se origina en las faldas del volcán Nevado de Toluca, a una altitud de 2,600 m.s.n.m (<http://www.inegi.gob.mx/geografia/>).

## **Almacenamientos**

En el estado de Morelos existen pocas obras de almacenamiento; esto a causa de las características de la topografía. Destacan únicamente tres de ellas y son: Laguna El Rodeo, con una capacidad de 28, 000,000 de m<sup>3</sup>; Presa Emiliano Zapata, con 6, 000,000 de m<sup>3</sup>; y Presa La Poza, con 1, 451,790 m<sup>3</sup>. El resto de las obras son de menor capacidad y en algunos casos son bordos que se han adaptado para irrigar las zonas de cultivo (<http://www.inegi.gob.mx/geografia/>).

## **Aguas subterráneas**

Los principales aprovechamientos de aguas subterráneas del estado de Morelos provienen de manantiales y en menor escala de pozos y norias, aunque estos últimos cada día se van incrementando.

La mayoría de los manantiales se localizan en la porción central y septentrional del estado. Sobresalen por su gran caudal los manantiales de Las Estacas, Fundición, Chapultepec, y El Salto; los dos primeros afloran en calizas y los otros en los basaltos del grupo Chichinautzin.

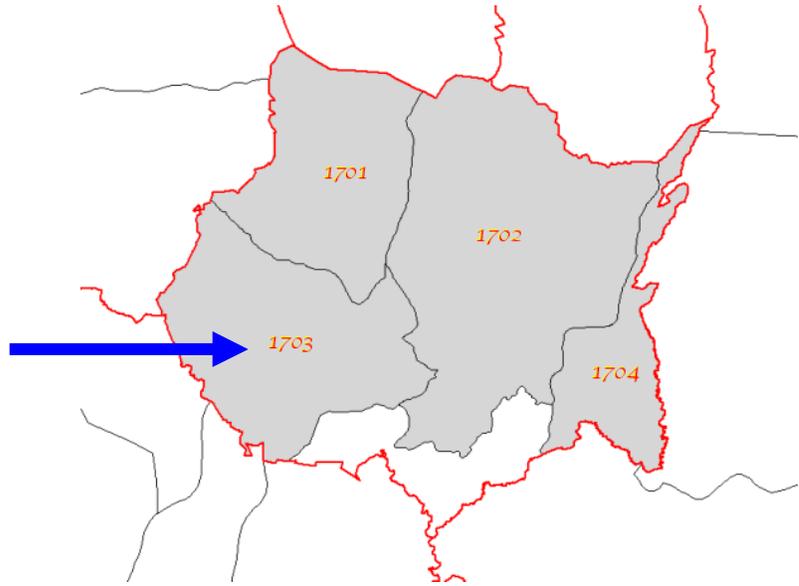
Los pozos profundos están distribuidos en todo el estado, pero los más sobresalientes son el artesiano de San Gabriel de las Palmas, el de Cuachichimala, los de Puente de Ixtla, **Zacatepec** y los de Atlacahayola, cerca de Telixtoc.

De las norias, la de mayor importancia es la que se localiza dentro de la ciudad de Cuernavaca, un kilómetro al norte de los manantiales de Chapultepec (<http://www.inegi.gob.mx/geografia/>).

El estado de Morelos cuenta con cuatro acuíferos publicados por la Comisión Nacional del Agua (CNA) (Figura 5).

- 1701. Cuernavaca
- 1702. Cuautla-Yautepec
- 1703. Zacatepec**
- 1704. Tepalcingo-Axochiapan

(<http://www.cna.gob.mx>).



**Figura 5.** Acuíferos del estado de Morelos. Tomada de la Comisión Nacional del Agua.

(<http://www.cna.gob.mx>).

Los pozos estudiados se encuentran localizados en los municipios de: Coatlán del Río, Cuachichinola, Mazatepec, Miacatlan, Puente de Ixtla y Xochitepec, que se encuentran en el occidente del estado de Morelos (Tabla 1) (Fotografías 1 a 8).

POZO	MUNICIPIO	ALTITUD (m.s.n.m)	OBSERVACIONES
Alpuyeca	Xochitepec	1040	En un predio, al lado de la carretera, a los lados una escuela y casas, rodeado por campo.
Avigrupo	Miacatlan	1022	Dentro de una empresa avícola.
La Presa	Miacatlan	998	A 20 m de la carretera entre el cerro, no hay cultivos alrededor.
Coatetelco	Miacatlan	974	En un predio dentro de una colonia rural, rodeado de casas y cultivos de maíz.
Coatlán del Río	Coatlán del Río	1008	Al lado de la carretera, rodeado por cultivos de hortalizas.
Cocoyotla	Coatlán del Río	1050	En un predio a 20 m de la carretera entre dos casas habitación, cerca del río Chalma.
Cuauchichinola	Mazatepec	1050	Al lado de la carretera junto a un cerro, a 30 m del río Chalma.
Puente de Ixtla	Puente de Ixtla	909	En un predio en la zona urbana (cabecera municipal).

**Tabla 1.** Localización y observaciones de los pozos estudiados, que se localizan en el acuífero 1703, Zacatepec.



Fotografía 1. Pozo Alpuyeca



Fotografía 2. Pozo Avigrupo



Fotografía 3. Pozo La Presa



Fotografía 4. Pozo Coatetelco



Fotografía 5. Pozo Coatlán del Río



Fotografía 6. Pozo Cocoyotla



Fotografía 7. Pozo Cuachichinola



Fotografía 8. Pozo Puente de Ixtla

## I. JUSTIFICACIÓN

De todos los ambientes, la biología del agua subterránea es una de las menos estudiadas. Hasta hace relativamente poco se consideraba que la posibilidad de que ocurrieran procesos biológicos en el agua subterránea era poca y no significativa. Sin embargo, en las últimas décadas algunos estudios han reportado que existen microorganismos en el agua subterránea profunda y que pueden realizar funciones importantes. Específicamente, se conoce poco de los aspectos microbiológicos de la contaminación que ocurren en este ambiente en comparación con las aguas superficiales, principalmente debido a la creencia de que este tipo de agua era esencialmente limpia por la acción filtrante del medio poroso por la cual pasa el agua (Bitton y Gerba, 1984). El interés en las investigaciones en el área de la microbiología del agua subterránea se ha incrementado debido a la creciente demanda de esta fuente de abastecimiento, por lo que se requiere que no exista riesgo a la salud de los consumidores (Iturbe y Silva, 1992).

Entre los protozoarios, que resultan un importante eslabón en la cadena alimentaria, reguladores de las poblaciones bacterianas, se encuentran microorganismos de vida libre que pueden actuar como patógenos oportunistas, y cuya interacción con los parámetros ambientales determinan en gran parte el riesgo que implica su ingestión, contacto o inhalación (Bonilla *et al.*, 2004).

Por lo anterior, este tipo de estudio es importante, porque en primer término se contribuye al conocimiento de las poblaciones microbianas presentes en el agua subterránea, específicamente de las amibas de vida libre (AVL), que cumplen una función importante en la cadena trófica, como depredadoras de bacterias y en el reciclado de nutrientes. Y en segundo término se conocerá la calidad amebológica de los pozos monitoreados, que en el caso de presencia de amibas de vida libre con potencial patógeno, podrían tener repercusiones en aspectos de salud, por el peligro que representaría para los usuarios de esta agua.

## **I. OBJETIVOS**

### **Objetivo General.**

Determinar la presencia temporal de las amibas de vida libre en agua subterránea del acuífero de Zacatepec de Hidalgo, Morelos.

### **Objetivos Particulares.**

Aislar e identificar las amibas de vida libre presentes en el agua subterránea del acuífero.

Determinar la distribución temporal y espacial en el acuífero.

Relacionar la presencia de las amibas con algunos parámetros fisicoquímicos: pH, Temperatura y Oxígeno Disuelto.

## I. MATERIAL Y MÉTODOS

La metodología se dividió en dos rubros.

### I. Trabajo de Campo.

Se realizaron un total de 12 muestreos, uno por mes, llevados a cabo del mes de Octubre del 2006 al mes de Septiembre del 2007 en 8 pozos del acuífero de Zacatepec, Morelos. Para la determinación de las amibas de vida libre, se colectaron 1000 ml de agua subterránea en envases esterilizados y se transportaron al laboratorio de microbiología acuática (UIICSE) a temperatura ambiente para evitar cambios en la estructura de las amibas ya que son muy sensibles a los cambios de temperatura. Los pozos que se muestrearon, son pozos en uso para consumo de agua potable, por lo que están entubados, las muestras se tomaron de la válvula que se encuentra antes de la cloración.

En el sitio se midieron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH (potenciómetro HANNA Instruments HI 8314), Oxígeno Disuelto y Temperatura (Oxímetro YSI. Mod 51-b).

### II. Trabajo de Laboratorio.

#### o Aislamiento y cultivo de AVL.

Las muestras de 1000 ml se filtraron a través de membranas de 5  $\mu$ m de poro en condiciones estériles. Las membranas se colocaron hacia abajo en placas de medio Agar no Nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes* (NNE) para el aislamiento de las amibas (García, 2000). Las placas se incubaron a 30°C y se revisaron después de ocho días para detectar el crecimiento amibiano, usando un microscopio invertido marca Zeiss.

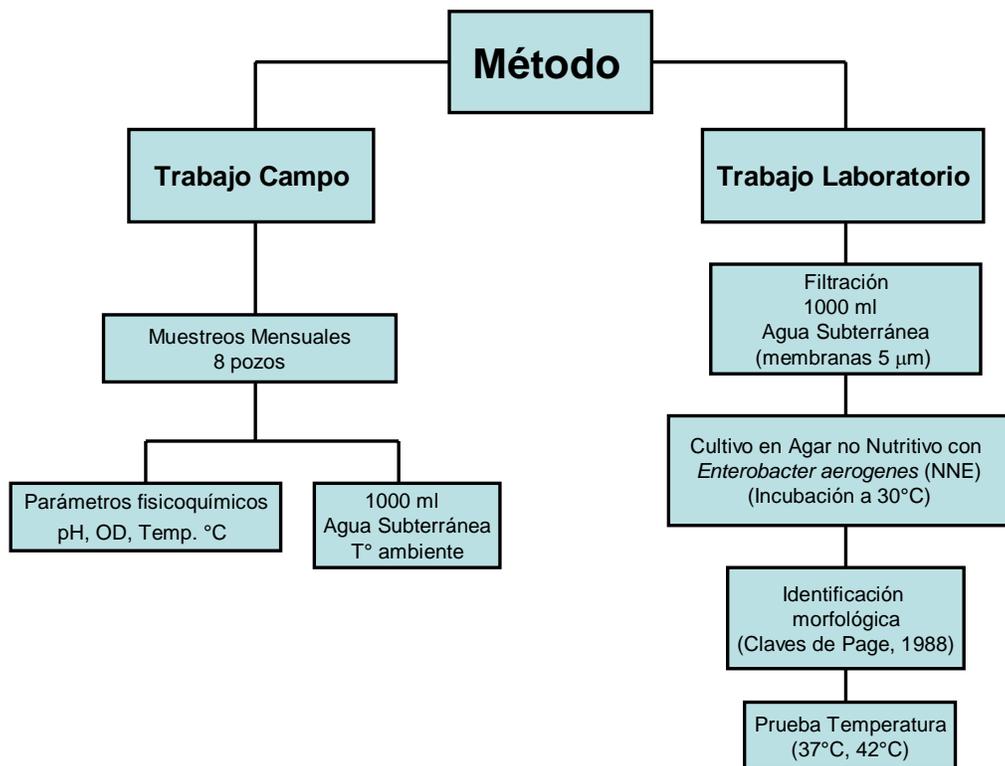
La identificación de las amibas se realizó tomando en cuenta sus características morfológicas tanto de la forma trófica como quística, observando las preparaciones al microscopio de contraste de fases a 400 y 1000 aumentos marca Zeiss y siguiendo las claves taxonómicas de Page (1988).

- Prueba de tolerancia a la temperatura.

De las cajas que tuvieron presencia de amibas a 30 °C, se realizó un resembrado por duplicado las cuales se incubaron a 37 y 42 °C por 48 horas para observar el desarrollo de amibas termófilas. La identificación de las amibas se realizó de la misma manera que a 30 °C tomando en cuenta sus características morfológicas tanto de la forma trófica como quística, observando las preparaciones al microscopio de contraste de fases a 400 y 1000 aumentos y siguiendo las claves taxonómicas de Page (1988).

- Análisis estadístico

Se utilizó el análisis de Coeficiente de Correlación Lineal Producto-Momento de Pearson para relacionar los parámetros fisicoquímicos (pH, O.D., y Temperatura °C) con la presencia de las amibas (Durán *et al.*, 2003).



**Figura 6.** Diagrama de flujo de la metodología empleada para la caracterización de AVL.

## I. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Presencia y Ausencia

En la Tabla 2 se puede observar la presencia y ausencia de amibas de vida libre en los ocho pozos estudiados durante el período de estudio, en los pozos de Avigrupo, Cuauchichinola, Cocoyotla y La Presa se presentaron amibas en todos o casi todos los meses, en cambio Coatetelco y Coatlán del Río se detectaron sólo en 5 y 6 meses respectivamente.

Pozos	Oct 06	Nov 06	Dic 06	Ene 07	Feb 07	Mar 07	Abr 07	May 07	Jun 07	Jul 07	Agt 07	Sep 07
Alpuyeca	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
Avigrupo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Coatetelco	-	-	+	+	-	-	s/m	+	+	-	s/m	+
Coatlán del Río	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
Cuauchichinola	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Cocoyotla	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	s/m
La Presa	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	s/m
Puente de Ixtla	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+

s/m: Sin muestreo; +: Presencia; - : Ausencia.

**Tabla 2.** Presencia y ausencia de amibas de vida libre en el acuífero de Zacatepec, Morelos.

### Riqueza específica

En la Tabla 3, se muestran las 14 especies pertenecientes a 11 géneros, encontradas durante el periodo de muestreo en los ocho pozos estudiados. El número de especies encontradas en este acuífero fue bajo, comparado con las 30 especies pertenecientes a 7 géneros reportados por Ramírez y col en 2001 en el acuífero del Valle del Mezquital, donde el uso intensivo de agua de desecho en la irrigación favoreció la presencia de amibas de vida libre por ser una fuente importante de la contaminación tanto biológica como orgánica del agua subterránea.

PHYLUM RHIZOPODA			
ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
SCHIZOPYRENIDA	VAHLKAMPFIIDAE	<i>Naegleria</i>	<i>sp</i>
ACRASIDA	GUTTULINOPSIDAE	<i>Guttulinopsis</i>	<i>nivea</i>
		<i>Rosculus</i>	<i>ithacus</i>
EUAMOEBIDA	THECAMOEBIDAE	<i>Thecamoeba</i>	<i>corrugata</i>
	HARTMANNELLIDAE	<i>Hartmannella</i>	<i>vermiformis</i>
	VANDELIDAE	<i>Platyamoeba</i>	<i>placida</i>
		<i>Vannella</i>	<i>cirrifera</i> <i>lata</i> <i>platypodia</i>
		PARAMOEBIDAE	<i>Mayorella</i>
	VEXILLIFERIDAE	<i>Vexillifera</i>	<i>bacillipedes</i>
ACANTHOPODIDA	ACANTHAMOEBIDAE	<i>Acanthamoeba</i>	<i>polyphaga</i> <i>royreba</i>
	ECHINAMOEBIDAE	<i>Echinamoeba</i>	<i>silvestris</i>

**Tabla 3.** Riqueza específica de amibas encontradas en el acuífero de Zacatepec, Morelos.

En la Tabla 4, se muestra la riqueza específica de AVL en cada pozo muestreado perteneciente al primer semestre correspondiente a los meses de Octubre del 2006 a Marzo del 2007, donde el pozo de Avigrupo presentó el mayor número de especies con nueve respectivamente, en tanto los pozos de Coatlán del Río y Cocoyotla presentaron el menor número de especies con dos.

En la Tabla 5, se observa la riqueza específica de AVL en cada pozo muestreado perteneciente al segundo semestre perteneciente a los meses de Abril del 2007 a Septiembre del 2007, donde los pozos de Avigrupo y Puente de Ixtla presentaron el mayor número de especies con seis respectivamente, en tanto los pozos que presentaron el menor número de especies fueron Alpuyeca con dos especies y Cuauchichinola con una sola especie.

Pozo	Oct-06	Nov-06	Dic-06	Ene-07	Feb-07	Mar-07
Alpuyeca	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. cirrifera</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria sp</i> <i>T. corrugata</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i>	<i>P. placida</i>
Avigrupo	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>A. polyphaga</i> <i>Naegleria sp</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria sp</i> <i>A. polyphaga</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>A. polyphaga</i> <i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>P. placida</i> <i>Naegleria sp</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>G. nivea</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>P. placida</i> <i>M. cultura</i> <i>T. corrugata</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>A. polyphaga</i> <i>R. ithacus</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>A. polyphaga</i> <i>V. bacillipedes</i>
La Presa	<i>V. platypodia</i>	(-)	<i>H. vermiformis</i> <i>P. placida</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria sp</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>R. ithacus</i>
Coatetelco	(-)	(-)	<i>A. polyphaga</i> <i>Naegleria sp</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	(-)	(-)
Coatlán del Río	(-)	(-)	(-)	<i>H. vermiformis</i>	(-)	<i>P. placida</i>
Cocoyotla	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>
Cuauchichinola	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>E. silvestris</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i>
Puente de Ixtla	<i>R. ithacus</i>	(-)	<i>R. ithacus</i> <i>E. silvestris</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i>	(-)	<i>H. vermiformis</i>

(-): Ausencia.

**Tabla 4.** Riqueza específica de AVL durante el primer semestre de Octubre de 2006 a Marzo de 2007.

Pozo	Abr-07	May-07	Jun-07	Jul-07	Agt-07	Sep-07
Alpuyeca	(-)	(-)	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i>	<i>H. vermiformis</i>	(-)	<i>H. vermiformis</i>
Avigrupo	<i>A. polyphaga</i> <i>A. royreba</i> <i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>A. polyphaga</i> <i>A. royreba</i> <i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>R. ithacus</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>A. polyphaga</i> <i>R. ithacus</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria sp</i>	<i>A. polyphaga</i> <i>A. royreba</i> <i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>
La Presa	<i>R. ithacus</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria sp</i> <i>P. placida</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i> <i>Naegleria sp</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>P. placida</i> <i>V. bacillipedes</i>	s/m
Coatetelco	s/m	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	(-)	s/m	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i> <i>V. bacillipedes</i>
Coatlán del Río	<i>R. ithacus</i> <i>T. striata</i>	(-)	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	(-)
Cocoyotla	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>A. polyphaga</i> <i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria sp</i> <i>R. ithacus</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>P. placida</i> <i>R. ithacus</i>	s/m
Cuauchichinola	(-)	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>
Puente de Ixtla	(-)	<i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria sp</i>	<i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria sp</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>Naegleria sp</i> <i>P. placida</i> <i>R. ithacus</i> <i>V. lata</i>

s/m: Sin muestreo; (-): Ausencia

**Tabla 5.** Riqueza específica de AVL durante el segundo semestre de Mayo a Septiembre de 2007.

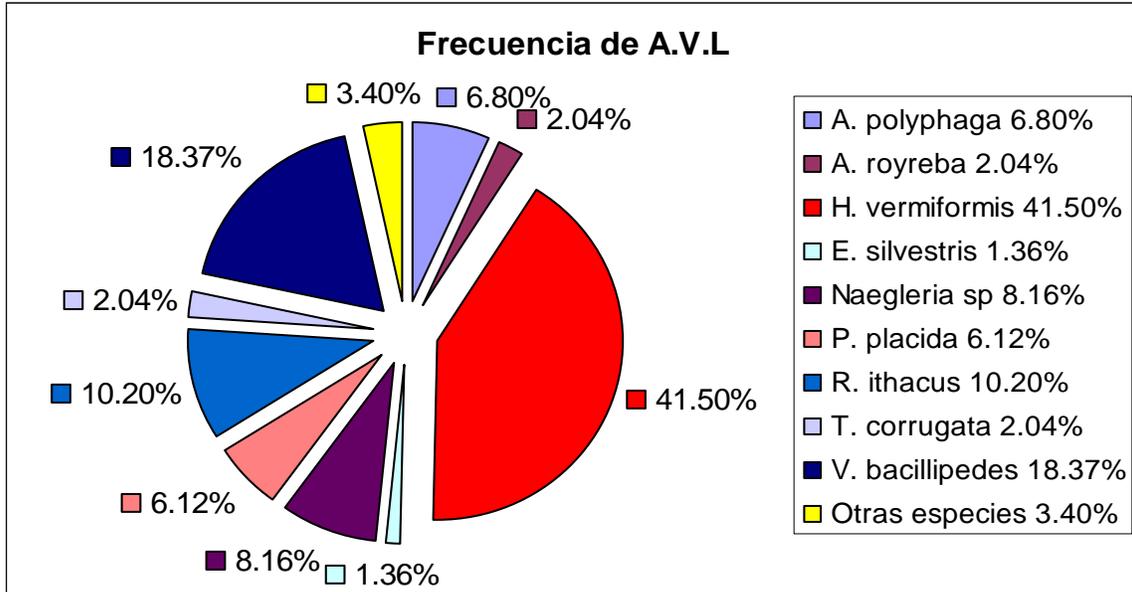
## Frecuencia

En el gráfico 1, se muestran los porcentajes de los géneros de AVL que se presentaron en los ocho pozos estudiados. Donde se puede apreciar que *Hartmannella vermiformis* fue la más frecuente con un 41.50%. Lo que es importante porque *H. vermiformis* no ha sido reportada como patógena y aunque estuvo asociada a un caso de encefalitis, no se pudo comprobar su participación como causante de la enfermedad (Centeno *et al.*, 1996), de igual modo ha sido asociada a casos clínicos humanos en la superficie ocular por el uso inadecuado y falta de higiene en portadores de lentes de contacto suaves propiciando se introduzcan a la superficie ocular (Dorothy *et al.*, 1996).

Las menos frecuentes fueron *Guttulinopsis nivea* 0.68%, *Mayorella cultura* 0.68%, *Vannella cirrifera* 0.68%, *Vannella platypodia* 0.68% y *Vannella lata* 0.68%, que en el gráfico se agruparon como otras especies e hicieron un total de 3.4%.

En el caso del género *Echinamoeba* aparece comúnmente en aguas residuales, en sistemas de tratamiento e incluso en aguas subterráneas pero siempre en porcentajes muy bajos, en cuanto al género *Guttulinopsis* se presenta regularmente en porcentajes de aparición bajos, pero es más común en aguas con alto grado de contaminación orgánica, por lo que los resultados encontrados en el acuífero de Zacatepec, son coincidentes con otros estudios (Gudiño, 2003; Matus, 2001).

De las amibas con potencial patógeno se encontraron solamente *Acanthamoeba polyphaga* (6.80%) y *Acanthamoeba royreba* (2.04%), pero presentaron una baja incidencia en comparación con el estudio realizado por Ramírez y col (2001) en el acuífero del Valle del Mezquital, donde predominó este género con un 67.3%. Lo que sugiere que *Acanthamoeba* puede soportar concentraciones altas de materia orgánica, como las que se presentaron en el acuífero del Valle del Mezquital. En el caso de *Naegleria*, que se presentó en porcentajes bajos (8.16%), al igual que sucedió en el acuífero del Valle del Mezquital, sugiere que estas amibas son sensibles a la temperatura (intervalo de 22 °C y 30.5 °C) ya que las amibas patógenas prefieren temperaturas mayores a 35°C así como a las altas concentraciones de materia orgánica (Ramírez *et al.*, 2001).

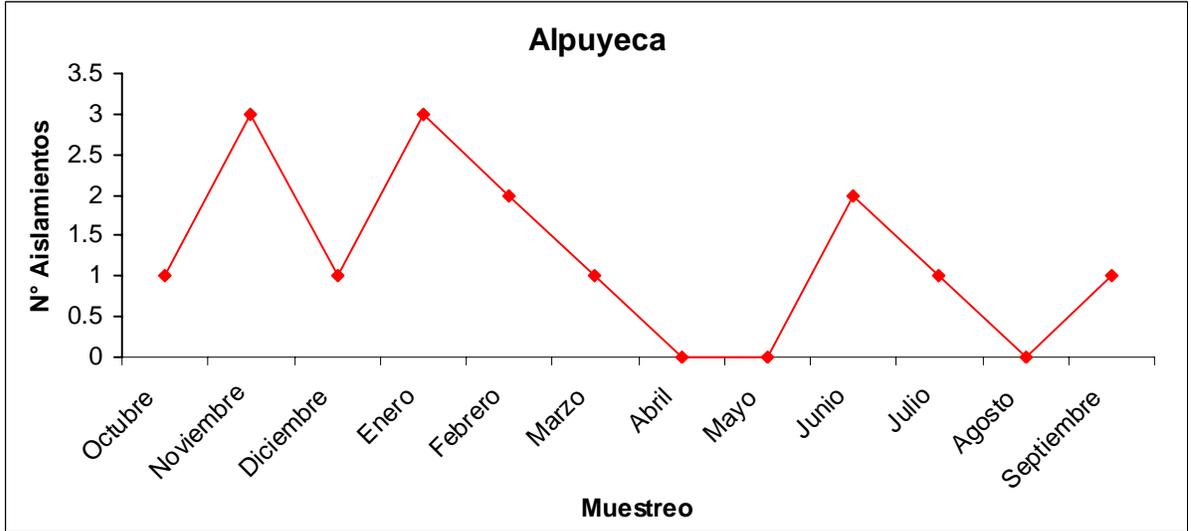


\*Otras especies: *Guttulinopsis nivea* 0.68%, *Mayorella cultura* 0.68%, *Vannella cirrifera* 0.68%, *Vannella platypodia* 0.68%, y *Vannella lata* 0.68%.

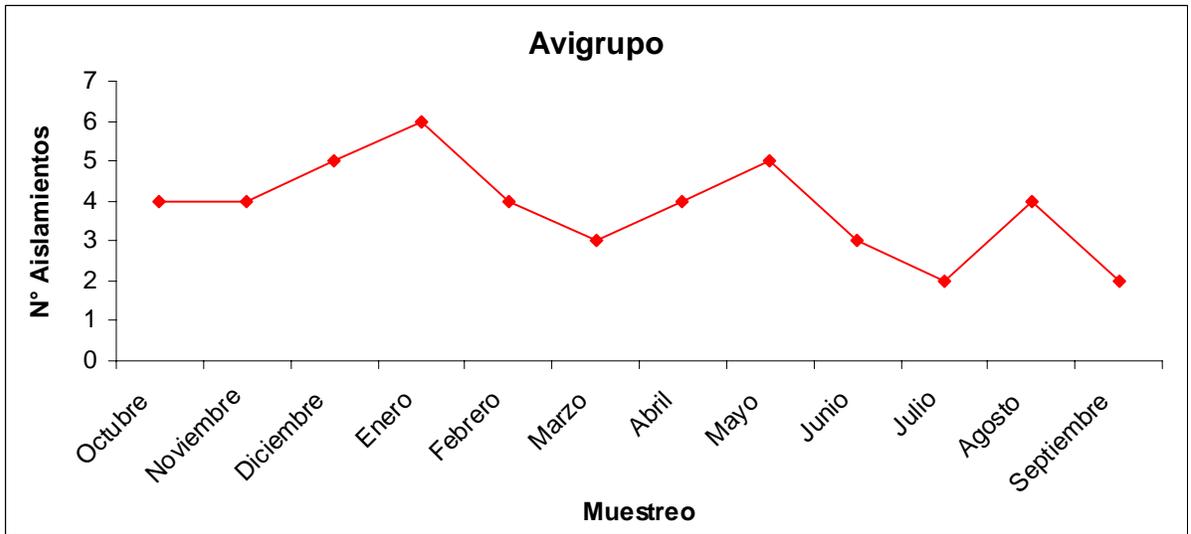
**Gráfico 1.** Frecuencia de amibas de vida libe

### Distribución Temporal

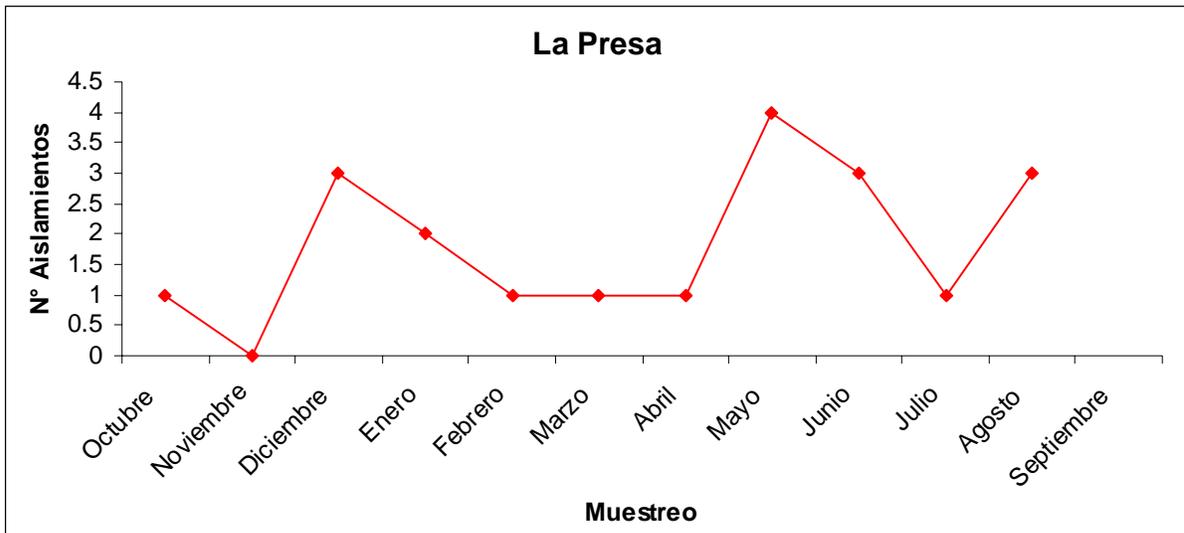
En los gráficos 2 a 9, se muestra la distribución temporal de las amibas en los 8 pozos muestreados. En general, se observó una distribución variable en cada uno de los pozos, a excepción de Cuachichinola, en donde de Mayo a Septiembre del 2007 se mantuvo constante el número de aislamientos.



**Gráfico 2.** Distribución Temporal de AVL en el pozo Alpuyeca.

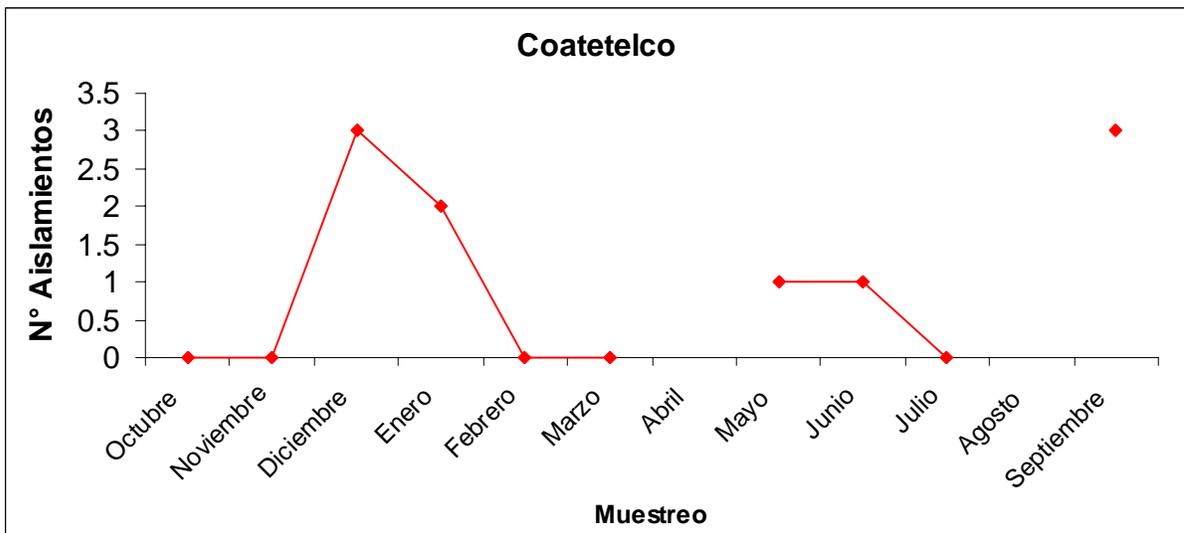


**Gráfico 3.** Distribución Temporal de AVL en el pozo Avigrupo.



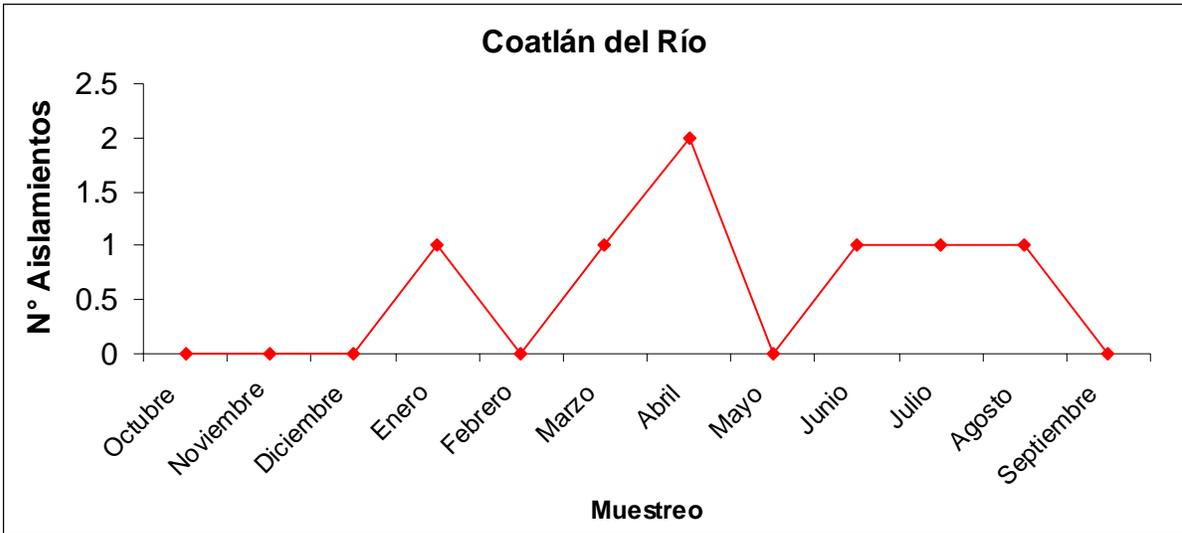
\* Septiembre no se muestreo por problemas técnicos en el bombeo.

**Gráfico 4.** Distribución Temporal de AVL en el pozo La Presa.

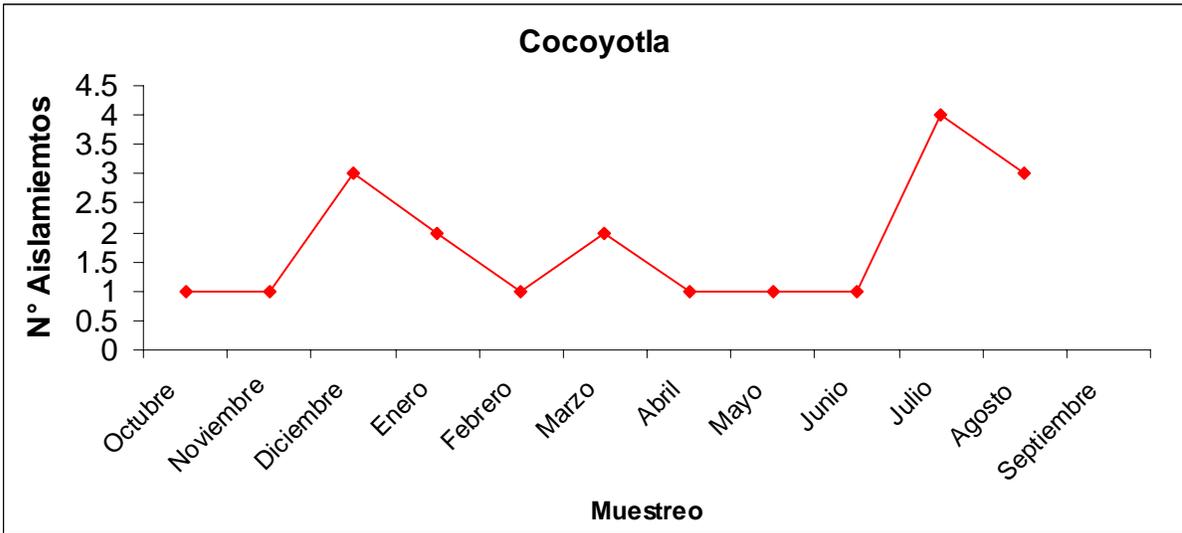


\* Abril y Agosto no se muestrearon por problemas técnicos en el bombeo.

**Gráfico 5.** Distribución Temporal de AVL en el pozo Coatetelco.

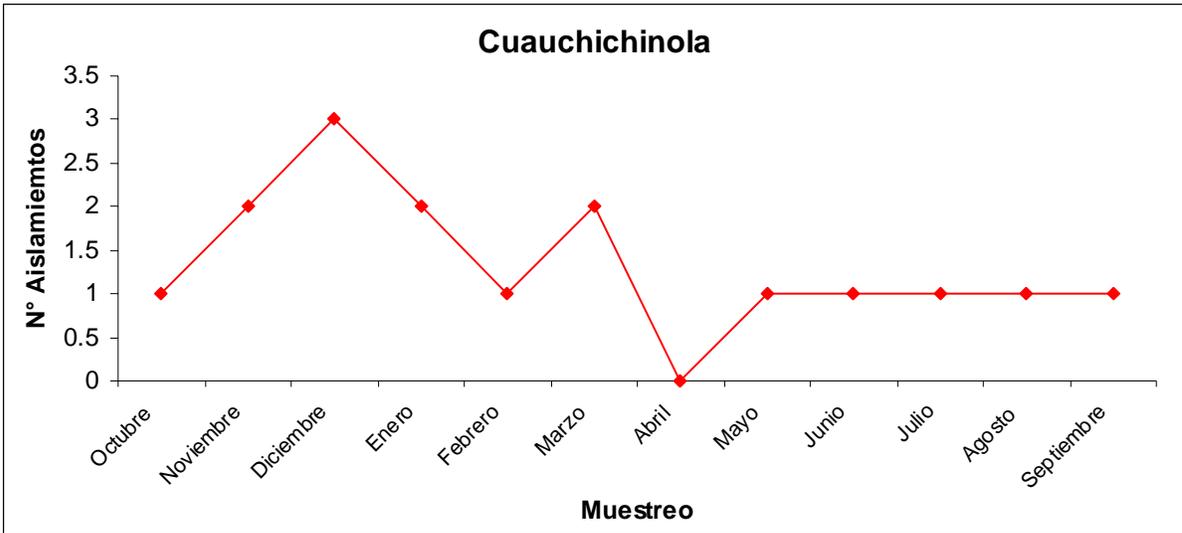


**Gráfico 6.** Distribución Temporal de AVL en el pozo Coatlán del Río.

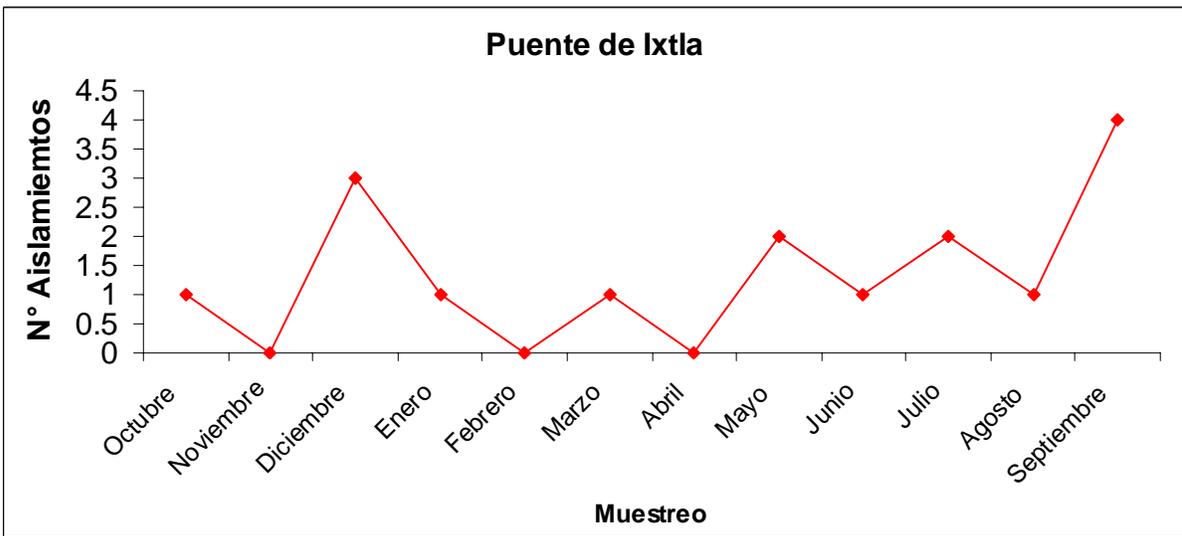


\* Septiembre no se muestreo por problemas técnicos en el bombeo.

**Gráfico 7.** Distribución Temporal de AVL en el pozo Cocoyotla.

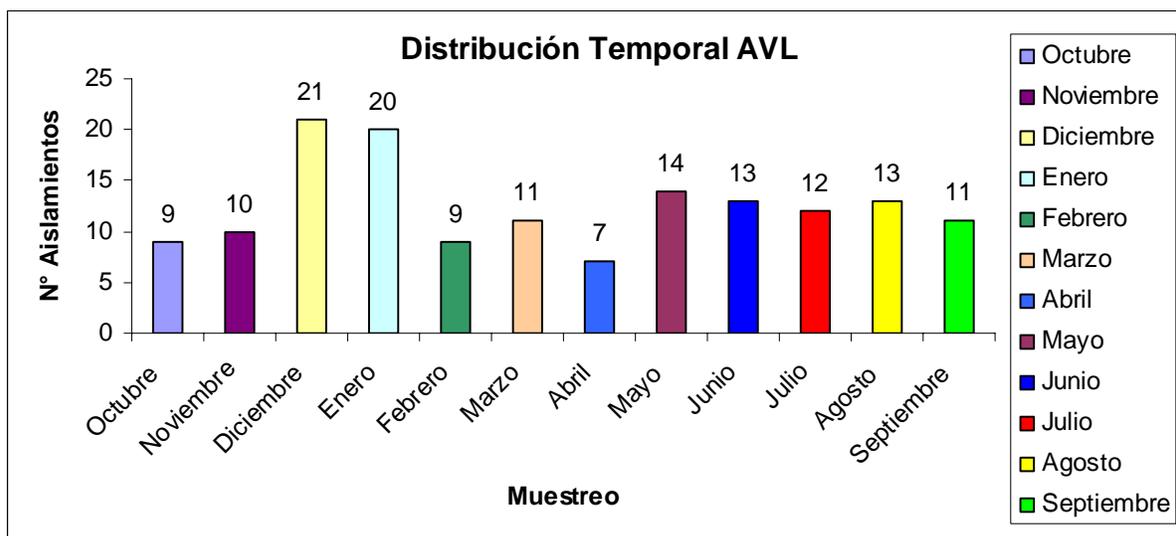


**Gráfico 8.** Distribución Temporal de AVL en el pozo Cuauchichinola.



**Gráfico 9.** Distribución Temporal de AVL en el pozo Puente de Ixtla.

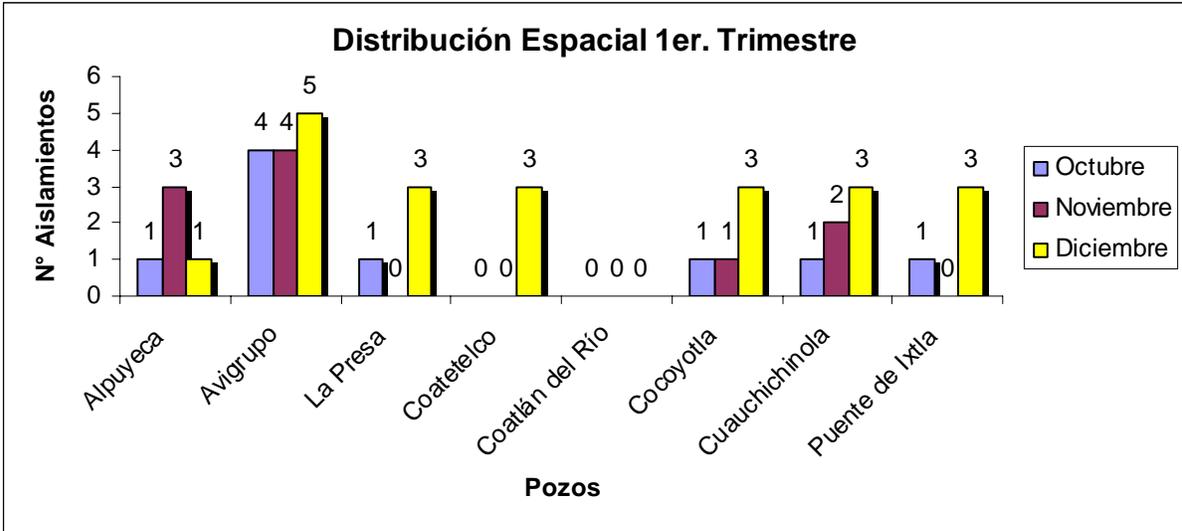
Con respecto a la Distribución Temporal de las AVL totales, en los meses de Diciembre y Enero se observó el número de aislamientos más alto y en el mes de Abril se presentó el más bajo (Gráfico 10). El hecho de que se encontraran más amibas en meses fríos, probablemente se debió a que la mayoría de las amibas aisladas no pertenecen a los géneros reportados como patógenos (Tabla 4), que son las que toleran temperaturas altas. Esto coincide con lo reportado por Ramírez y col 2001 en el Valle del Mezquital, sobre todo en el mes de Enero, donde también se reportó el número de aislamientos más alto.



**Gráfico 10.** Distribución Temporal de AVL totales.

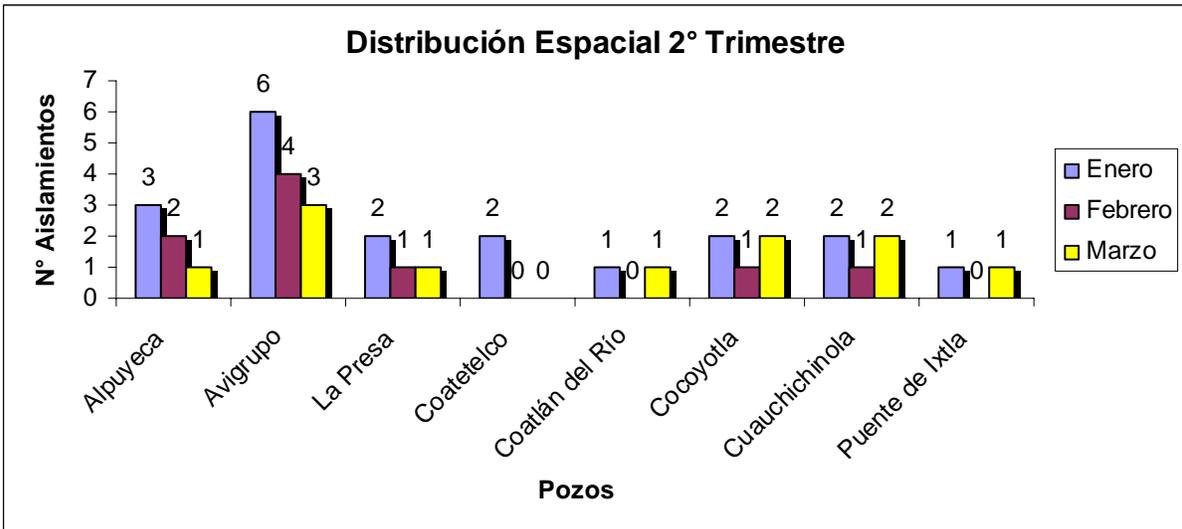
### Distribución Espacial

En el gráfico 11 se observa que el pozo de Avigrupo presentó el mayor número de aislamientos durante el primer trimestre de muestreo, en tanto, el pozo de Coatlán del Río presentó cero aislamientos.



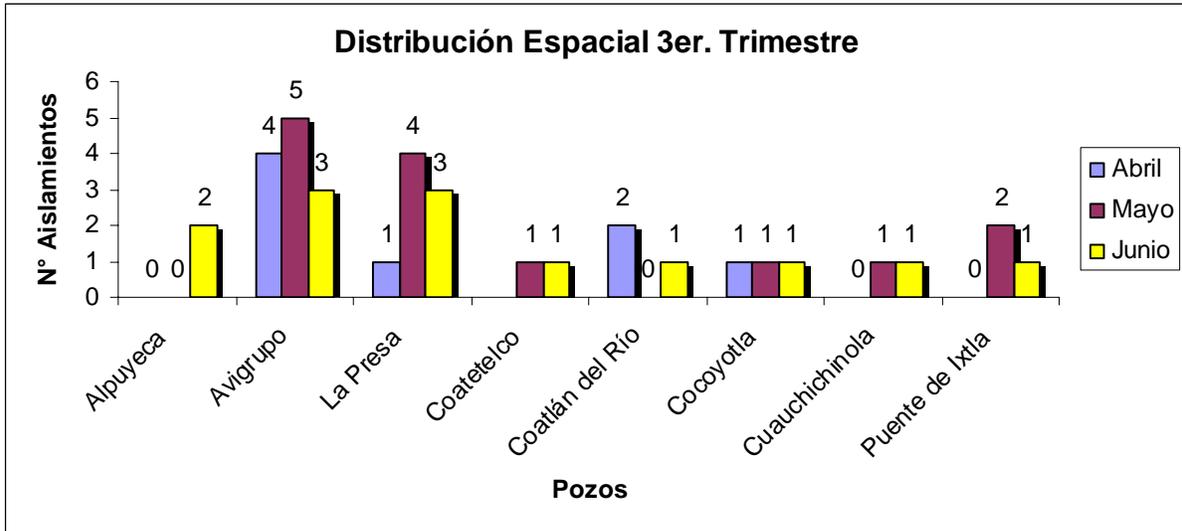
**Gráfico 11.** Distribución Espacial de AVL en los meses de Octubre a Diciembre del 2006.

En el gráfico 12 se observa que durante el segundo trimestre, el pozo de Avigrupo volvió a presentar el mayor número de aislamientos, en tanto, que los pozos de Coatetelco, Coatlán del Río, Puente de Ixtla presentaron los aislamientos más bajos.



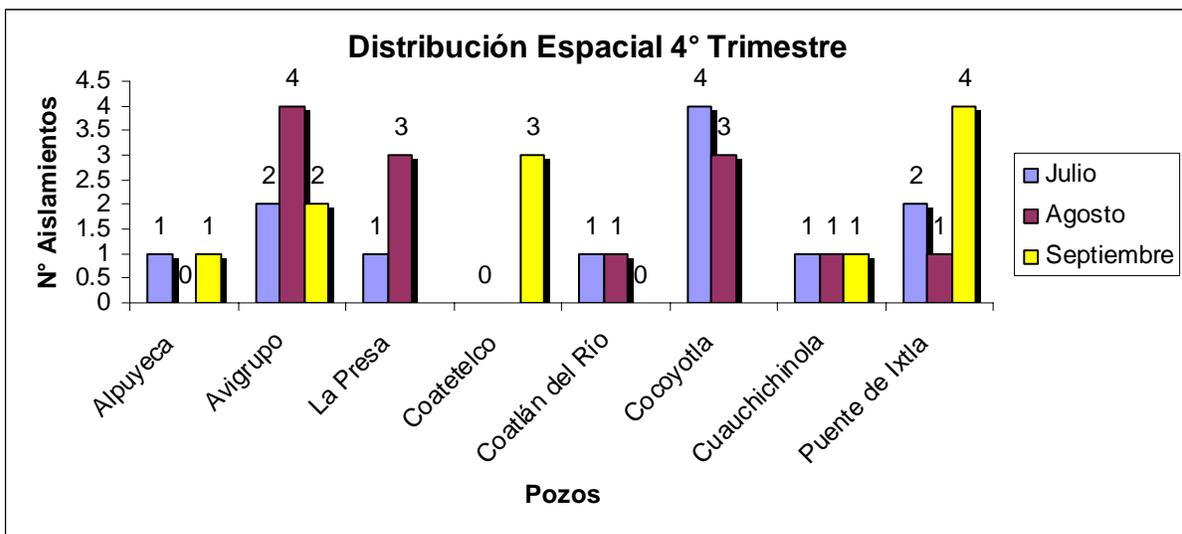
**Gráfico 12.** Distribución Espacial de los meses de Enero a Marzo del 2007.

En el gráfico 13 se observa que durante el tercer trimestre, el pozo de Avigrupo vuelve a presentar los aislamientos más altos, pero en esta ocasión más pozos tuvieron aislamientos bajos, estos fueron: Alpuyecá, Coatetelco, Coatlán del Río, Cocoyotla, Cuauchichinola y Puente de Ixtla.



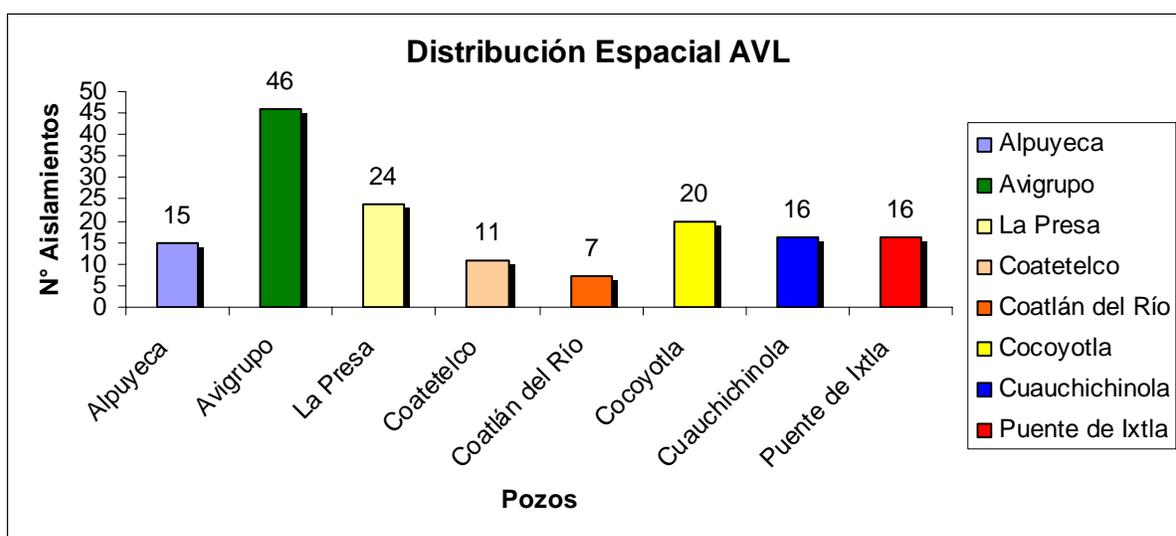
**Gráfico 13.** Distribución Espacial de los meses de Abril a Junio del 2007.

En el gráfico 14 se observa que en el cuarto trimestre, además de Avigrupo, otros pozos (Cocoyotla y Puente de Ixtla) presentaron el número de aislamiento más alto, mientras que Alpuyecá, Coatlán del Río y Cuauchichinola tuvieron los más bajos.



**Gráfico 14.** Distribución Espacial de los meses de Julio a Agosto del 2007.

En cuanto a la Distribución Espacial en términos generales, el pozo de Avigrupo presentó el mayor número de aislamientos, en tanto, que el pozo de Coatlán del Río presento los números más bajos durante todo el período de muestreo (Gráfico 15). Eso se pudo deber a que el pozo de Avigrupo se encuentra localizado dentro de una empresa avícola, que pudiera constituir una fuente importante de contaminación tanto biológica como orgánica del agua subterránea a través de la disposición en el suelo de los efluentes de agua de desecho, (Gerba y Bitton, 1984., Zoller, 1994., García y Piña, 2003). En cambio el pozo de Coatlán del Río, que fue el que presentó en general, el menor número de amibas, se localiza a la orilla de la carretera lejos de la zona urbana lo que lo mantiene alejado de fuentes de contaminación diversas.



**Gráfico 15.** Promedio anual de la distribución espacial de AVL en los ocho pozos del acuífero de Zacatepec, Morelos.

### **Prueba de Tolerancia a la Temperatura**

En las Tablas 6 a 9 se muestran las pruebas de temperatura de los aislados amibianos en los pozos estudiados correspondiente a 30 °C que fue la temperatura inicial de incubación y a 37 °C y 42 °C, para observar la termotolerancia de las amibas. Se puede observar que *H. vermiformis* fue la amiba que tuvo una mayor presencia en cada una de las temperaturas, incluso a 42 °C, esto se puede deber a que como menciona Page. 1988, presenta en su forma quística una capa hialina, lo que pudiera conferirle resistencia a las temperaturas altas.

En cuanto a *A. polyphaga*, *A. royreba* y *Naegleria sp.*, crecieron a 42 °C, aunque de forma escasa; lo que constituye una llamada de atención, ya que se ha reportado que todas las amibas patógenas son termófilas, aunque no todas las termófilas son patógenas. En el caso de *Naegleria*, que por sus características de su quiste y a pesar de que creció algunas veces a 42°C, lo hizo escasamente probablemente la especie aislada sea *N. gruberi*, la cual no se ha reportado como patógena (Schuster y Visvesvara, 2004).

### Prueba de Tolerancia a la Temperatura

Pozos	Octubre-06			Noviembre-06			Diciembre-06					
	Especie	30°C	37°C	42°C	Especie	30°C	37°C	42°C	Especie	30°C	37°C	42°C
Alpuyeca	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++ ++	+ +++	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++ +++ +	- - -	(T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+	-
Avigrupo	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i> (Q) <i>Naegleria sp</i>	(*) (*) (*) (*)	+++ +++ +++	+++ +++ - -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>Naegleria sp</i> (Q) <i>Naegleria sp</i> (Q) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++ ++ + + + +	+ + ++ ++ + +	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>Naegleria sp</i> (Q) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>V. bacillipedes</i> (T) <i>P. placida</i>	(*)	+++ +++ + +++ ++ +	+ + - + - -
La Presa	(T) <i>V. platypodia</i>	(*)	-	-		(-)			(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i> (T) <i>P. placida</i>	(*)	+ + +++ ++	+ + - -
Coatetelco		(-)				(-)			(T) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>Naegleria sp</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++ + +	+ + +
Coatlán del Río		(-)				(-)				(-)		
Cocoyotla	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+ +	++ ++	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++ ++	++ ++	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+ + +++	+ + -
Cuauchichinola	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+++ +++	+++ +++	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+++ +++ ++	++ ++ +	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>E. silvestris</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++ ++ +++ +++	+ + ++ -
Puente de Ixtla	(T) <i>R. ithacus</i>	(*)	-	-		(-)			(T) <i>E. silvestris</i> (T) <i>R. ithacus</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+++ ++ +++	++ + -

(T): Trofozoito; (Q): Quiste; s/m: Sin muestreo; (\*) Presencia ambiana; (-): Ausencia; +: Presencia baja; ++: Presencia media; +++: Presencia alta.

**Tabla 6.** Prueba de Temperatura de Octubre a Diciembre del 2006.

### Prueba de Tolerancia a la Temperatura

Pozos	Enero-07				Febrero-07				Marzo-07			
	Especie	30°C	37°C	42°C	Especie	30°C	37°C	42°C	Especie	30°C	37°C	42°C
Alpuyeca	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>Naegleria sp</i>	(*)	++ +++ +	+ ++ +	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> <i>vermiformis</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	+ + +++	- - -	(T) <i>P. placida</i>	(*)	+++	+
Avigrupo	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>G. nivea</i> (T) <i>P. placida</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+ + ++ +++ +	++ ++ +++ - +	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> <i>vermiformis</i> (Q) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+++ +++ + +++	- + ++ -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+ + +++ +++	+ +++ - -
La Presa	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>Naegleria sp</i> (Q) <i>Naegleria sp</i>	(*)	+++ +++ ++ ++	+ ++ + -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> <i>vermiformis</i>	(*)	+ +++	- +	(T) <i>R. ithacus</i>	(*)	++	+
Coatetelco	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+++ + +	+ ++ -		(-)				(-)		
Coatlán del Río	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+ ++	+ +++		(-)			(T) <i>P. placida</i>	(*)	+++	-
Cocoyotla	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+ ++ ++	+ +++ -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> <i>vermiformis</i>	(*)	++ ++	- -	(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+ +++	- -
Cuauchichinola	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++ +++ +	++ +++ -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> <i>vermiformis</i> (Q) <i>R. ithacus</i>	(*)	+++ +++ +	- + -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	+ +++ +	+ +++ -
Puente de Ixtla	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++ +++	+ +++		(-)			(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+ +++	- ++

(T): Trofozoito; (Q): Quiste; s/m: Sin muestreo; (\*) Presencia amibiana; (-): Ausencia; +: Presencia baja; ++: Presencia media; +++: Presencia alta

**Tabla 7.** Prueba de Temperatura de Enero a Marzo del 2007.

### Prueba de Tolerancia a la Temperatura

Pozos	Abril-07			Mayo-07			Junio-07					
	Especie	30°C	37°C	42°C	Especie	30°C	37°C	42°C	Especie	30°C	37°C	42°C
Alpuyeca		(-)				(-)			(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	++ +++ +	+ ++ -
Avigrupo	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>A. polyphaga</i> (Q) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>A. royreba</i> (Q) <i>A. royreba</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++ ++ ++ +++ + + +	++ +++ - + - + -	(T) <i>A. polyphaga</i> (Q) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>A. royreba</i> (Q) <i>A. royreba</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+ +++ ++ +++ ++	- ++ - ++ -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	+++ +++ +	++ +++ -
La Presa	(T) <i>R. ithacus</i>	(*)	+++	+++	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>Naegleria sp</i> (Q) <i>Naegleria sp</i> (T) <i>P. placida</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++ +++ + + ++ +++	- + +++ + - -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>Naegleria sp</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	+ ++ + ++	+ ++ - -
Coatetelco	<b>s/m</b>				(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+ ++	- +	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++ +++	++ +++
Coatlán del Río	(T) <i>T. striata</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	++ +	- -		(-)			(Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+	+
Cocoyotla	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+++ +++	+ +++	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+ +++	+ ++	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++ +++	+ ++
Cuauchichinola	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	+ +++ +	+ +++ -	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++ +++	- +++	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+ +++	+ +++
Puente de Ixtla		(-)			(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>Naegleria sp</i> (Q) <i>Naegleria sp</i>	(*)	+ + +	- - -	(T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	-	-

(T): Trofozoito; (Q): Quiste; s/m: Sin muestreo; (\*) Presencia ambiana; (-): Ausencia; +: Presencia baja; ++: Presencia media; +++: Presencia alta.

**Tabla 8.** Prueba de Temperatura de Abril a Junio del 2007.

### Prueba de Tolerancia a la Temperatura

Pozos	Julio-07				Agosto-07				Septiembre-07			
	Especie	30°C	37°C	42°C	Especie	30°C	37°C	42°C	Especie	30°C	37°C	42°C
Alpuyeca	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+	+++		(-)			(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+++	+
Avigrupo	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>Naegleria sp</i>	(*)	++	+++	(Q) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>A. polyphaga</i> (Q) <i>A. royreba</i> (T) <i>A. royreba</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++	+	(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	+++	+++
La Presa	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++	++	(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>P. placida</i> (T) <i>V. bacillipedes</i>	(*)	++	+	<b>s/m</b>			
Coatetelco		(-)			<b>s/m</b>				(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>V. bacillipedes</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	+++	+++
Coatlán del Río	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+	+++	(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++	+		(-)		
Cocoyotla	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>A. polyphaga</i> (T) <i>Naegleria sp</i> (Q) <i>Naegleria sp</i>	(*)	+	+	(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>P. placida</i> (T) <i>R. ithacus</i>	(*)	++	++	<b>s/m</b>			
Cuauchichinola	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+	+	(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+++	+++	(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i>	(*)	+++	+++
Puente de Ixtla	(T) <i>H. vermiformis</i> (Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>Naegleria sp</i> (Q) <i>Naegleria spp</i>	(*)	+	+++	(Q) <i>H. vermiformis</i> (T) <i>H. vermiformis</i>	(*)	++	+	(Q) <i>Naegleria spp</i> (T) <i>Naegleria spp</i> (T) <i>P. placida</i> (T) <i>R. ithacus</i> (T) <i>V. lata</i>	(*)	+	+

(T): Trofozoito; (Q): Quiste; s/m: Sin muestreo; (\*) Presencia amibiana; (-): Ausencia; +: Presencia baja; ++: Presencia media; +++: Presencia alta.

**Tabla 9.** Prueba de Temperatura de Julio a Septiembre del 2007.

## Parámetros Fisicoquímicos

### pH

En general los 8 pozos siguieron un comportamiento muy similar en pH durante todo el período de estudio a excepción del pozo La Presa donde en el mes de Enero alcanzó un valor de 8.5 (Gráfico 16).

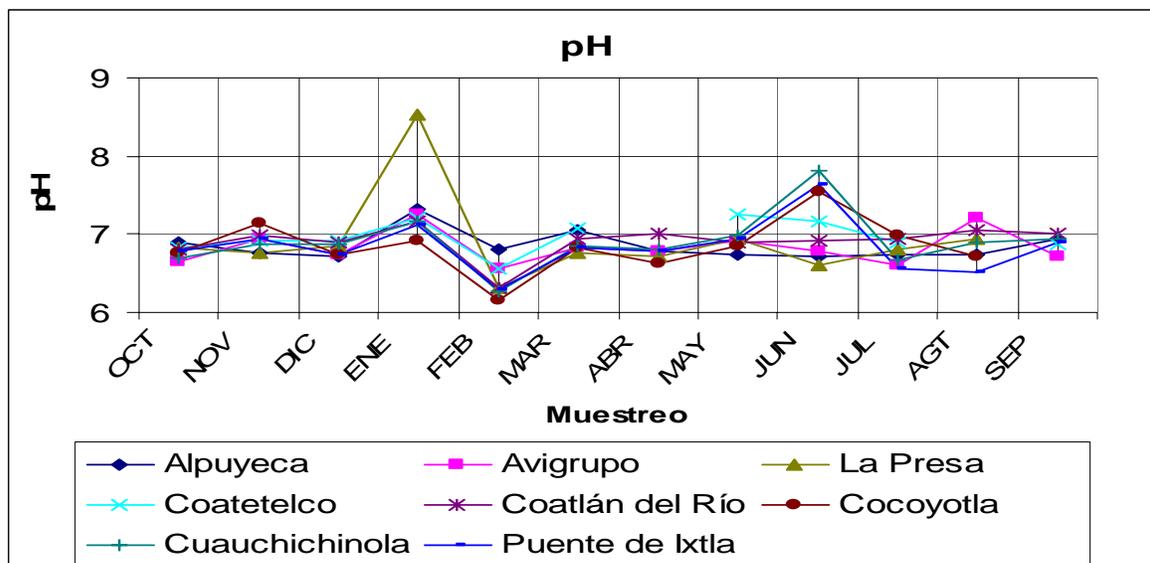
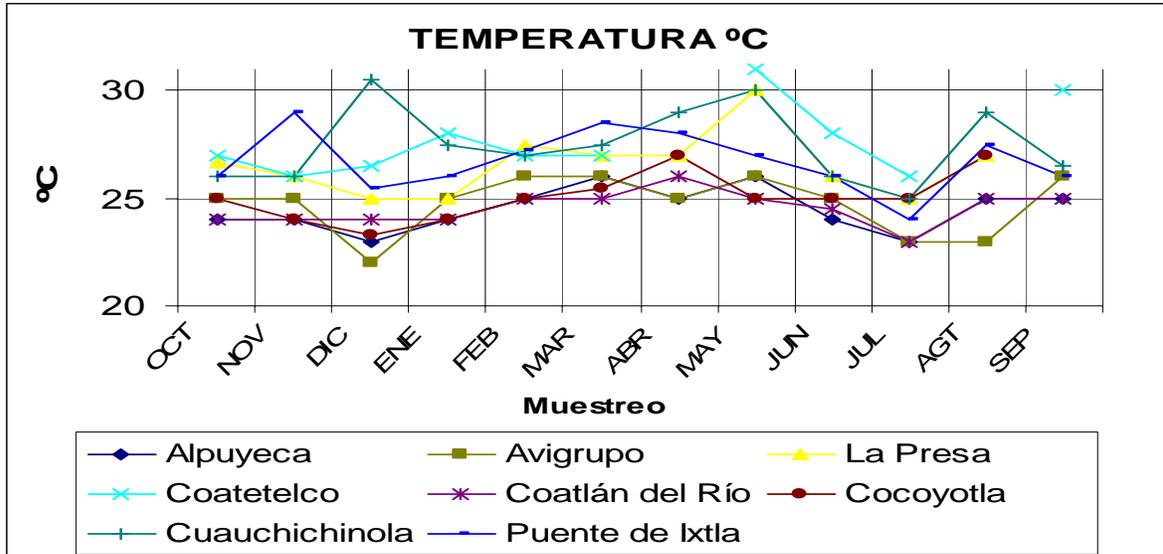


Gráfico 16. Comportamiento del pH durante el período de estudio.

### Temperatura °C

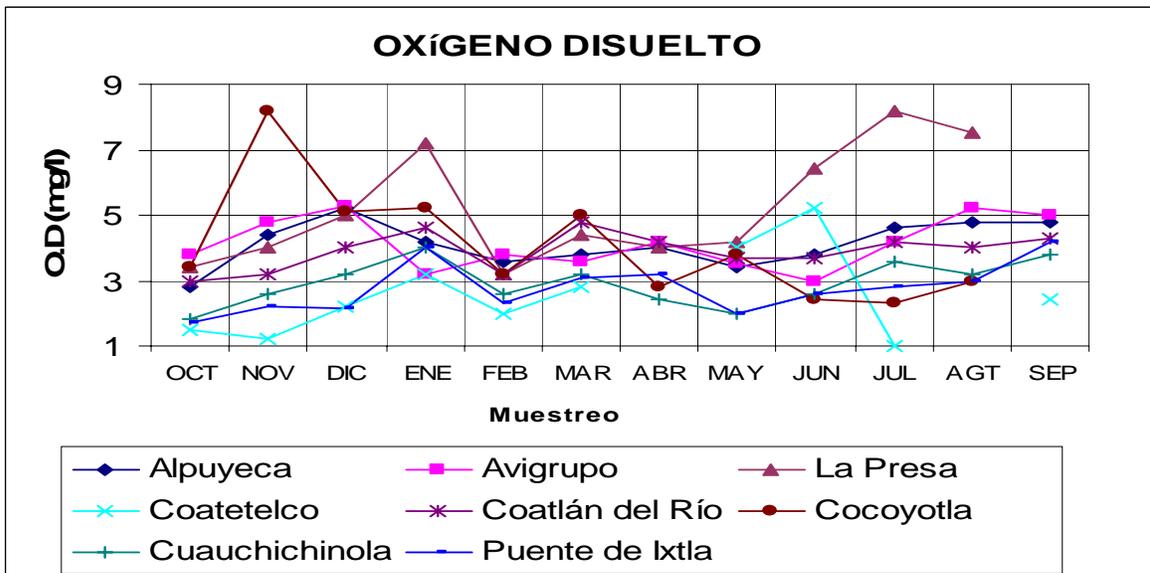
En general los 8 pozos siguieron un comportamiento de Temperatura variable, que osciló entre los 22 °C y los 30.5 °C, con un promedio de 25.89 °C durante todo el período de estudio (Gráfico 17).



**Gráfico 17.** Comportamiento de la Temperatura °C durante el período de estudio.

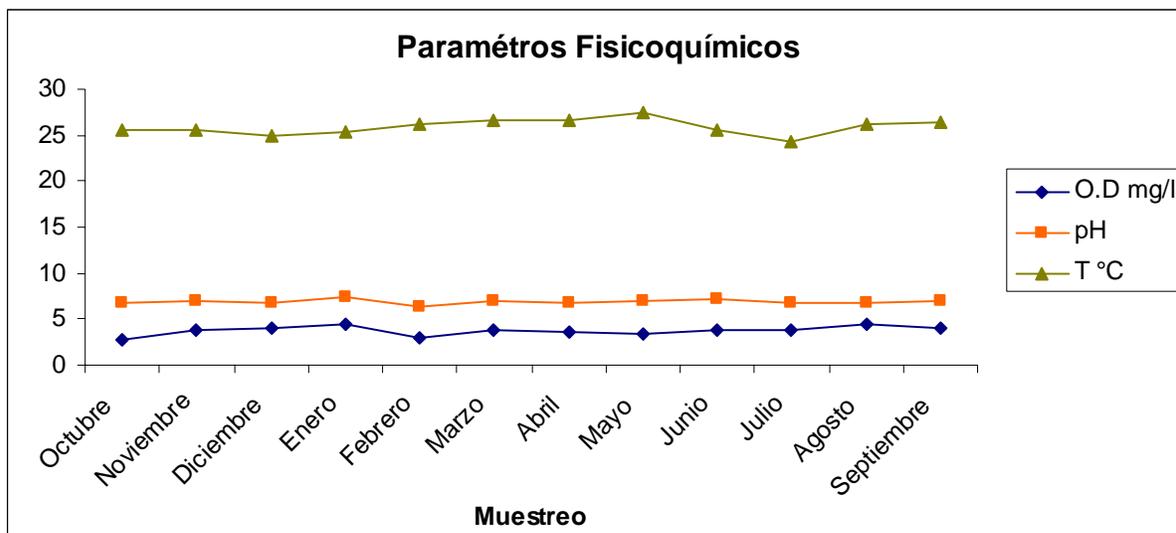
### Oxígeno Disuelto (mg/l)

En general los 8 pozos siguieron un comportamiento de Oxígeno Disuelto variable, los valores más bajos se encontraron en los pozos de Coatetelco, Cuauchichinola y Puente de Ixtla cuyos valores oscilaron entre los 1.2 y los 5.2 mg/l; en cambio La Presa presentó los valores más altos de Oxígeno Disuelto (mg/l) que van de los 3.4 a los 8.2 mg/l (Gráfico 18).



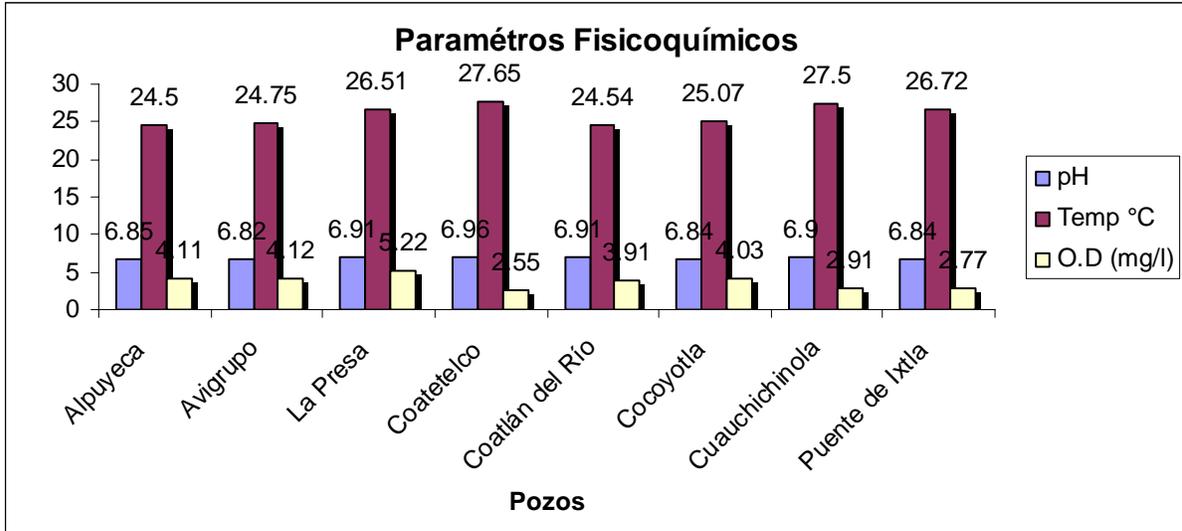
**Gráfico 18.** Comportamiento del Oxígeno Disuelto (mg/l) durante el período de estudio.

Tomando en cuenta los valores promedio de los Parámetros Físicoquímicos de todos los pozos, se muestra que no hubo variaciones importantes a lo largo del año, como se observa en el gráfico 19. El pH estuvo en un rango promedio de 6.40 a 7.33 cercano a la neutralidad, la temperatura en un intervalo promedio de 24.25 a 27.50 °C y el oxígeno disuelto en un intervalo de 2.67 a 4.45 mg/l, que no es un impedimento para la presencia de AVL ya que se requiere una concentración mínima de 1.0 mg/l (Bonilla *et al.*, 2004).



**Gráfico 19.** Parámetros Físicoquímicos durante el período de estudio.

En el gráfico 20, se observa que los valores promedio de pH, temperatura y oxígeno disuelto entre los pozos estudiados fueron muy semejantes, lo que sugiere que las condiciones ambientales son muy homogéneas, al menos en esta zona del acuífero.



**Gráfico 20.** Parámetros Físicoquímicos promedio en todos los pozos

### Análisis estadístico

Es importante mencionar que el Coeficiente de Correlación proporciona una medida de la asociación lineal entre las variables, los valores de la correlación están entre -1 y +1. Si las variables están perfectamente asociadas, entonces el coeficiente de correlación será de 1 o -1, si por el contrario, las variables no están asociadas, entonces el coeficiente tendrá un valor cercano a 0 (Durán *et al.*, 2003).

La Tabla 10, servirá como una guía general para dar una interpretación de la magnitud del coeficiente de correlación (Durán *et al.*, 2003).

Valor absoluto de R	Grado de Asociación
0.8 – 1.0	Fuerte
0.5 – 0.8	Moderada
0.2 – 0.5	Débil
0 – 0.2	Insignificante

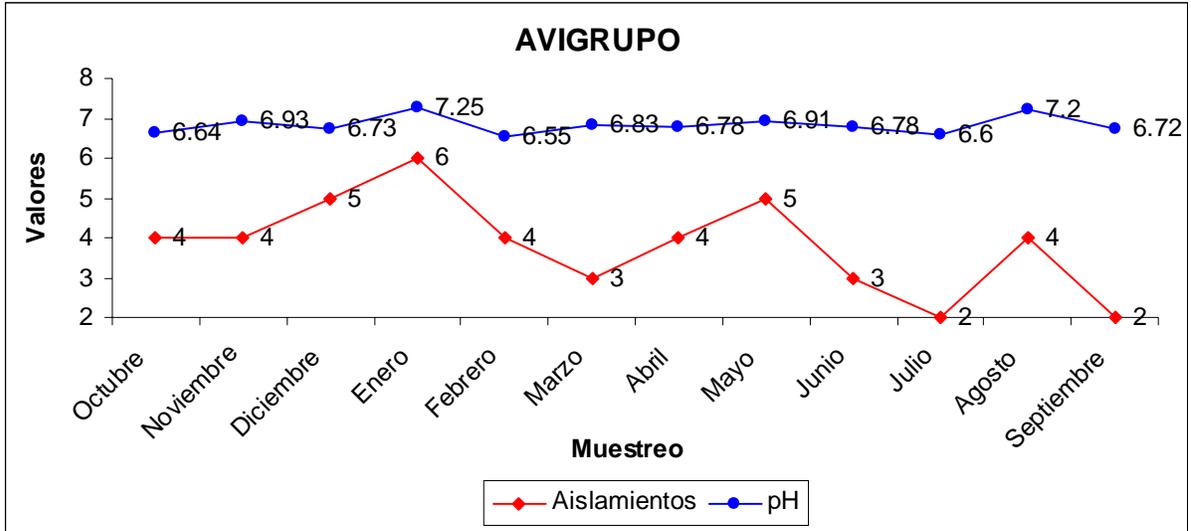
Tabla 10.

En la Tabla 11, se muestran los resultados obtenidos para cada pozo estudiado con respecto a la relación de los parámetros fisicoquímicos (pH, O.D y Temperatura) con la presencia de las amibas. Se observó que en el pozo Avigrupo las amibas tuvieron una relación directa moderada con el pH y en Coatlán del Río con el oxígeno disuelto, lo que nos indico que al subir el pH y el oxígeno disuelto, aumento el número de amibas. En cambio, en el pozo de Puente de Ixtla hubo una relación inversa moderada con la Temperatura, lo que nos indico que al subir la temperatura bajo el número de amibas y al bajar la temperatura aumento el número de amibas.

<b>Análisis de Coeficiente de Correlación Lineal Producto-Momento de Pearson</b>			
Pozos	Parámetros Fisicoquímicos		
	pH	Temperatura °C	O.D. (mg/l)
Alpuyeca	0.39921872	-0.387657443	0.00629097
Avigrupo	0.53861466	-0.084215192	-0.15591151
La Presa	0.16846436	0.325202605	0.29523583
Coatetelco	0.22847456	0.427404338	0.26573688
Coatlán del Río	0.43890916	0.297000096	0.57480732
Cocoyotla	0.00648688	-0.044946352	-0.16147311
Cuauchichinola	0.07596052	0.199263349	0.35833121
Puente de Ixtla	0.05532224	-0.663499306	0.00730182

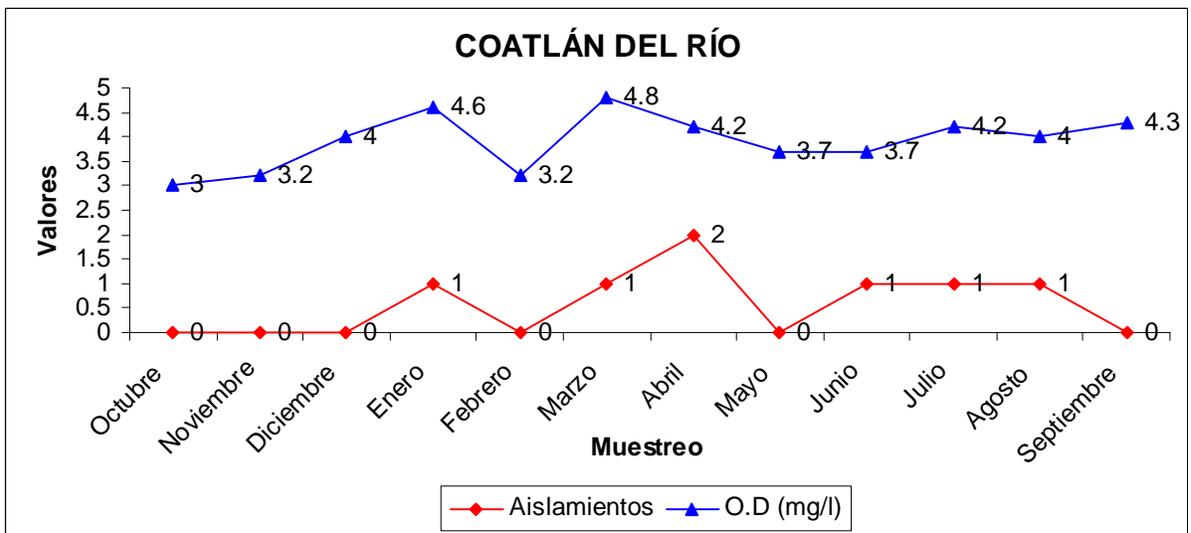
**Tabla 11.** Análisis de Coeficiente de Correlación Lineal Producto-Momento de Pearson.

En el gráfico 21, se muestra la relación directa moderada de las amibas con el pH en el pozo Avigrupo, donde se observa que la población de amibas aumento al incrementarse el pH (Enero, Mayo y Agosto) y cuando este bajo, la población también bajo (Febrero, Junio, Julio y Septiembre).



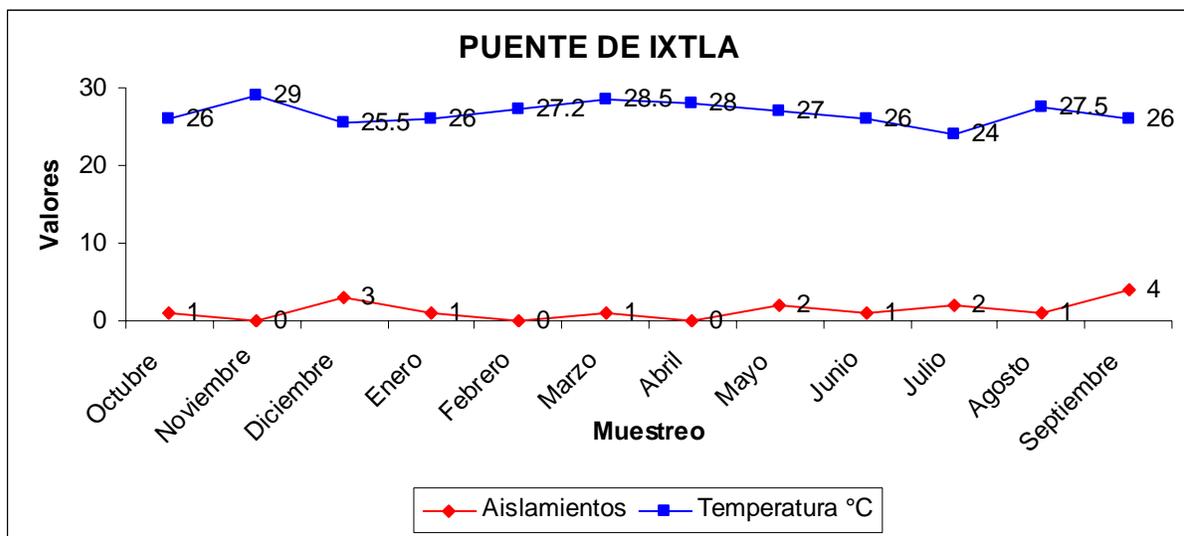
**Gráfico 21.** Relación directa moderada de la presencia de amibas con el pH.

En el gráfico 22, se muestra la relación directa moderada de las amibas con el oxígeno disuelto en el pozo Coatlán del Río, donde se observa que cuando el oxígeno se incremento las amibas aumentaron (Enero y Marzo) y cuando este bajo, las amibas también bajaron (Febrero y Mayo).



**Gráfico 22.** Relación directa moderada de la presencia de amibas con el oxígeno disuelto.

En el gráfico 23, se muestra la relación inversa moderada de las amibas con la Temperatura en el pozo de Puente de Ixtla, donde se observa que al aumentar la temperatura la población de amibas descendió (Noviembre, Enero, Febrero y Agosto) y al bajar la temperatura la población de amibas se incremento (Diciembre, Mayo, Julio y Septiembre). Este comportamiento parece contradictorio a lo que se reporta en la bibliografía con respecto al incremento de la población de amibas de vida libre con el aumento de la temperatura (Bonilla *et al.*, 2004), pero hay que tomar en cuenta que la mayoría de las amibas encontradas, no pertenecieron a los géneros patógenos, que son los que han mostrado esta afinidad con la temperatura.



**Gráfico 23.** Relación inversa moderada de la presencia de amibas con la Temperatura °C.

## I. CONCLUSIONES

- 1) Se aislaron e identificaron 14 especies de amibas de vida libre (AVL) pertenecientes a 11 géneros, a partir de muestras de agua tomadas en ocho pozos del acuífero de Zacatepec en el estado de Morelos.
- 2) Las AVL estuvieron presentes en todos los pozos y en la mayoría de los meses, pero en números bajos.
- 3) La amiba que predominó fue *Hartmannella vermiformis*, que no ha sido reportada como patógena sin embargo, ha sido asociada con algunos casos clínicos humanos.
- 4) De las amibas con potencial patógeno solamente se encontró *Acanthamoeba polyphaga* y *Acanthamoeba royreba* que aunque se presentaron con una baja incidencia, es una llamada de atención para poner énfasis en la cloración del agua y reducir el factor de riesgo a la salud de los usuarios de esta agua, en especial en el pozo de Avigrupo que por los resultados del trabajo mostró ser un hábitat adecuado para este tipo de organismos.
- 5) Con respecto a la Distribución Temporal de las AVL, los meses de Diciembre y Enero se obtuvieron el número de aislamientos más alto y en el mes de Abril se presentó el más bajo.
- 6) Con respecto a la Distribución Espacial, el pozo de Avigrupo presentó el mayor número de aislamientos, en tanto, que el pozo de Coatlán del Río presentó los números más bajos durante todo el período de muestreo.
- 7) Con respecto a la relación de los parámetros fisicoquímicos (pH, O.D. y Temperatura °C), las amibas presentaron una relación directa moderada con el pH en Avigrupo y con el oxígeno disuelto en Coatlán del Río; en el pozo de Puente de Ixtla se presentó una relación inversa moderada con la Temperatura.
- 8) El general los parámetros fisicoquímicos observados, estuvieron dentro de los valores reportados para la presencia de amibas de vida libre.
- 9) El agua subterránea de los pozos estudiados mostró una buena calidad en cuanto a la presencia de las amibas.

## I. REFERENCIAS

- Caballero, A. D. 2006. La Calidad del Agua Subterránea en la Subcuenca del río Guanajuato. Tesis de Licenciatura (Ingeniero Civil). Facultad de Ingeniería. UNAM. México. 168 pp.
- Bitton, G. y Gerba, Ch. P. 1984. Groundwater Pollution Microbiology: The emerging issue. En: G. Bitton y Ch. B. Gerba. (eds). Groundwater Pollution Microbiology. John Wiley & Sons. New York. 1-7 pp.
- Bonilla, L. P. 2000. Heterogeneidad de las Amebas de Vida Libre, con potencial patógeno Aisladas de la Atmósfera de la Ciudad de México. Tesis Doctoral en Ciencias (Biología). Facultad de Ciencias. UNAM. México. 106 pp.
- Bonilla, P., Ramírez, E., Ortiz, R., Calderón, A., Gallegos, E. y Hernández, D. 2000. Occurrence of pathogenic and free-living amoebae in aquatic systems of the Huasteca Potosina, México. In aquatic ecosystems of México: status and scope. Eds. M. Munawar, S. Lawrence, I. Munawar and D. Malley. Ecovision World Monograph series. Backhuys publishers, Leiden, the Netherlands.
- Bonilla, P., Ramírez, E., Ortiz, R., Eslava C. 2004. La ecología de las amibas de vida libre en ambientes acuáticos. En. Microbiología Ambiental. Irma Rosas, Alejandro Cravioto, Exequiel Ezcurra. Instituto Nacional de Ecología. UNAM. México. 67-78 pp.
- Campos, L. L. U. 2007. Distribución temporal de las amibas de vida libre en dos manantiales del acuífero del valle de Cuernavaca, Morelos. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. México. 36 pp.
- Centeno M., Rivera F., Cerva L., Tsutsumi V., Gallegos E., Calderón A., Ortiz R., Bonilla P., Ramírez E., y Suárez G. 1996. *Hartmannella vermiformis* isolated from the cerebrospinal fluid of a young male patient with meningoencephalitis and bronchopneumonia. Archives of Med. Res. 27 (4): 579-586 pp.
- Comisión Nacional del Agua. 1994. Manual para evaluar recursos hidráulicos subterráneos. México.
- Craun, G. F. 1984. Health aspect of groundwater pollution. En: G. Bitton y Ch. B. Gerba. (eds.). John Wiley & Sons. New York. 135-180 pp.
- Cullimore, D. R. 1992. Practical Manual of Groundwater Microbiology. Lewis Publisher. New York. 320 pp.

- Chapelle, H. F. 1993. Groundwater Microbiology and Geochemistry. Jonh Wiley & Sons, Inc. New York. 424 pp.
- Dorothy, A., John, H., Frances, B. K., MBChB, Colin, M. K., FRCOphth, William, R. L., MD, David, V. S. 1996. Amebic Keratitis in a Wearer of Disposable Contact Lenses due to a Mixed *Vahlkampfia* and *Hartmannella* Infection. *Ophthalmology*. 103: (3) 485-494 pp.
- Durán, D. A., Cisneros, C. A., Vargas, V. A. 2003. Bioestadística. FES Iztacala. UNAM. México. 136-144 pp.
- García, M. D. 2000. Detección de *Naegleria fowleri* en cuerpos de agua de importancia turística en el estado de San Luis Potosí. Tesis de Licenciatura. Campus Iztacala. UNAM. México. 56 pp.
- García, C. M. y Piña, C. M. 2003. Evaluación de la contaminación del agua subterránea del Valle de Ciudad Juárez, Durango. Universidad Autónoma Agraria, Antonio Narro, Dirección de Investigación. <http://www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/cont2003.pdf>
- Gudiño, G. D. 2003. Estudio cuantitativo de las amibas de vida libre presentes en un sistema de tratamiento del agua residual del tipo del método de la zona de la raíz (MZR) en el poblado de Matilde, Hidalgo. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. México. 64 pp.
- Iturbe, A. R. y Silva, M. A. E. 1992. Agua subterránea y Contaminación. Series del Instituto de Ingeniería. No. 539. Instituto de Ingeniería UNAM. México. 54 pp.
- John D., Elizabeth T. 1983. Diccionario de Biología. Colección Llave de la Ciencia. Norma. Bogota, Colombia. 350 pp.
- Kudo, R. 1969. Protozoología. Ed. Continental. México, D.F. 905 pp.
- Leal, A. M. T., Gelover S. S. 2006. Evaluación de Acuíferos de la Mesa del Norte. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). Jiutepec, Morelos. 4 pp.
- Marciano-Cabral, F., Cabral, G. 2003. *Acanthamoeba* spp as Agents of Disease in Humans. *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 16 (2): 273-307 pp.
- Marshall Marilyn M, Donna Naumovitz, Ynes Ortega, Charles R. Sterlin. January 1997. Waterborne Protozoan Pathogens. *American Society for Microbiology*. 10 (1): 67-85 pp.

- Matus, M. D. 2001. Amebas de vida libre aisladas de aguas subterráneas del Valle del Mezquital, Hidalgo. México. Tesis de Licenciatura. FES Iztacala. UNAM. México. 53 pp.
- Novarino, G., Warren, A., Butler, H., Lambourne, G., Boxshall, A., Bateman, J., Kinner, N.E., Harvey, R.W., Mosse, R.A., Teltsch, B. 1997. Protistan Communities in Aquifers: A review. FEMS Microbiology Reviews 20: 261-275 pp.
- Oddó B, D., Ciani A. S., Vial C. P. 2006. Encefalitis amebiana granulomatosa por *Balamuthia mandrillaris*: Primer caso diagnosticado en Chile. Revista Chilena de Infectología. 23:(3) 232-236 pp.
- Omaña, M. 1997. Estudio comparativo de tres cepas del género *Acanthamoeba*. Responsable de los primeros casos detectados de Queratitis amebiana en México. Tesis de Maestría en Ciencias. UNAM. FES Cuautitlán. México. 166 pp.
- Page, F.C. 1988. A new key to freshwater and soil gymnamoebae. Culture Collection of Algae and Protozoa. Cumbria. England. 112 pp.
- Ramírez, E. y Bonilla, P. 1995. Epidemiología de las amibas en México. Rev. Información Científica y Tecnológica. 17. 15-17 pp.
- Ramírez, E., Campoy, E., Matus, D., Robles, E., Bonilla, P., Warren, A. y Ortiz, R. 2001. Ecology of Free-Living Amoebae in organically-Contaminated Aquifer in Mexico. En. Billot-Bonet S., Cabunes. P. A., Marciano-Cabral, F., Pernil, P., Pringuez, E (eds.) IXth International Meeting of the Biology and Pathogenecity of Free-Living Amoebae Proceeding. Session II. John Libbey. Eurotex. 109-116 pp.
- Rheinheimer, G.1987. Microbiología de las aguas. Acribia, S.A. Zaragoza. España. 299 pp.
- Rivera F., Gallegos E., Ramírez E., Bonilla P., Calderón A., Martínez J. J., Rodríguez S., and Alcocer J. 1989. Pathogenic amoebae in natural thermal waters of three resorts of Hidalgo, Mexico. Environmental Research. 50: 289-295 pp.
- Rivera F., Cerva L., Martinez J. A., Keleti G., Lares F., Ramírez E., Bonilla P., Graner S., Saha A., and Glew R. 1990. *Naegleria lovaniensis tarasca* new subspecies, and the purepecha strain, a morphological variant of *N. lovaniensis* isolated from natural thermal waters in Mexico. Journal of Protozoology. 37: 301-310 pp.

Rivera, F., Bonilla, P., Ramírez, E., Calderón, A., Ortiz, R., Rodríguez, S., 1991. Félix Dujardin (Semblanza Histórica). Rev. Sociedad Mexicana Historia Natural. 42:13-17 pp.

Schuster, F. L. 2002. Cultivation of Pathogenic and Opportunistic Free-Living Amebas. Clinical microbiology Reviews. 15: (3) 342-354 pp.

Schuster, F. L. and Visvesvara, G. S. 2004. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. International Journal for Parasitology 34:1001-1027 pp.

Zelikson, R. 1996. Microorganisms and Viruses in Groundwater Environmental Science and Pollution Control. Series Haifa University Oranim. Israel. 435 - 436 pp.

Zoller, U. 1994. Groundwater Contamination and Control. Marcel Dekker, Inc. New York. 410 pp.

<http://www.cna.gob.mx>

<http://www.earth.google.com>

<http://www.inegi.gob.mx/geografia/>

<http://www.inegi.gob.mx>

## I. APÉNDICE

### Medio de Cultivo

Agar no nutritivo con *Enterobacter aerogenes* (NNE)

NaCl	0.12g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.004g
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.004g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.142g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.136g
Bactoagar	15.0g
Agua Destilada	1000ml

El medio NNE se prepara mezclando los componentes deshidratados y después agregando el agua destilada que se calienta hasta ebullición. Se esteriliza a 121 °C durante 15 minutos y cuando se ha enfriado un poco se vacían de 15 a 20 ml de agar en cajas de Petri previamente esterilizadas. Cuando el agar solidifica, se inocula una preparación de bacterias *Enterobacter aerogenes* inactivada. Las bacterias se obtienen cosechándolas a partir de cultivos puros en solución de agua destilada e inactivándola en baño de agua a 70 °C por 30 minutos.

En las placas con agar se siembra aproximadamente 0.5 ml de la solución de bacterias inactivadas la cual se distribuye homogéneamente por toda la superficie del medio con varilla acodada. Las placas de NNE se dejan reposar una hora aproximadamente y se guardan en el refrigerador hasta su uso (García, 2000).

## Glosario

1. **Acantamoebosis.-** Enfermedad subaguda o crónica capaz de producir encefalitis amibiana granulomatosa (EAG).
2. **Acantópodos.-** Seudópodos finos característicos del género *Acanthamoeba*.
3. **Acuífero.-** Material geológico que contiene y transmite agua subterránea en cantidad y calidad suficiente para abastecer a un usuario bajo un esquema de operación racional.
4. **Acuitardo.-** Formaciones geológicas semipermeables que, conteniendo agua en gran cantidad, la transmiten muy lentamente permitiendo un flujo muy lento de agua.
5. **Advección.-** Transporte del soluto a una velocidad equivalente a la del agua subterránea en movimiento.
6. **Agua recreacional.-** Donde se realizan actividades con fines culturales, deportivos y familiares.
7. **Agua residual.-** Que contiene desperdicios materiales en suspensión o solución de origen humano, animal o vegetal; también las provenientes de plantas industriales.
8. **Agua subterránea.-** Agua que fluye en el subsuelo.
9. **Amiba.-** Organismos microscópicos que se encuentran en agua o suelo y tienen forma que cambia continuamente por la formación de pseudópodos para la locomoción y captura de alimentos.
10. **Amiba de vida libre (AVL).-** Son protozoos cosmopolitas que habitan ambientes húmedos como el suelo y el agua, aunque también se pueden encontrar en el aire, vehículo que utilizan como medio de dispersión.
11. **Amiba limax.-** Amiba de una forma alargada característica de forma “babosa”.
12. **Amfotericina B.-** La amfotericina B es un antibiótico antifúngico de uso parenteral y oral obtenido por fermentación de *Streptomyces nodosus*, un actinomiceto del suelo. La amfotericina B está químicamente emparentada con la nistatina, siendo un antibiótico poliénico. La denominación de este antibiótico se debe a su propiedad amfóteras, debidas a la presencia de un grupo ácido y de un grupo amino, lo que permite que el producto sea relativamente soluble en agua.

13. **Anfizóicas.-** (gr. *amphi*, que significa “de ambos lados”) porque además de vivir en el ambiente pueden parasitar a otros organismos. Habilidad para vivir como organismos de vida libre y como endoparásitos.
14. **Bacteriófagos.-** Virus que infecta a la bacteria. Los bacteriófagos generalmente tienen cápsides complejos compuestos de una cabeza poliédrica, con ácido nucleico en el huésped.
15. **Biotopo.-** Espacio geográfico en el que vive un grupo de seres sometidos a condiciones relativamente constantes o cíclicas.
16. **Capa acuífera.-** Estrato del suelo que conduce el agua subterránea.
17. **Capa de retención.-** Estrato del suelo que se encuentra debajo que es impermeable se denomina capa de retención.
18. **Citopático.-** Relativo a cambios patológicos en las células o caracterizado por ellos.
19. **Contaminante.-** Un compuesto que a concentración suficientemente alta causa daños en la vida de los organismos.
20. **Dispersión.-** Extensión del frente de concentración de un soluto como resultado de la variación espacial de la permeabilidad del acuífero, la mezcla del fluido y la difusión molecular.
21. **Ecosistema.-** Unidad formada por todos los componentes vivientes e inanimados de una región que interactúan entre sí e intercambian material unos con otros.
22. **Ectoquiste.-** En un quiste representa la pared externa de forma esférica generalmente.
23. **Endoparásito.-** Parasito que invade el interior del huésped.
24. **Endoquiste.-** En un quiste representa la pared interna puede ser de estructura poliédrica o esférica.
25. **Enzima.-** Compuesto que cataliza las reacciones. Son proteínas que actúan en un determinado compuesto (el sustrato) para producir un complejo, el cual forma el producto de la reacción.
26. **Espacio subaracnoideo.-** Espacio entre la membrana aracnoidea media y la piamadre que rodea y protege al cerebro y la medula espinal en los vertebrados.
27. **Esterasas.-** Enzima que cataliza la hidrólisis de un éster en alcohol y ácido.
28. **Estrato.-** Masa mineral dispuesta en capa uniforme que constituye los terrenos sedimentarios.

29. **Flagelado.-** Clase de protozoarios provistos de flagelos (filamento móvil que sirve de organo locomotor a ciertos infusorios).
30. **Fosfatasas.-** Nombre de un conjunto de enzimas, del grupo de las hidrolasas y que existen prácticamente en todos los líquidos y tejidos del organismo.
31. **Fotofobia.-** Temor o reacción contraria a la luz.
32. **Hemiparesia.-** Se refiere a la debilidad motora de un brazo y una pierna del mismo lado del cuerpo, la cara puede o no estar débil.
33. **Herpes simplex.-** Grupo de infecciones agudas causadas por el virus del herpes simple tipo 1 ó 2.
34. **Heterótrofos.-** Organismos cuyo tipo de nutrición en el cual la principal fuente de carbono es orgánica, es decir que el organismo no puede elaborar sus propios requerimientos orgánicos a partir de las sustancias inorgánicas.
35. **Hidrogeológicas.-** Agua superficial. Agua depositada o que fluye sobre la superficie terrestre, en forma de lagos, reservorios, riachuelos o ríos.
36. **Hidrolasas.-** Enzima que cataliza la hidrólisis. Las hidrolasas desempeñan importante papel al convertir material no soluble en una forma soluble que puede ser transportada en forma de solución.
37. **In vitro.-** Literalmente "en vidrio". Se refiere a experimentos biológicos en el laboratorio y no en organismos vivos.
38. **Inmunosupresión.-** Estado en el que el sistema inmunológico no puede funcionar normalmente porque ya ha sido debilitado. Esto se puede deber a drogas o tratamientos médicos (quimioterapia) o a enfermedades (VIH).
39. **Linfocitos.-** Un tipo de leucocito de núcleo muy grande y rico en ADN con una pequeña cantidad de citoplasma transparente. Los linfocitos se fabrican en el tejido meloide dentro de la médula ósea, así como en los ganglios linfáticos, el timo, las amígdalas y el bazo.
40. **Líquido ceforraquídeo.-** Líquido de moléculas grandes y carentes de células sanguíneas que se encuentran en las cavidades internas y entre las membranas que rodean el sistema nervioso central.
41. **Lobópodos.-** Seudópodos gruesos, cortos y con extremos redondeados semejante a un dedo o lengua, ramificado algunas veces y su extremo distal esta redondeado típicamente. Se forma y retracta rápidamente, en su forma general son ocasionalmente cónicos. Su formación de debe a un flujo general del citoplasma siendo en algunos casos repentinos y eruptivos.

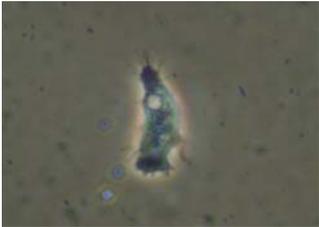
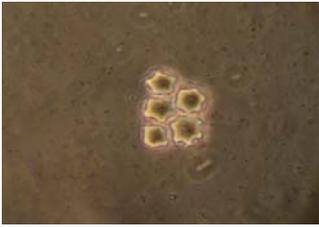
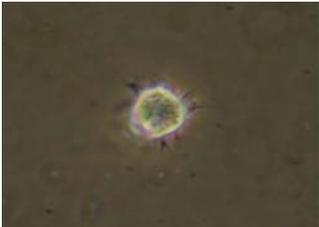
42. **Macrófagos.-** Célula grande fagocítica que puede englobar ingerir y destruir bacterias, células dañadas y eritrocitos gastados. Este proceso se llama fagocitosis y es parte importante de la defensa del organismo contra la enfermedad.
43. **Medio axénico.-** Cultivos en los que las amibas crecen sin asociación con bacterias o con otros protozoarios.
44. **Medio NNE.-** Medio Agar no Nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes*.
45. **Meningitis bacteriana.-** Se puede definir como un proceso inflamatorio producido por una infección bacteriana o viral que afecta a las meninges y al líquido cefalorraquídeo.
46. **Mesotérmico.-** Clima caracterizado por temperaturas moderadas, presenta una temperatura entre los 10° y 20°.
47. **Microbiología.-** Ciencia encargada del estudio de los microorganismos, seres vivos pequeños (de *mikros* "pequeño", *bios*, "vida" y *logos*, "estudio"), también conocidos como microbios. Es la rama de la biología dedicada a estudiar los organismos que son solo visibles a través del microscopio (virus, procariontes y eucariontes simples).
48. **Microbiota.-** Conjunto de microorganismos de un determinado hábitat.
49. **Microorganismo.-** Organismos microscópicos pertenecientes por regla general a virus, bacterias, algas, hongos o protozoos.
50. **Mitosis.-** (Cariocinesis). Proceso ordenado mediante el cual el núcleo y el citoplasma celulares se dividen en dos. Los cromosomas se duplican antes de la mitosis y luego se separan durante el proceso de tal manera que cada célula hija hereda un complemento genético idéntico al de la célula madre. Siendo un proceso continuo que se divide en cuatro fases: Profase, metafase, anafase y telofase.
51. **Naegleriosis.-** Infección aguda que afecta al sistema nervioso central (SNC) llamada Meningoencefalitis amebiana primaria (MEAP) (PAM)
52. **Neuroepitelio olfativo.-** Epitelio especializado que forma los elementos receptores de los órganos de los sentidos, como los conos y los bastones de la retina, el caracol o el vestíbulo nasal.
53. **Patógeno:** Productor o causante de enfermedad.
54. **Piriforme.-** De forma parecida a una pera.
55. **Post mortem.-** Después de la muerte. A menudo, se utiliza para describir una autopsia.

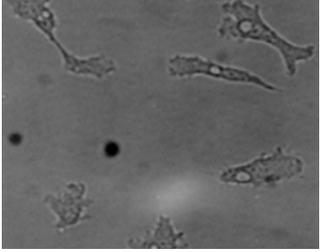
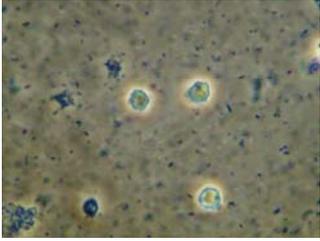
56. **Promitosis.**- Método de división nuclear coexistentes en amebas del grupo "Limax". Distingue los mecanismos nucleares eucarióticos de la división que no forman una metafase (común en muchos protistas) de los mecanismos eumitóticos con las cinco etapas típicas incluyendo la metafase.
57. **Protozooario.**- Organismos microscópicos unicelulares que tienen desde forma vegetal (*Euglena*, *Chlamydomona*) hasta miembros animales (*Amoeba*, *paramecium*), viven en ambientes acuáticos y terrestres húmedos. Algunos forman colonias (*Volvox*) y muchos son parásitos (*Plasmodium*). El filum se divide en rizópodos, mastigóforos o flagelados, cilióforos, esporozoos, basándose especialmente en el tipo de movimiento.
58. **Queratitis amibiana (QA).**- Inflamación crónica en la córnea que puede causar la pérdida del ojo, causada por amibas del género *Acanthamoeba*.
59. **Quiste.**- Forma de resistencia a sequías y falta de alimento, responsable de la transmisión de la infección. Los quistes de amibas de vida libre están constituidos principalmente de celulosa estructuradas a base de quitina.
60. **Seudópodos.**- Prolongación temporal semejante al de un dedo en el cuerpo de un protozoo rizópodo (amoeba). Se forma debido al movimiento de flujo de citoplasma y sirve para la locomoción y la alimentación.
61. **Termotolerantes.**- Organismos tolerantes a temperaturas por encima de los 30°C.
62. **Trofozoíto.**- Estado del ciclo de vida de las AVL de forma activa en la que se alimenta y reproduce.
63. **Uroide.**- Bulbo posterior que puede servir para acumular los productos de desecho, separándose periódicamente del resto de la célula.

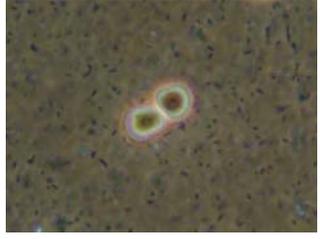
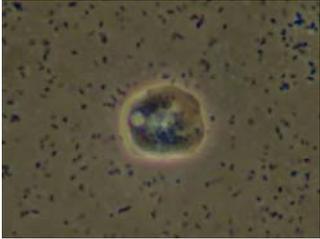
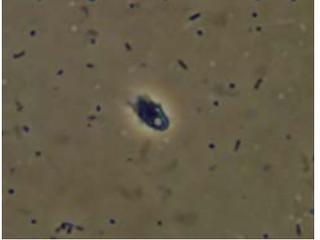
(John D, 1983; Iturbe y Silva, 1992; Bonilla, *et al* 2004;  
<http://www.solociencia.com/biologia/microbiologia-glosario; htm>; <http://www.cna.gob.mx>;  
<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a042.htm>;  
<http://www.ine.gob.mx/publicaciones/libros/440/cap3.html>)

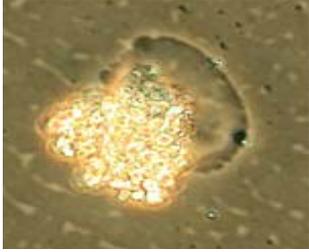
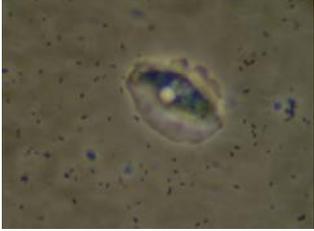
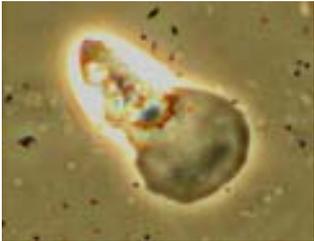
### Catálogo de AVL encontradas en ocho pozos estudiados.

Las imágenes de las AVL (*Acanthamoeba polyphaga*, *Acanthamoeba royreba*, *Echinamoeba silvestres*, *Guttulinopsis nivea*, *Hartmannella vermiformes*, *Naegleria sp*, *Platyamoeba placida*, *Rosculus ithacus*, *Vannella lata*, *Vexillifera bacillipedes*), fueron tomada en el laboratorio de microbiología acuática UIICSE (proyecto CyMA), con cámara digital Samsung S600, con microscopio óptico marca Zeiss y microscopio de contraste de fases a 400 aumentos marca Zeiss. Excepto *Echinamoeba silvestris* (Tomada de <http://protist.i.hosei.ac.jp/.../Mayorella.jpg>), *Thecamoeba corrugata* (Tomada de <http://133.25.19.145/taxonomy/Sarcodina/Lobosea/Gymnamoebia/Genus/Thecamoeba/index.html>), *Vannella cirrifera* y *Vannella platypodia* (Tomada de <http://amoeba.ifmo.ru/species>).

AMIBA DE VIDA LIBRE	DESCRIPCIÓN
<p data-bbox="261 942 548 974"><i>Acanthamoeba polyphaga</i></p>  	<p data-bbox="591 1020 1406 1077">Trofozoíto extendido con pseudópodos finos llamados acantópodos. Generalmente se puede apreciar la vacuola pulsátil y el núcleo.</p> <p data-bbox="591 1295 1406 1434">El quiste consiste de dos capas, el ectoquiste o pared externa y el endoquiste o pared interna, en los puntos donde se unen las dos capas se forman los poros por donde la amiba exquista. El endoquiste presentó forma pentagonal y se observó una separación visible entre las dos capas con un diámetro de promedio de 14 µm.</p>
<p data-bbox="274 1566 532 1598"><i>Acanthamoeba royreba</i></p> 	<p data-bbox="591 1642 1406 1724">El trofozoíto de esta especie se observa frecuentemente menos alargado que el de <i>A. polyphaga</i>, de forma circular a oval, mostrando acantópodos alrededor de toda la amiba.</p>

<p><i>Acanthamoeba royreba</i></p> 	<p>Es uno de los quistes más pequeños del género <i>Acanthamoeba</i>; endoquiste circular u oval, más o menos poligonal; ectoquiste débilmente visible, levemente ondulado, diámetro promedio del quiste 15 <math>\mu\text{m}</math>.</p>
<p><i>Echinamoeba silvestris</i></p> 	<p>Trofozoíto a menudo de contorno triangular, ensanchado o espátulado, frecuentemente se observa la vacuola pulsátil y el núcleo, con un longitud promedio de 11 <math>\mu\text{m}</math>.</p>
<p><i>Guttulinopsis nivea</i></p> 	<p>Trofozoíto pequeño comúnmente de 8-15 <math>\mu\text{m}</math> de longitud, frecuentemente presenta una forma circular a ovalada con emisión de delgadas proyecciones.</p>
<p><i>Hartmannella vermiformis</i></p>  	<p>Por su forma se considera una verdad amiba limax. Longitud de 12 a 37 <math>\mu\text{m}</math>, la relación de longitud y ancho del trofozoito va de 6 a 8.4. Presenta un lobópodo hialino anteroposterior que utiliza para su locomoción.</p> <p>Quiste esférico u ovoide presentan una capa hialina externa de la pared que se distingue levemente, diámetro promedio de 4.0 – 9.5 <math>\mu\text{m}</math>.</p>

<p><i>Mayorella cultura</i></p> 	<p>Trofozoito con una longitud de 20-30 <math>\mu\text{m}</math>, presenta uno o más pares de subseudopodios, de forma oscura, flotante.;</p>
<p><i>Naegleria sp</i></p>  	<p>Trofozoito de forma limax, generalmente de 12 a 18 <math>\mu\text{m}</math> de longitud, se observa frecuentemente un citoplasma vacuolado o granular y un gran núcleo central, claro y redondo con un nucleolo esférico prominente, su movimiento lo realiza a través de pseudópodos redondeados o lobópodos.</p> <p>Quiste de 8 a 12 <math>\mu\text{m}</math> de diámetro, la pared del quiste puede ser de contorno liso o angular, se aprecia separación entre las dos paredes del quiste presenta de uno a tres poros.</p>
<p><i>Platyamoeba placida</i></p> 	<p>Trofozoito de forma aplanada, generalmente ovalada en su contorno, a menudo ampliamente alargado, borde anterior arqueado o truncado; longitud de 15-35 <math>\mu\text{m}</math>.</p>
<p><i>Rosculus ithacus</i></p> 	<p>Amiba que presenta trofozoitos pequeños, generalmente presenta una forma semialargada, a veces espátulada o flabelada. De 13 a 19 <math>\mu\text{m}</math> de longitud con bordes irregulares.</p>

<p><i>Thecamoeba corrugata</i></p> 	<p>Trofozoíto de 30-40 <math>\mu\text{m}</math> de largo, presenta costillas o dobleces dorsales y un ancho pseudópodo anterior hialino, de forma más o menos ovalada.</p>
<p><i>Vannella cirrifera</i></p> 	<p>Trofozoíto generalmente flabelado raramente espátulado de 25-55 <math>\mu\text{m}</math> longitud.</p>
<p><i>Vannella lata</i></p> 	<p>La anchura del trofozoíto generalmente es mayor que su longitud de 24-46 <math>\mu\text{m}</math>, con una parte hialina que se extiende comúnmente alrededor de los lados.</p>
<p><i>Vannella platypodia</i></p> 	<p>Trofozoíto generalmente más largo que ancho, algunas veces espátulado, prolongado posteriormente. Longitud de 10-30 <math>\mu\text{m}</math>.</p>

*Vexillifera bacillipedes*



Trofozoíto de forma frecuentemente triangular con la parte anterior más o menos ancha, presenta varios subseudopodios no ramificados, longitud de 8-24  $\mu\text{m}$ .