

AMEBAS DE VIDA LIBRE EN MUESTRAS DE AGUA DE PISCINAS DEL DEPARTAMENTO DE LIMA

Beltrán de Estrada María¹ y Uyema T. Norma¹

RESUMEN

Las amebas de vida libre son numerosas y se encuentran en la naturaleza, en medios como: agua, suelos y vegetación. Los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Hartmannella* y *Vahlkampfia*, tienen importancia en salud pública, pues son oportunistas y afectan al hombre (enfermedad de los nadadores).

Del estudio de 68 muestras de agua en 34 piscinas, 3 zonas de un río y 7 estanques o lagunas, resultaron el 40,9% con amebas de vida libre tales como: *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Hartmannella* y *Vahlkampfia*. La virulencia de las amebas de vida libre fue estudiada en los animales de laboratorio por inoculación craneal, nasal y ocular. Los resultados obtenidos nos permiten recomendar y considerar el mantenimiento y tratamiento periódico y/o permanente de las piscinas con productos químicos, eficaces y eficientes sin que perjudiquen la salud humana.

Palabra Clave: Amebas vida libre

ABSTRACT

Free-living Amoebae (FLA) are abundant and they are found in nature as well as water, soil and vegetation. Genera *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Hartmannella* and *Vahlkampfia* are highly important to public health because they are opportunistic parasites that affect the human beings and cause the swimmers's disease.

A total of sixty eight water samples from 34 swimming pools, 3 rivers, 7 swamps or lagoons were studied with the following results: 40,9% of the samples had free living amoebae and they were *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Hartmannella* and *Vahlkampfia*. The pathogenicity of FLA was performed in laboratory animals trough brain, nasal and ocular inoculation. The use of efficient chemicals that do not involve any risk to human health is recommended for the periodical maintenance and treatment of swimming pools based on these results.

Key word: Free-living amoebae.

INTRODUCCION

Las amebas de vida libre (AVL), son numerosas y están ampliamente distribuidas en la naturaleza (agua, tierra, vegetación) los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Balamuthia* y *Vahlkampfia* son patógenas para el hombre. Las rutas de entrada al organismo son las mucosas nasales, oculares y dérmicas; la invasión

es selectiva como en los casos de *Naegleria* y *Acanthamoeba*, que ocurre por la depresión y/o resistencia disminuída del huésped¹⁴. Esto explica la presencia de *Acanthamoeba* en secreción faríngea de individuos aparentemente sanos.

Existen múltiples trabajos acerca de las AVL y han sido aisladas de secreción: nasal, pulmonar, nasofaríngea, lentes de contacto y en las heces. Nosotros aislamos de la secreción ocular y lavado de las manos del paciente infectado⁴ y en heces de cerdo.

¹ Laboratorio de Referencia de Enteroparásitos, División de Parasitología, Centro Nacional de Laboratorios de Salud Pública/Instituto Nacional de Salud, A.P. 451, Lima, Perú.

Fowler y Carter (1965) fueron los primeros en describir la infección fatal por amebas de vida libre en un australiano, debido a *Naegleria fowleri*.

La patogenicidad de las AVL fue demostrada con la *Acanthamoeba* que producía la muerte en animales de laboratorio ^{11,13}.

MATERIAL Y METODOS

Obtención de muestras de agua.-

Se obtuvieron 68 muestras de agua en 34 piscinas (privadas y de servicio público), 3 zonas del río Rimac y en 7 estanques o lagunas. Las 34 piscinas están ubicadas en diferentes distritos limeños: Ate, Jesús María, San Juan de Lurigancho, San Borja, Surco, Lince, Rimac, Los Olivos y de la Provincia del Callao, siendo algunas de éstas controladas por el Instituto Peruano del Deporte de la Provincia de Lima y Callao, de las cuales 15 funcionaron todo el año y 19 sólo durante los meses de verano.

Las muestras fueron obtenidas por la mañana, en el lugar de muestreo se anotó la temperatura y en el laboratorio se midió la cantidad y el pH. Las muestras de agua se obtuvieron en frascos estériles con tapa y boca ancha, del fondo y de la superficie de las piscinas.

En este estudio se tuvo en cuenta el tipo de construcción, sistema de circulación y recirculación de agua, el uso de filtros y desinfectantes.

Medios de cultivo.-

Se emplearon 3 medios de cultivos sólidos: Malt Yeast Extract Agar (MYAS) empleado por Page ²⁵, medio de agar empleado por Visvesvara y Balamuth ^{25,26}, y el medio extracto de carne empleado por Musgrave y Clegg ²⁸.

Técnica de coloración.-

El colorante para amebas fueron colorantes vitales y Hematoxilina férrica de Heidenhain.

Prueba de virulencia.-

Se emplearon ratones albinos *Mus musculus* de 8 a 12 gramos de peso para la prueba de la patogenicidad que siguió la metodología de Culberston ¹¹, Callicot ⁶ y Andujar ¹.

RESULTADOS

El examen parasitológico de 68 muestras de agua de 34 piscinas, 3 puntos del río Rimac y 7 lagunas procedentes de los Distritos de la

Provincia de Lima y Callao, . En el estudio del análisis macroscópico, se tuvo en cuenta: cantidad, turbidez, acidez, el pH fluctuó de 3 a 7 predominando 5,5 a 6,5

El análisis microscópico se hizo con la aplicación de los métodos: directo, filtración y concentración por centrifugación, e inoculación en medios de cultivo, se mantuvo a 37°C por 5-12 días que se realizó la primera lectura utilizando colorantes vitales, se resembró y así se continuó con el mantenimiento a 37°C.

La infraestructura de las piscinas estudiadas fueron: 32; de mayólica de color blanco 18, de color celeste 14 y sólo 2 fueron de cemento pulido. Los filtros de estas piscinas fueron de grava y los desinfectantes que emplearon fue hipoclorito de sodio y/o cloro gas. Las dimensiones consideradas fueron: grande, mediana y pequeña. (Tabla 1)

Tabla 1. Número, porcentaje, dimensión de las piscinas estudiadas.

	Dimensiones (Metros)	Total	
		Nº	%
Piscina			
Grande	50 x 25 x 1.50 m	4	9,1
Mediana	25 x 20 x 1.30 m	23	52,3
Pequeña	20 x 12 x 1.20 m	7	15,9
Río		3	6,8
Laguna (Estanque)		7	15,9
Total		44	100,00

El estudio morfológico y citológico de las amebas de vida libre aisladas se hizo mediante la Clasificación de las AVL según Page ²⁵

El 40,9 (18) de las muestras fueron positivas a AVL y de ellas (34,1) 15 fueron de, piscinas, predominando las de tamaño mediano con 22,7% y 6,8 % correspondiendo al río y 15,9% a estanque. (Tabla 2)

Tabla 2. Cuerpos de agua contaminados con amebas de vida libre en Lima.

	Nº Total	Positivas		Negativas	
		Nº	%	Nº	%
Piscina					
Grande	4	0	0	4	9,1
Mediana	23	10	22,7	13	29,6
Pequeña	7	5	11,4	2	4,5
Río	3	1	2,3	2	4,5
Estanque (laguna)	7	2	4,5	5	11,4
Total	44	18	40,9	26	59,1

Todas las cepas de AVL aisladas, fueron observadas y cinco se seleccionaron para la inoculación en animales de laboratorio. En los casos que se presentaban en su forma quística se realizó el proceso de desenquistamiento. Foto. 3

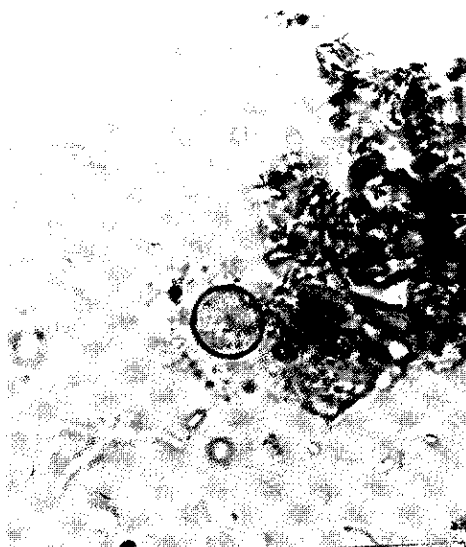


Foto 1: Quiste membrana gruesa forma redondeada

Los resultados de la prueba de la prueba de virulencia son mostrados en la Tabla 3.

De los ratones inoculados se recuperaron seis cepas de amebas, 5 (13,1%) del tejido cerebral y 1 (2,7%) del ojo. La diferenciación se llevó a cabo por las características culturales morfológicas y citológicas del material fresco, fijado y coloreado con Hematoxilina férrica de Heidenhain^{3,4}

Tabla 3. Inoculación de muestras conteniendo amebas de vida libre en ratones albinos

Via	Ratones inoculados	Cepas recuperadas
Nasa	21	3
Craneal	10	2
Ocular	5	1
Total	36	6

Los géneros determinados fueron *Naegleria* (1), *Acanthamoeba* (3), *Hartmannella* (1) y *Vahlkampfia* (1).

DISCUSION

Las infecciones producidas por AVL son consideradas como enfermedad de los nadadores, porque la mayoría de los casos estudiados se han encontrado en personas que se bañaron en piscinas, río o en algún momento estaban en contacto con el agua. Debido a la diversidad de forma (polimorfismo) Fotos 1,2, 3.

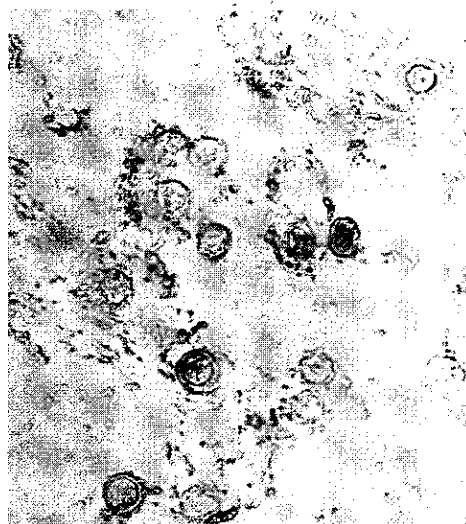


Foto 2: Quiste de forma poligonal



Foto 3: Amebas en proceso de desenquistamiento

Las formas trofozoíticas se inocularon en ratones, produjeron alteraciones hasta la muerte en algunos casos; la patogenicidad depende del tiempo del cultivo, tamaño del inóculo y la susceptibilidad del huésped^{8,15,16}

Hasta 1995 no se conoció en el Perú publicación alguna de lesiones oculares (conjuntiva), córnea, producidas por amebas de vida libre, nosotros lo aislamos de un paciente procedente de Piura⁵. En otros países, además de las infecciones oculares^{20,21} refieren *Acanthamoeba* en la vagina²³. Es necesario mayor consideración en esta patología.

Las amebas de vida libre (AVL) se desarrollan en reservorios acuáticos naturales o artificiales^{29,13,17} así como suelos húmedos¹³. De allí el riesgo de contaminación y requiere la exploración de otras áreas u otros habitats diferentes a los estudiados.

En este estudio que incluye 68 muestras del departamento de Lima, 40% resultaron contaminadas con amebas de vida libre de los géneros: *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Hartmannella* y *Vahlkampfia*, predominando las formas de la familia Acanthamoebidae.

Las cepas de amebas de vida libre aisladas e inoculadas en los animales de laboratorio

demonstraron la virulencia en los ratones inoculados por vía craneal, ocular e instilación nasal.

Asimismo las piscinas que tienen mayor demanda de atención al público fueron las más contaminadas, probablemente por presentar materia orgánica, que permite mayor desarrollo y multiplicación de las AVL y por lo tanto mayor riesgo de contaminación a las personas por ello es recomendable que los cambios de filtros, sistemas de circulación y recirculación de agua deben ser en forma regular y permanente. Las AVL encontradas en los estanques o lagunas nos indican el riesgo de contaminar al público más aún conociendo que los niños con limitados recursos se bañan en estos lugares.

Es recomendable efectuar el tratamiento permanente de las piscinas con hipoclorito de sodio, cloro gas u otros productos químicos eficaces y eficientes sin perjuicio de la salud humana.

Es importante e imprescindible el control biológico de los cuerpos de agua. El saneamiento básico debe tener en cuenta el estudio de los parásitos y protozoarios contaminantes (rotíferos, ciliados, levaduras y ácaros etc). En el control sanitario se debe incorporar a las amebas de vida libre.

BIBLIOGRAFIA

- Andujar J.J. Pathogenic Nonentamebic Amebae (Hartmannella amebae). Pathology of Protozoal and Helminthic diseases. Ed. R. Marcial R.M. 1975:139-44
- Ariza AC, Guevara BDC, Ubeda OM, Campos BC. Aislamiento de *Filamoeba nolandii* (Page 1967) en una piscina de Sevilla. Rev Iber Parasitol 1988;48(2):127-31.
- Beltrán de EM y Uyema N. Amebas de Vida Libre que producen meningoencefalitis en muestras de agua en Lima. Cong. Microb. y Parasitol. 1987. Libro de Resúmenes:129.
- Beltrán de EM y Tello CR. Amebas de Vida Libre. Aislamiento y patogenicidad. II Cong Per Parasit 1995. Libro de Resúmenes: 21
- Beltrán de EM, Alva V y Fiestas R. Amebas de Vida Libre (AVL) en la Ciudad de Piura. Bol INS 1996;1(1):8.
- Callicott JN. Amebic Meningoencephalitis due to Free Living Amebas of the Hartmannella (Acanthamoeba) Naegleria Group. Am J Clin Pathol, 1968;49 (1): 84-91.
- Campos R, De Oliveira C, Sebastião PL, Stecca. Meningoencefalitis por amebas de vida livre apresentação do primeiro caso Latinoamericano. Rev Inst Med Trop. Sao Paulo, 1977;19(5): 349-51.
- Carter RF. Primary amoebic Meningo-encephalitis. Clinical Pathological and Epidemiological Features of Mix fatal Cases. J Path Bact, 1968; 96(1):1-27.
- Carter R F. Description of *Naegleria* sp. Isolated from two cases of Primary Amoebic Meningoencephalitis, and of the experimental Pathological Changes induced by it. J Path 1970;100: 217-45.
- Castro CM, Fernández A, Paniagua C. Penas Ares E. Patogenicidad Experimental de *Acanthamoeba polyphaga*. Estudio de la influencia de la Tetraciclina. Rev Iber. Parasitol 1988;8(1): 1-5.
- Culbertson C, Smith J, Minner J. *Acanthamoeba* observations on Animal Pathogenicity. Science, 1958;127:1506.
- Culbertson C. Pathogenic *Acanthamoeba* (Hartmannella) Am J Clin Path 1961;35(3): 195-202.
- Culbertson C. The pathogenicity of Soil Amebas. Annual Rev Microbiol 1971;25: 231-54.
- Coronado G y Lopez OE. Análisis Pro-tozoológico de Diaz Piscinas localizadas en el Distrito Federal y en el Estado de Morelos México. Rev Latinoam Microbiol 1980; 22:157-60.
- Duma R, P.A.C.P., Warren B and Martins J. Meningoencephalitis and Brain abscess due to a FreeLiving Amoeba. An Internal Med 1978; 88: 468-73.

16. Ferrante A. Free Living Amoebae; pathogenicity and immunity. *Parasite Immunol* 1991; 13: 31-47.
17. Gonzales de la Cuesta N, Arias F M, Panagua C y Martínez MM. Presencia de Amebas de Vida Libre en Aguas de Piscinas de Galicia (España) *Rev.iber.Parasitol.* 1987;47(3): 207-10.
18. Gottlieb B y Warner APT. Meningoencefalitis Amebiana Primaria. In *Parasitología 2ª Ed.* 1984:264-67.
19. Gotuzo E, Cabrera J, Campos P, Chaparro E, Bravo F, Delgado W, Velarde C y Visvesvara G. *Balamuthia mandrillaris*: Una nueva Ameba de Vida Libre con pronóstico grave acerca de una serie de 23 pacientes. Libro de Resúmenes del IV Cong Per Enf inf y Trop. 1995; 1133.
20. MMWR. CDC. Primary Amebic Meningo encephalitis California Florida. New York, 1987;27 (37)
21. MMWR. CDC. *Acanthamoeba keratitis* in. Soft Contact-lens wearers.1987;36(25):397-404.
22. Muñoz V. y et al. Amibas de Vida Libre en habitats de Aguas Dulces de Chile. 1986. 147-152.
23. OPS *Acanthamoebiasis* ocular, cutánea y vaginal. in: El control de las Enfermedades Transmisibles en el hombre. Dec. 3ª Ed.1983: 289.
24. Page F. Taxonomic Criteria for *Limax* Amoebae, with description of 3 species of *Hartmannella* and 3 of *Vahlkampffia*. *J.Protozool.* 1967;14(3): 499-521.
25. Page F. An illustrated Key to Freshwater and soil Amoebae. Scientific Publication Nº 1976;34:1-155.
26. Visvesvara G and Balamuth W. Comparative studies on related Free Living, and Pathogenic Amoebae with special reference to *Acanthamoeba* *J.Protozool.*1975;22(2): 245-56.
27. Visvesvara G. Pathogenic and Opportunistic Free Living Amoebae. . in: *Manual of Clinical Microbiology*.Sixth Ed.1995; 1196-1203.
28. Kudo R. *Protozoarios 1980*; Colección, cultivo y observación de protozoos pp. 50-51,874-852. 6ta. impresión Co. Editorial Continental, S.A. Mexico.