

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN – León
Facultad de Ciencias
Departamento de Biología



Título

Prevalencia de amebas de vida libre en aguas de uso domestico en la comunidad de Troilo y su relación con bacterias patógenas que causan enfermedades al hombre.

Tesis previa para optar al titulo de licenciado en Biología

Presentado por:

Br. Eduardo Salomón Toval Hernández.

Br. Carlos Antonio Rubio López.

Br. Rommel Trinidad Espinoza Berrios.

Tutor

Msc. Byron Leyva.

Facultad de Ciencias Médicas.

Departamento de microbiología y parasitología.

Asesor:

Msc. Octavio Guevara.

Facultad de Ciencias.

Departamento de Biología.

León, Nicaragua 2003



Índice

I- Agradecimiento	
II- Dedicatoria	
III- Introducción.....	1
IV- Objetivos	4
4.1- Objetivo general	4
4.2- Objetivos específicos.....	4
V- Marco teórico.....	5
5.1- Biología de las amebas.....	7
5.1.1- Patología	8
5.1.2- Infección por <i>Acanthamoeba</i> y <i>Naegleria</i>	9
5.1.3- Comparación morfológica entre amebas patógenas de vida libre.....	10
5.2- Morfología, biología, y ciclo vital de <i>Naegleria</i>	11
5.2.1- Epidemiología	12
5.2.2- Patogénesis, anatomía patológica y sintomatología.....	13
5.2.3- Agente causal	13
5.2.4- Localización en el huésped.....	13
5.2.5- Aspecto clínico.....	13
5.2.6- Diagnostico.....	14
5.2.7- Cultivo.....	15
5.2.8- Tratamiento.....	15
5.2.9- Pronostico	15
5.2.10- Profilaxis.....	16
5.3- Morfología, biología, y ciclo vital de <i>Acanthamoeba</i>	17
5.3.1- Epidemiología	18
5.3.2- Patogénesis, anatomía patológica y sintomatología.....	18
5.3.3- Agente causal	19
5.3.4- Localización en el huésped.....	19
5.3.5- Aspecto clínico.....	19
5.3.6- Diagnostico.....	20
5.3.7- Cultivo.....	20
5.3.8- Tratamiento.....	21
5.3.9- Pronostico	21
5.3.10- Profilaxis.....	22
5.4- Bacterias.....	23
5.4.1- <i>Shigella spp.</i>	25
5.4.2- Transmisión y epidemiología.....	25
5.4.3- <i>Salmonella spp.</i>	26
5.4.4- <i>Helicobacter Pylori.</i>	26
5.4.5- <i>Legionella spp.</i>	28
VI- Material y método.....	31
VII- Resultados.....	35
VIII- Discusión.....	37



IX- Conclusión	39
X- Recomendación.....	40
XI- Bibliografía.....	41
XII- Anexo.....	42



I- Agradecimiento

Le agradecemos a nuestro tutor Msc. Byron Leiva por guiarnos y confiar de nosotros y sobre todo por regalarnos su valioso conocimiento.

Agradecemos a nuestros padres por brindarnos su apoyo y confianza.

Agradecemos a nuestro asesor Msc. Octavio Guevara por sus oportunas sugerencias y transmitir sus experiencias acumuladas por la buena culminación de nuestro estudio.

A Brenda Mora por dedicarnos todo el tiempo necesario.

A José Ángel por acompañarnos a la recolección de las muestras.

A todos los que nos ofrecieron su ayuda.



II- DEDICATORIA



Dedicatoria

A Dios, a quien debo mi existencia e ilumino mis pasos durante todo el tiempo de estudio e investigación.

A mis padres, Armando Toval y Juana Hernández quienes con su amor y apoyo incondicional hicieron posible la culminación de mis estudios y mi desarrollo profesional.

A mi esposa e hijo, por estar siempre a mi lado apoyándome y dándome su amor siempre entre tantas limitaciones para poder alcanzar mi meta propuesta.

A todos mis amigos, por compartir juntos mis grandes momentos y por hacerme saber que siempre puedo contar con ellos.

Eduardo Toval



Dedicatoria

A Dios, por haberme ayudado a finalizar mi carrera y seguir siempre adelante con paso firme.

A mis padres, Carlos Ernesto Rubio Guido y Maria Mercedes López Montes quienes con su amor y apoyo incondicional hicieron posible la culminación de mis estudios y mi desarrollo profesional.

A todos mis amigos, por compartir juntos mis buenos momentos y por la ayuda que me brindaron, a mis **hermanas y sobrinos** a todos ellos les dedico este trabajo.

Carlos Rubio



Dedicatoria

A Dios, por darme el privilegio de estar vivo y darme fuerzas para seguir adelante.

A mi madre, por su amor, cariño y apoyo incondicional: porque siempre entre tantas limitaciones supo apoyarme y darme lo necesario para poder alcanzar lo que soy.

A mi padre, que tanto me ayudo y brindo su apoyo para que yo llegara a ser lo que soy.

A mi abuela y tíos por darme su apoyo y ayuda en los momentos mas difíciles, les dedico con mucho cariño este trabajo.

A mi primo JORGE ISAAC BERRIOS, por brindarme su apoyo.

A mis amigos FERNANDO MORA, ADILZA ARAUZ, WALLTER VALLADARES, CARLOS RUBIO, EDUARDO TOVAL, JOSÉ MIGUEL CHAVARRIA, por compartir juntos mis grandes momentos y por hacerme saber que siempre puedo contar con ellos.

A todos les dedico la culminación de este trabajo (Sinceramente muchas gracias, sin el apoyo de ustedes no hubiera sido posible).

.

Rommel Espinoza



III- INTRODUCCIÓN

Las amebas de vida libre, se encuentran en agua dulce y océanos. Muchos miembros de este grupo carecen de forma corporal definida, su célula única cambia de forma a medida que se desplaza, estos organismos se reproducen por vía asexual, por división sexual y no se ha observado que experimenten reproducción sexual.(2)

Las amebas de vida libre son un ejemplo peculiar del Phylum *Rhizopoda*, avanza adelantando proyecciones citoplasmáticas temporales llamadas pseudópodos (falsos pies) desde la superficie celular. Transfieren mas citoplasma a los pseudópodos los cuales aumentan de tamaño hasta que contienen todo el citoplasma; de este modo se desplaza el micro-organismo completo, también se utilizan pseudópodos para rodear y capturar alimento. Una vacuola digestiva envuelve y digiere la partícula de alimento utilizando enzimas digestivas aportada por el lisosoma. Los materiales digeridos son absorbidos desde la vacuola digestiva, que de manera gradual se encoge a medida que se vacía. Entre las amebas parásitas se incluye *Entamoeba histolytica* que causa disentería amebiana grave en el ser humano.(2)

Las amebas pertenecen a la súper Clase Sarcodina y se caracterizan por poseer un citoplasma en el cual se observa fácilmente el ectoplasma hialino, el endoplasma granuloso y el núcleo de aspecto granuloso. Según la especie se movilizan mediante pseudópodo que son extensiones en unos o varios punto del ectoplasma hacia los cuales se desplaza ulteriormente todo la célula.(8)

Se han implicado a las amebas de vida libre del suelo *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba castellani* y especies de *Hartmanella*, la mayor parte de los casos se han desarrollado en niños que habían estado nadando en albercas tibias contaminadas con tierra ya sea cubiertas o por lo general al aire libre. Las amebas pueden cultivarse fácilmente en placas de agar nutritivo sembradas con *E. coli*. Las amebas principalmente *N. fowleri* entran por la nariz y la capa cribiforme del etmoide pasando de forma directa al tejido cerebral.(6)



Las amebas de vidas libres representan un grupo heterogéneo de protozoos, están comúnmente presentes en el ambiente de vida acuática. Estas son predatoras que tienen una capacidad de controlar la población bacteriana.(8)

Las amebas de vida libre son ampliamente reconocida por su resistencia a las diferentes condiciones adversas al medio ambiente como. Temperatura, pH, rayos ultravioletas, desecación y desinfectante como el cloro.(9)

Las amebas son organismos altamente adaptables y diversos, estos organismos por lo tanto pueden ser encontrados en todos los ambientes ya sea terrestre o acuático de agua dulces, salobres o marinas, y ambientes temporáneos o permanentes. Para cada tipo de ambiente y en función de los recursos que ofrece cada uno han desarrollado diversas estrategias que le permiten adaptarse y desarrollarse. Estas estrategias de adaptación se efectuaron en distintos planos relacionados a distintos factores como por ejemplo: la osmorregulación, la temperatura, la disponibilidad del alimento y el hábitat en que se encuentra.

Las amebas de vida libre se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza siendo varias las especies que se han aislado del ambiente; tierra, aire, agua tratadas con cloro, agua de mar, lagos, etc. Entre las que tienen capacidad patógena para el hombre se encuentran amebas que afectan el sistema nervioso central que corresponden a los géneros de *Naegleria spp*, *Acanthamoeba spp* y *Balamuthia spp*, últimamente se han descrito dos géneros mas con capacidad patógena y los géneros son *Vahlkampfia*, *Llartmannella*. (14)

Las amebas son parásitas que se dividen constantemente por bipartición. Los brotes epidémicos de amebiasis no son frecuentes de todos los informes que sobre ellas se ha reunidos se deduce que se deben casi siempre a la contaminación del agua o a la transmisión por medio de la mosca.



Entre el grupo de amebas de vida libre hay también especies patógenas conocidas que invaden a pacientes inmunodeprimidos. Las especies que se identificaron en los tejidos humanos fueron *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* y *Cybertsoni*, estos son parásitos facultativo en el hombre.

La meningoencefalitis amebiana primaria es causada por amebas que viven libre en la naturaleza del genero *Naegleria* o *Acanthamoeba*, la primera afecta mas a menudo a niños y adultos jóvenes y se adquiere al nadar en agua dulce, termales siendo mortal; las infecciones por *Acanthamoeba* afecta a individuos adultos inmunodeprimidos. Las amebas libres son ubicuas y se encuentran frecuentemente en al suelo y agua. Aunque en general se les considera inofensivas, alguna variedades son claramente patógena y afectan el sistema nervioso central de los mamíferos. En el caso de meningoencefalitis humana donde el microorganismo responsable han podido ser aislado y cultivado, como un ameboflagelado *Naegleria fowleri*.(5)

Las amebas de vida libre se encuentran normalmente en ríos, estanques, pozos, normalmente son inocuas y no producen ningún daño, solo en ciertas condiciones del individuo, recientemente se ha visto que estas amebas sirven como vector para diferentes tipos de bacterias causantes de enfermedades, tales como infecciones intestinales y respiratorias, es por eso que decidimos realizar este trabajo, para conocer la situación de estas amebas en nuestro medio y principalmente, en esta comunidad rural.



IV- OBJETIVOS

4.1- OBJETIVO GENERAL

➤ Determinar la prevalencia de amebas de vida libre en los depósitos de aguas para uso doméstico, pozo y filtro en los sectores 1 y 2 de la comunidad de Troilo.

4.2- OBJETIVOS ESPECIFICOS

➤ Identificar la presencia de ameba de vida libre que se encuentran en los depósitos de agua de uso doméstico filtrada y no filtrada.

➤ Comparar la existencia de amebas entre agua de pozo y agua de filtro.

➤ Estudiar la relación de amebas de vida libre con bacterias patógenas que pueden provocar enfermedades al hombre.



VI- MARCO TEORICO

Antes del documento de Culbertsoni en 1950 en ese entonces se consideraban a las amebas de vida libre como saprofitas. Fowleri en 1965 en Australia publico el primer caso de infección del sistema nervioso por amebas de vida libres, posteriormente se informaron casos en Estados Unidos, Chescolovaquia, Hungría y Maruecos.(10)

A finales de los años 60, se establecieron diferencias entre los géneros *Naegleria* y *Acanthamoeba*; algunos investigadores propusieron el termino Anfizoica para estas amebas por su capacidad de alimentarse tanto en vida Escozoica (vida libre) como Endozoica (dentro de un animal).(8)

En el año de 1981 se aisló por primera vez en Chile la sp. *Acanthamoeba polestinensis*, y en 1993 se aisló el primer caso de ameba de vida libre en nuestro país, en una paciente usuaria de lentes de contacto y correspondió a la *Acanthamoeba polyphaga* (confirmada en el CDC), hasta Junio de 1999 se habían diagnosticado mas de 20 casos.(14)

El genero *Naegleria* esta considerado dentro del grupo de amebas de vidas libre, su distribución es mundial encontrándose frecuentemente en cuerpos de agua dulce como: lagos, lagunas, estanques, piscinas y canales de riego.(13)

La *Naegleria Fowleri* fue la primera ameba de vida libre con capacidad patógena aislada, provoca una meningoencefalitis amebiana primaria (PAM), que es una enfermedad de curso fatal que ocurre de preferencia en los meses de verano. Se describió el primer caso de queratitis por *Acanthamoeba spp* en 1973 en un paciente con trauma ocular y exposición ha aguas contaminadas. En 1981 se reconoció la asociación entre queratitis causada por *Acanthamoeba* y el uso de lentes de contacto.(14)

La Acanthamebiasis es producida por varias amebas de vida libre perteneciente al genero *Acanthamoeba*, su distribución es mundial se encuentra frecuentemente en agua dulce y marinas, así como en suelo, polvo, filtro de aire y ductos de enfriamiento. Su importancia



como patógeno se inicia en 1983 al informarse en Estados Unidos de 20 casos de encefalitis amibiana granulomatosa (EAG).(15)

El contacto con aguas estancadas y que estan contaminadas por protozitas de vida libre sobre todo de la mucosa nasal, es un riesgo importante para adquirir Naegleriasis o Acanthamibiasis. Los síntomas se observan después de varias semanas o meses después del contacto con aguas estancadas.(15)

Las especies que se identificaron con mayor frecuencia en los tejidos humanos son *Naegleria fowleri* y *Acanthamoeba cultbersoni* aislados en Australia en 1970 por Carther y colaboradores en secciones histicas de monos y ratones experimentales.(11)

Sin embargo las infecciones humanas por amebas de este tipo fueron descubierta por primera vez, por Fowler Carther quienes en 1955 conocieron cuatro casos fatales en Australia, en el siguiente año comunicaron cuatro casos en Estados Unidos, uno en el condado de Texas y tres en el estado de Florida el cual se le denomino Meningoencefalitis Amebiana primaria.

Se ha realizado un estudio de amebas de vida libre en diferentes lugares del Departamento de León en el Municipio de San Jacinto y en los territorios de Sutiava, Mantica, Perla María Norori. Este estudio se realizo anteriormente por estudiantes de la facultad de medicina de la UNAN-LEON en el año 2000. Tomaron muestras en diferentes depósitos de agua como son: pozo, grifo, agua potable, río, almacenada y piscina, encontrando amebas del tipo *Naegleria*, *Acanthamoeba* y *Hartmanella* y los tipos de bacterias que se encontraron dentro de estas fueron *Legionella*, *Pseudomona*, *H. Pylori* y *Klebsiella*.



5.1- Biología de las amebas de vida libre

Las amebas de vida libre forman un grupo de protozoos aeróbicos de distribución universal. Sus formas trofozoíticas constituyen una fauna normal de las aguas frescas y naturales, donde se reproducen en abundancia y se alimentan fagocitando bacterias, hongos y materias orgánicas. Se les ha descrito en aguas dulces, alcantarillados y lodo, *Acanthamoeba* también se ha encontrado en aguas saladas.(8)

Los trofozoitos son frágiles y soportan corto tiempo la desecación de su medio natural, pero los quistes son más resistentes y persisten en el polvo seco, desde donde puede ser transportados de otros sitios por corrientes de aire. Los trofozoitos tienen un solo núcleo con un cariosoma central grande, redondo, denso y rodeado de un halo nuclear grande. De esta la especie patógena del hombre es la *Naegleria sp*: la *Naegleria fowleri* (pues *N. australiensis*, que es patógena para el ratón, no se ha asociado aun a patología humana), en cambio son potencialmente patógenas varias especies de *Acanthamoeba*: *A. culbertsoni*, *A. castellanii*, *A. polyphaga* y *A. astronyxis*.(8)

La distinción entre estas especies pueden realizarse por algunos elementos morfológicos. La *Naegleria* es una ameba flagelada con un flagelo temporal que le permite movilizarse rápidamente. En tanto *Acanthamoeba* como *Naegleria* tienen un quiste relativamente resistente. *Acanthamoeba* posee quistes que pueden sobrevivir por algunos años y pueden ser aislados del polvo y del aire.(8)

Los trofozoitos de *Naegleria* tienen un pseudopodio buloso y se movilizan rápidamente en diferentes direcciones (dos veces el largo de su cuerpo por minuto). El núcleo tiene un nucleolo ribonucleoproteico y ADN periférico. *Acanthamoeba* tiene acantopodio y se moviliza lentamente en una dirección y su estructura nuclear es similar a *Naegleria*.(8)



Acanthamoeba se divide por mitosis convencional, pero en *Naegleria* el núcleo es retenido y se divide por sí solo durante la división, y la membrana nuclear se mantiene intacta durante casi todo el proceso.(8)

5.1.1- Patología.

Hasta hace pocos años se aceptaba que la única ameba con la capacidad patógena en el huésped humano era *Entamoeba histolytica*. Se pensaba, asimismo, que las amebas de vida libre, ampliamente distribuida en la naturaleza, carecían de efecto patógeno para el hombre y los animales. Estos conceptos comenzaron a cambiar en 1959, a raíz de la demostración hecha por Culberston respecto a que las amebas de vida libre eran patógenas para los animales de laboratorio. En 1965, Fowler y Carter, en Australia, y Butt, en los Estados Unidos describieron los primeros casos humanos.

Butt lo denominó Meningoencefalitis amebiana primaria (PAM) para diferenciarla del compromiso meníngeo producido por *E. histolytica*, que siempre es secundario a otra lesión intestinal o extraintestinal.(8)

Se ha demostrado que las amebas de vida libre son capaces de producir patología en los animales de laboratorio cuando se las inoculan por vía nasal, endovenosa, intramuscular, e intracerebral. En cambio, no se ha logrado infección ni por vía digestiva ni por vía intraperitoneal. Por lo tanto, son parásitos intestinales, ni podrían serlo pues los trofozoitos son sensibles a la acción de los bilis. La vía de infección para *Naegleria* son las fosas nasales, como ha sido demostrado en estudios experimentales y por medio de autopsia, lo que ha permitido suponer que la infección se da al bañarse en aguas contaminadas. La inhalación de tierras que contienen quistes podrían implicar la presencia de *Acanthamoeba* en la secreción faríngea de individuos sanos, especialmente en los menores de 5 años. *Acanthamoeba spp* ha sido aislada del aire, de descarga nasal, descarga óptica purulenta y de lesiones conjuntivales y úlceras corneales de difícil manejo clínico.(8)



5.1.2- Infecciones por *Naegleria* y *Acanthamoeba*

Son amebas de vida libre que se encuentran en el suelo y en el agua. En muchas partes del mundo se han registrado infecciones humanas, adquirida durante la natación. La infección por *Naegleria* parece ser mas común que la debida a *Acanthamoeba*. Las especies implicadas son la *Naegleria fowleri* (sin *N. Aerobia*) y la *Acanthamoeba castellani* (sin *H. Culbertsoni*). Las amebas invaden el cerebro a través de la cavidad nasal, penetrando por la lamina cribiforme del hueso etmoide. Clínicamente se describe la enfermedad “meningoencefalitis primaria” por estar afectado principalmente el sistema nervioso central, a diferencia de las infecciones por *Entamoeba histolytica* en las cuales el compromiso encefálico es, por lo general, secundario.



5.1.3- Comparación morfológica entre amebas patógenas de vida libre

Naegleria

Acanthamoeba

-
- 1-Tamaño del trofozoito de 10-15 u
 - 2-El trofozoito muestra pseudopodios anchos y buloso.
 - 3-Motilidad activa.
 - 4-Forma etapa flagelada.
 - 5-Tamaño del quiste de 7-15 u con paredes finas, esféricos.
 - 6-Las paredes del quiste no tienen poros.
 - 7-No se enquistan en tejidos.
 - 8-Membrana nuclear intacta durante la división.
 - 9-Se encuentran en piscinas sin o poco cloro, lagos artificiales y piscinas temperada.

- 2-El trofozoito muestra pseudopodios filamentosos y unidireccionales.
- 3-Motilidad lenta.
- 4- No forma etapa flagelada.
- 5-Tamaño del quiste de 7-15 u con pares doble, estrellados.
- 6-Las paredes del quiste puede tener poros u ostiolas.
- 7-Pueden enquistarse en tejidos.
- 8-Membrana nuclear se disuelve mediante la división.
- 9-Se encuentra en el aire, mucosa nasal, orofaríngea, secreción ótica purulenta y úlceras corneales.

- 1-Tamaño del trofozoito de 25- 15 u
-



5.2- Morfología, Biología y ciclo vital de la *Naegleria*.

La fase del ciclo vital de *Naegleria* son Trofozoitos móviles, quistes resistentes y móviles. La reproducción es por fusión binaria simple y los trofozoitos pueden colonizar en el agua o en la tierra, húmeda y en cultivo de tejido y otros medios artificiales. Los trofozoitos tienen dos formas: ameboides y flagelados; cuando se mueve la forma ameboide es alargada, ancha por delante y con un extremo posterior claramente rombo y forma un solo pseudópodo de ectoplasma claro en el extremo anterior.(3)

El trofozoo es alargado, mide de 15 a 30 micrómetro de diámetro y carece de cromatina periférica. El cariosoma es grande y se observa rodeado de un halo; el citoplasma presenta granulaciones irregulares en tamaño. El quiste es esférico y presenta una doble pared con dos o tres poros. El organismo flagelado es un estado transitorio que adopta el parásito en cultivo o cuando se suspende en solución salina isotónica estéril. Es alargado y presenta dos flagelo, que emergen de su porción anterior.(15)

Las amebas transformadas suelen tener forma de pera, con los flagelos en la parte más ancha, a veces se mueve rápidamente hacia delante o describe círculos. Las formas flageladas no se dividen, pero pierden fácilmente los flagelos para adquirir de nuevo la movilidad y la capacidad reproductora de las formas ameboides.(5)

Los quistes al igual que en la naturaleza se forman en cultivo de agar. Son uninucleados de contorno circular de 7 a 10 micras de diámetro, con una pared lisa aproximadamente de una micra de grosor, el núcleo no es evidente y los quistes suelen aparentar vacíos. En secciones histicas teñidas, los trofozoitos de *Naegleria* apenas se distinguen, se diferencian, sin embargo, por su núcleo central redondeado con un gran endosoma central que se tiñe por lo general de color púrpura o rojo claro en las secciones histicas fijadas en formalina y teñidas con hematoxilina y eosina. Además puede quedar delimitada, la ameba de tejido circundante por una zona clara, de vida a la contracción del parásito.(5)



5.2.1- Epidemiología.

Hasta 1981 se habían publicado mas de 100 casos de meníngeo- encefalitis amebiana primaria. La identificación del parásito no se había conseguido en todos los casos, pero en la mayoría de ellos se habían podido etiquetar a la ameba como *Naegleria fowleri*.

Varios casos que se habían atribuido a *Acanthamoeba* se debieron al genero *Naegleria*, al identificar por técnicas de inmunoensayo como las técnicas de inmunoperoxidasa e inmunofluorescencia indirecta. Por lo general las personas afectadas se habían bañado en un lago o embalses algunos días antes del comienzo de los síntomas. A pesar que estos embalses o piscinas que estaban llenas de agua cloradas no solo sirvió de protección sino que al parecer sirvió de un factor predisponentes.

Las observaciones experimentales y epidemiológicas inducen a pensar que en los casos habituales la infección se contrae en el agua por penetración de los micro-organismos a través de la nariz, sin embargo se ha aislado al genero *Naegleria* patógena a partir de la cavidad nasal de personas que no habían estado bañándose, lo que sugiere que pueda haber transmisión aéreas de quistes viables.

Como la fase del flagelado de la *Naegleria* es acuática y muy móvil, quizás esta sea la forma que penetre con mayor frecuencia en la cavidad nasal, donde recupera la forma ameboide antes de invadir los tejidos olfatorios y el cerebro.

5.2.2- Patogénesis, anatomía patológica y sintomatología.

Los hallazgos de la autopsia de los distintos casos de infección por *Naegleria* han sido notablemente uniformes, se han limitado prácticamente al cerebro y no han diferido en esencia de los propios de la meningitis bacteriana.



Las áreas afectadas tienen una consistencia blanda y las meninges aparecen hiperémicas y moderadamente purulentas. Los bulbos olfatorios están congestionados o hemorrágicos y necróticos. En los cortes histopatológicos se ven amebas en toda la sustancia gris; y en particular sobre todo en el espacio sub-aracnoideo, suelen encontrarse amebas en el exudado difíciles de reconocer entre las células inflamatorias. La principal característica de las amebas es un núcleo abierto típico con endosoma central denso y grande; tiene una forma redondeada más regular y un tamaño uniforme que va entre 10 a 12 micras.

5.2.3- Agente causal

Naegleria fowleri

5.2.4- Localización en el huésped

Puede invadir la faringe, nasofaringe y sistema nervioso central.(13)

5.2.5- Aspectos clínicos.

El examen microscópico del encéfalo infectado muestra nidos de amebas con amplias reacciones hemorrágicas que en su mayor parte comprometen la porción bacilar del cerebro y del cerebelo. En el caso de la *Acanthamoeba* también pueden encontrarse quistes.

La infección se da en individuos jóvenes y previamente sanos que se han bañado o practicado natación durante tres a siete días en piscinas sin cloro o en lagos. La sintomatología se inicia con una cefalea intensa y persistente fiebre, vómitos y una gran alteración del estado general, que llevan rápidamente a la muerte a pesar del tratamiento antibiótico intensivo.(8)



Se debe pensar en la meningoencefalitis amebiana primaria por *Naegleria*, en todas meningoencefalitis necrotisante hemorrágica aguda, que comprometa a individuos jóvenes previamente sanos y con el antecedente resiente en el agua.(8)

5.2.6- Diagnóstico.

Las muestras biológicas en que se deberán hacer los estudios correspondientes son el liquido cefalorraquídeo (LCR), suero y material obtenido por biopsia. El diagnostico parasitoscópico se realiza por la observación del agente etiológico en examen directo del LCR o frotis del mismo teñido con Giemsa o Wright, observándose el citoplasma de los trofozoitos de color azul y el núcleo de rosa.(13)

Las técnicas inmunológicas mas adecuadas son la inmunofluorescencia indirecta y ELISA. La intradermoreaccion y la inhibición de la migración de los macrófago sugiere la existencia de inmunidad celular.(13)

Es posible efectuar el diagnostico mediante examen microscópico del liquido cefalorraquídeo, el que puede rebelar la presencia de los trofozoitos. El liquido cefalorraquídeo contiene eritrocitos y es bacteriológicamente estéril. También es factible cultivar las amebas inoculando el liquido cefalorraquídeo en placa de agar no nutritivo, previamente sembradas con *Escherichia coli*.

5.2.7- Cultivo

Para el aislamiento de la *Naegleria* del LCR, se monta en una placa de agar nutritivo al 1.5% se siembra con una cepa de *E. coli* viva, cultivada de forma independiente y añadida después. De esta forma se consigue un hábitat parecido al natural en que la amebas se alimenta en ambiente aerobio, se forman quistes resistentes que sobreviven a una desecación moderada y de esta forma pueden mantenerse las cepas tróficas o quísticas; toleran temperatura hasta de 24°C y una concentración salina de hasta el 0.85%, pero las patógenas



llegan a soportar temperaturas aun mas altas(45 o 46°) para el mantenimiento sirven las células de cultivo de tejido a 37°c.(3)

5.2.8- Tratamiento

No se conoce un tratamiento satisfactorio para meningoencefalitis amebiana primaria, el fármaco al que con mayor frecuencia se atribuye cierta eficacia contra la infección por *Naegleria* es la anfoterisina B y la tetraciclina al administrarlas juntas.(5)

Si el diagnostico se realiza oportunamente, pueden emplearse tetraciclina, ketoconazol y anfoterisina B.(13)

5.2.9- Pronostico

Suele tener una evolución fatal en las primeras semanas posterior a su comienzo. La supervivencia depende de la sospecha precoz de la infección que se basa en gran medida en los antecedentes del paciente de haber estado en contacto de agua contaminada, en el diagnostico precoz basado en la demostración de las amebas en el liquido cefalorraquídeo y el tratamiento inmediato.(3)

5.2.10- Profilaxis

El único riesgo evitable conocido respecto a esta infección es el contacto con aguas termales o estancadas la hipercloración de agua de río para el llenado de piscina cubierta o al aire libre no es una medida de protección suficiente. Debido a que estas amebas de vida libre pueden encontrarse en aguas estancadas no se debe nadar o introducirse en ellas por el peligro potencial que representan.(8)



5.3- Morfología, Biología y ciclo vital de *Acanthamoeba*.

Las fases del ciclo vital son las formas tróficas activas y los quistes resistentes. No existe una forma flagelada, presenta una morfología irregular con pseudópodos espinosos y prolongaciones acanthopodica que surgen de los lobopodos y de otras zonas del cuerpo. Las prolongaciones acanthopodicas tienen un movimiento lento perceptible y se forma y se reabsorbe continuamente, pero el trofozoito como tal no suele mostrar un claro desplazamiento progresivo de un lugar a otro.(9)

Los trofozoitos de *A. culbertsoni* tiene un tamaño y una forma extraordinariamente variable, el diámetro medio de la forma redondeada es de aproximadamente 30 micras (10 a 45 micras). El núcleo y su gran nucleolo se ve fácilmente en las amebas no teñidas. Los quistes de *A. culbertsoni* son esféricos de borde ligeramente irregulares y de un diámetro de 20 micras o más, con una pared doble que forma un ectoquiste liso o ligeramente arrugado y un endoquiste más o menos poliédrico. Los quistes, que al principio son liso y esféricos con una pared única, presenta luego gradaciones difíciles de identificar; llama la atención una única vacuola contráctil, los trofozoitos en cultivos hísticos pueden asumir la forma limas.

El núcleo es de 3 a 5 micras de diámetro es vesicular y tiene un endosoma grande localizado en el centro. Los quistes formados en placas de agar tienen una pared doble en la parte externa arrugada (ectoquiste) y la interna poliédrica o estrellada (endoquiste).(9)

Los quistes son algo mamilado y biconvexa, bastante gruesa o poliédrico, el endoquiste cuando es estrellado suele presentar 6 ó más radiaciones truncadas en un plano; el ectoquiste esta laxamente adherido al endoquiste, pero en ocasiones adopta una disposición circular, ondulada o arrugada. El diámetro medio de quiste es de aproximadamente de 16 micras ó más pero no es raro encontrar algunos más pequeños.



5.3.1- Epidemiología.

Unas 30 comunicaciones de enfermedad humana se atribuyeron a amebas de vida libre que se consideraron de forma más o menos fundada, especies de *Acanthamoeba*. En algunos casos la identificación fue retrospectiva, basada en técnicas de tinción de inmunofluorescente o inmunoperoxidasa de las amebas en cultivos corte de tejidos.(11)

En algunos casos las personas infectadas tenían antecedentes de contacto con aguas de charcas, pero por lo general no. Pero con frecuencia no llegó a identificarse la fuente probable de infección, pero se supuso que había sido polvo o agua.

Los quistes de la especie de *Acanthamoeba* son resistente al cloro y tolera la desecación, por lo que pueden ser transportados por el agua o el aire. Se han aislado ameba en exudados nasales y en gran cantidad de cultivos de exudados faríngeos obtenidos de infecciones respiratorias víricas, no se determinó si los microorganismos aislados eran quistes, trofozoitos o amebas. Se han aislado ambas patógenas en sedimento salobres, marinos, de humidificador y de un aparato de diálisis.

5.3.2- Patogénesis, anatomía patológica y sintomatología

Las infecciones humanas por *Acanthamoeba* difieren de las producidas por *Naegleria*. La infección por *Acanthamoeba* se adquiere por la inhalación de aire contaminado con quistes que se establecen en pulmones o por la presencia de trofozoitos y quistes en lesiones crónicas de la piel, boca, oídos y mucosas. A partir de estos sitios de infección primaria los parásitos se diseminan por vía hematógenas al sistema nervioso central, donde produce encefalitis amebiana granulomatosa.(13)

La enfermedad suele ser de comienzo gradual y seguir un curso crónico y prolongado más o menos de semanas o meses. Los síntomas al comienzo son: dolor de garganta y fiebre,



seguido por cefalea y otros síntomas de irritación meníngeo, el periodo desde el comienzo de los síntomas hasta la muerte de varios casos es de unas tres semanas.

5.3.3- Agentes causales:

Acanthamoeba castellani, *A. culbertsoni* y *A. polífaga*.

5.3.4- Localización en el huésped.

Puede afectar la piel, pulmones, cornea y sistema nervioso central.(13)

5.3.5- Aspectos clínicos.

El inicio del cuadro clínico de la encefalitis amebiana se presenta semanas o meses después de la infección, con cefalea, confusión mental, alucinaciones, vértigo y somnolencia; pueden afectarse pares craneales y ocurrir anisocoria, diplopía, afasia, ataxia, papiledemia y coma profunda. Algunos pacientes con encefalitis amebiana granulomatosa desarrollan nódulos días antes de la aparición de los signos y síntomas.(13)

La queratitis por *Acanthamoeba* se caracteriza por ser una lesión crónica ulcero de la cornea que produce dolor ocular, disminución de la agudeza visual y conjuntivitis.(13)

La infección por organismo del genero *Acanthamoeba* puede causar la pérdida de la visión y en casos graves la pérdida del ojo.(13)

5.3.6- Diagnostico.

El diagnostico firme de las infecciones por *Acanthamoeba* depende del hallazgo y de la identificación de las amebas en el liquido cefalorraquídeo.



Los estudios biológicos que se hacen para el diagnóstico de esta parasitosis son: sueros, LCR, biopsia de la piel o de cornea. Hay laboratorios donde se realizan exámenes parasitoscópicos para observación directa de trofozoitos en LCR o de frotis del mismo, teñido con los métodos de Giemsa o Wright.(15)

Entre los métodos histológicos se pueden emplear la reacción de fijación de complemento, como la inmunofluorescencia y la ELISA. Los estudios histopatológicos de cornea, piel, o tejido nervioso con presencia de trofozoitos o quistes de *Acanthamoeba spp* confirma el diagnóstico. Los antisueros de membranas citoplasmáticas se obtienen títulos muy elevados de aglutinación y fluorescencia de Amebas homologas. La tinción inmunoenzimática indirecta de corte fijado con formalina también pueden utilizarse para la localización de las Amebas y su identificación específicas. La prueba de tolerancia térmica y de salinidad ayuda a identificar *Acanthamoeba* y *Naegleria*.(15)

5.3.7- Cultivo

Para el aislamiento de la *Acanthamoeba* del LCR, se utiliza una placa de agar nutriente al 1.5% que se siembra con *E. coli* viva, cultivada de forma independiente y añadida después. De esta forma se consigue un hábitat parecido al natural en que la ameba se alimenta en ambiente aerobio, se forman quistes resistentes que sobreviven a una desecación moderada y de esta forma pueden mantenerse las cepas tróficas o quísticas; toleran temperatura hasta de 24°C y una concentración salina de hasta el 0.85%, pero las patógenas llegan a soportar temperaturas aun más altas(45 o 46°) para el mantenimiento sirven las células de cultivo de tejido a 37°C.

5.3.8- Tratamiento.

Si el diagnóstico es oportuno, se puede emplear Ketoconazol, Clotrimazol, Sulfadiazina, Miconazol, Gentamicina y Polimixina B.(15)



Las observaciones realizadas en caso de queratitis amebiana y los resultados de los estudios de los laboratorios han sugerido la posible eficacia de sulfonamida, y Isetionato de Hidroxistibamidina, Fluocitocina, Paramomicina y otros agentes anti-microbiano; las observaciones clínicas apuntan la posible eficacia de la Natamicina y Rifantisina al éxito que han tenido la Queratoplastía.

5.3.9- Pronostico

En vista de la sensibilidad demostrada en la especie de *Acanthamoeba* a diversos fármacos in Vitro y en animales de experimentación, el pronostico en caso diagnosticado precozmente podría parecer favorable, pero no es seguro.

5.3.10- Profilaxis

Al igual que en las protozoosis anteriores, hay que evitar el contacto de las fosas nasales con aguas estancadas por el peligro potencial que pueden tener estos organismos ya que se trata de su hábitat natural.

Como la afección del sistema nervioso central y secundario a la infección de otra parte del cuerpo, la medida preventivas pueden dirigirse eficazmente a tratar la forma precoz de la lesiones de la piel, ojos, o lo sistema genito urinario, respiratorio dado que se han producido casos de meningoencefalitis fatal en pacientes enfermos crónicos y debilitados o con afecciones a la respuesta inmune celular a causa de algunas enfermedades crónicas o de usos de tratamiento inmunosopresores, pueden estar indicada la precaución en el empleo de cualquier terapéutico inmunosopresoras.



5.4- Bacterias.

Las bacterias se asignan a su propio Reino, Prokaryotae. Las células procarióticas contienen ribosomas pero carecen de los organelos rodeados por membranas peculiares de las células eucarióticas. De este modo, carecen de núcleo, mitocondrias, cloroplasto, retículo endoplasmático, complejo de Golgi y lisosomas.(2)

El material genético de un procariote está contenido en una sola molécula de ADN circular que se encuentra en el citoplasma, sin envoltura nuclear que la rodee. La mayor parte de la célula procariótica tiene una pared celular que rodea la membrana plasmática, pero su estructura y composición difieren de las que se observan en las paredes celulares eucarióticas. Algunos procariotes tienen flagelos, pero su estructura es muy distinta de la propia de los flagelos eucarióticos.(2)

Las células bacterianas son diminutas. Su volumen celular es apenas un milésimo del de la célula eucariótica pequeña, y su longitud es solo un décimo. La mayor parte de los procariotes son organismos unicelulares, pero algunos forman colonias o filamentos que contienen células especializadas. La membrana plasmática, la barrera activa entre la célula y el ambiente externo, rige el paso de la molécula hacia el exterior y el interior de la célula.(2)

La pared celular que rodea la membrana plasmática constituye un bastidor rígido que soporta la célula, mantiene su forma, e impide que explote por presión osmótica. Al parecer la mayor parte de las bacterias están adaptadas a ambientes hipotónicos. Por lo regular, las bacterias no pueden sobrevivir sin su pared celular. Cuando se producen en forma experimental formas sin pared, deben mantenerse en soluciones isotónicas para impedir que exploten. Sin embargo, las paredes celulares son de poca utilidad cuando las bacterias se encuentran en un ambiente hipertónico, como en alimentos conservados en azúcar o en sal. Este es el motivo por el cual la mayor parte de las bacterias no proliferan en alimentos como jalea, mermeladas, pescados salados y otros productos conservados de esa manera.(2)



Las bacterias por lo general se reproducen de forma asexual por fisión binaria transversal en la que una célula se divide en dos células hijas. Después que el cromosoma bacteriano circular se ha duplicado, se forma una pared transversal por invaginación tanto de la membrana plasmática como de la pared celular. La duplicación del cromosoma y la división de la célula a menudo ocurre fuera de fase, de modo que una célula bacteriana puede tener uno o varios cromosomas idénticos.(2)

La división de la célula bacteriana ocurre con notable rapidez, en condiciones ideales algunas especies se dividen cada 20 minutos. A este ritmo, si no hay interferencias de ninguna clase, una sola bacteria producirá más de 130,000 individuos en 6 horas. Esto explica porque el ingreso de solo unas cuantas bacterias patógenas en una persona puede producir con tanta rapidez los síntomas de la enfermedad. Por fortuna, las bacterias no se reproducen a esta velocidad durante mucho tiempo debido a que pronto son contenidas por la falta de alimentos o la acumulación de productos de desechos.(2)

Las bacterias son los agentes que causan las infecciones más graves del tracto intestinal. En la actualidad las mejores medidas higiénicas y la depuración del agua han hecho que muchas de ellas sean muy poco frecuentes en los países desarrollados, y que otras sean fácilmente controlables con agentes anti-microbianos.

5.4.1- Shiguella spp.

El género *Shiguella* pertenece a las entero-bacterias, grupo que incluye muchos microorganismos intestinales. Son bacilos Gram negativo. Los antígenos O presente en la pared celular de estas bacterias permiten la clasificación del género en cuatro especies: *Shiguella dysenteriae*, *Shiguella flexneri*, *Shiguella boydii* y *Shiguella sonnei*.(4)

Las especies de *Shiguella* pueden ser muy virulentas, los mecanismos responsables de su patogenicidad son la adherencia, la invasividad y la producción de toxinas. Al igual que la mayoría de las entero-bacterias, las *Shiguella* poseen fimbrias provistas de adhesinas



proteicas que se fijan a los glúcidos receptores, presente en las células del colon humano. Las *Shiguella* no atraviesan la pared intestinal.(4)

La mayoría de las especies *Shiguellas* producen unas potentes toxinas; así, la toxina producida por *Shiguella dysenteriae* es la toxina de Shiga; otras especies sintetizan unas moléculas similares, que se denominan toxinas para – Shiga. La toxina de Shiga consta de dos sub-unidades proteicas, la toxina de Shiga también contribuye a la aparición de las diarreas acuosas.(4)

5.4.2- Transmisión y epidemiología.

Shiguella habita únicamente en el tracto intestinal de las personas que están padeciendo de una disentería bacilar, se trasmite por vía orofecal. Las bacterias sobreviven durante un período considerable de tiempo en aguas contaminadas y en fómites. Las infecciones por *Shiguella* se pueden prevenir del todo, a menos que los microbiólogos clínicos perfeccionen una vacuna oral, actualmente en vía de desarrollo.(4)

5.4.3- *Salmonella* spp.

Las especies del genero *Salmonella* al igual que la del genero *Shiguella*, incluyen bacilos Gram negativo que pertenecen a las enterobacterias. Sin embargo, a diferencia de *Shiguella*, las *Salmonellas* infectan muchas especies de animales distintas, la humana entre ellas, y algunas pueden invadir otros tejidos a parte de los del tracto intestinal y las mayorías son móviles.(4)

El genero *Salmonella* comprende más de 2000 cepas diferentes que pueden diferenciarse entre si por prueba serológicas según el tipo de sus dos antígenos superficiales, el O (presente en el lipopolisacarido) y el H (en los flagelos) . Las serovariedades se han agrupado en unas cuantas especies *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerasuis* y *Salmonella enteritidis*.(4)



5.4.4- *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori es un bacilo Gram negativo, anteriormente conocido como *Campylobacter pylori* hasta que se le cambio el nombre en 1989, tras la secuenciación de su ARN ribosómico, un indicador fiable de las relaciones filogenéticas. Esta bacteria se encuentra en el estomago en el cual sobreviven a las inhóspitas condiciones de acidez gracias a la producción de una encima que transforma a la urea en amoniaco y sube el ph de su entorno. *Helicobacter pylori* es un bacilo Gram negativo curvado que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano y que se ha asociado con diferentes enfermedades digestivas.(4)

La implicación de estas bacterias en la gastritis crónica activa, su asociación con la úlcera gastroduodenal y su inclusión por parte de la IARC en 1994 (grupo de estudio del cáncer, perteneciente a la Organización Mundial de la Salud) entre los agentes carcinógenos tipo 1, las ha convertido en uno de los microorganismos de mayor interés en patología humana.

Helicobacter pylori penetra en la mucosa que protege al epitelio gástrico del ácido clorhídrico del estomago para después, fijarse a las células epiteliales, esta bacteria puede fijarse tanto a determinado hidrato de carbono (ácido siálico) presente en las células epiteliales como a un antígeno de grupo sanguíneo que estas células, al igual que los eritrocitos presentan sobre su superficie.(4)

Desde su cultivo en 1983 ha recibido diferentes denominaciones hasta adquirir el nombre definitivo:

CLO (Campylobacter like organism),
GCLO (Gastric Campylobacter like organism),
Campylobacter pyloridis,
Campylobacter pyloric



Campylobacter pylori.

Helicobacter pylori: (1989) especie tipo de un nuevo género, *Helicobacter*.

Helicobacter, *Campylobacter*, *Arcobacter* y *Wolinella* pertenecen a un grupo distinto de bacterias (Súper familia VI del ARNr) que está relacionado lejanamente con otras eubacterias.

Las especies del género *Helicobacter* se han dividido en las que viven en el estómago y las que viven en el intestino tanto del hombre como de animales

Es necesario conocer la sensibilidad *in Vitro* de los diferentes antibióticos que se pueden utilizar en la erradicación de *Helicobacter pylori*, ya que la resistencia a los antimicrobianos se relaciona con un mayor fallo del tratamiento.

Helicobacter pylori es sensible a un gran número de antibióticos *in Vitro* aunque no son siempre útiles *in Vitro*, debido a diversos factores como:

- El antibiótico no llega a las zonas profundas de la mucosa gástrica donde se encuentra *Helicobacter pylori*
- El antibiótico es inactivado por el pH ácido del estómago
- Las condiciones en las que la bacteria se encuentra en el estómago, no son fácilmente reproducibles en el laboratorio.

5.4.5- *Legionella* spp.

La *Legionella* es una bacteria muy extendida en la naturaleza que necesita para vivir y crecer de la existencia de humedad y calor (entre 32 °C y 45 °C). Existen cerca de 40 especies de *Legionella*. Su hábitat natural es el agua: ríos, lagos, corrientes y



aguas termales contaminadas (humidificadores, torres de refrigeración, suministros de agua potable, etc.). (18)

La *Legionella pneumophila* es muy difícil de identificar en el laboratorio ya que sus células se tiñen mal con la tinción de gran, necesitándose tinciones especiales como la tinción de argéntica o el empleo de inmunofluorescencia directa.(4)

La *Legionella pneumiphila* es un pequeño bacilo aerobio que se desplaza por medio de flagelo. Los macrófagos ingieren las bacterias pero son incapaces de destruirla, por lo que se puede afirmar que la *Legionella pneumophila* se multiplica como un patógeno intra celular. La defensa inmunológica celular, así como la síntesis de anticuerpo contribuyen a la curación de la legionelosis.(4)

Legionella pneumophila que se encuentra en una gran variedad de hábitat acuáticos naturales y también en los sistemas artificiales de distribución de agua, pueden sobrevivir al calor y a la cloración de las aguas. Las infecciones se producen cuando los microorganismos que están en el agua son diseminados por medio de aerosoles y después son inhalados; así, varias epidemias han tenido su origen en el desarrollo de las *Legionella pneumophila* en sistemas de aire acondicionados.(4)

La mayoría de los enfermos infectados por *Legionella pneumophila* suelen mostrar leves síntomas aunque en algunos casos se produce una neumonía virulenta, del tipo a la que infecto a los legionarios, la enfermedad comienza bruscamente con debilidad, cefalea, fiebre elevada, tos y escalofrió. La *Legionella pneumophila* es resistente a la penicilinas y a las cefalosporinas, antibióticos tradicionalmente empleados para combatir las neumonías graves cuando se desconoce el agente causal de la misma.(4)

La ***Legionella*** provoca normalmente dos tipos de infecciones, ambas habitualmente causadas por la *Legionella pneumophila*. Estas dos enfermedades son, en orden de frecuencia:



1.- **La Fiebre de Pontiac:** esta forma es más leve y la más frecuente, se parece a una gripe, no produce neumonía, es autolimitada, con buena evolución, siendo la recuperación completa en el plazo de una semana.

2.- **La Enfermedad del Legionario:** fue descrita por primera vez en 1947 y la primera epidemia apareció en 1965 en un hospital psiquiátrico de Washington, en EE. UU. Es llamada así porque afectó a los asistentes a una reunión de la Legión Americana en Filadelfia en el año 1976. Esta enfermedad provoca una neumonía y afectación del estado general. Es la forma más grave. La mayoría de casos se dan de forma esporádica (más del 80% de los casos), siendo los brotes epidémicos mucho menos frecuentes.(18)

Aunque cualquiera puede contraer la enfermedad, ésta afecta preferentemente a personas que tienen un riesgo especial de contraer una infección por *Legionella*. Son personas ancianas o con enfermedades debilitantes (enfermos de corazón, pulmón, riñón, diabetes, etc.), personas fumadoras, con déficit inmunitarios o en tratamiento con medicamentos inmunosupresores (que disminuyen las defensas).(18)



VI- Material y método.

Tipo de estudio: Descriptivo.

Área de estudio: El sector 1 y 2 de la comunidad de Troilo que se encuentra ubicada a 8 Km. al sur-oeste de la ciudad de León. Con 1253 habitantes que conforman alrededor de 268 familias.

Población de estudio: Este estudio fue realizado en 100 casas de los sectores 1 y 2 de la comunidad Troilo que tiene pozo y filtro.

Muestra: obtención de agua para el estudio (pozo, filtro)

Toma de la muestra de agua: la muestra se toma en un tubo plástico estéril de 50 ml. el cual, en este se deposita el agua que se extrajo de los pozos y filtros respectivamente, luego se etiqueta el tubo poniendo el número de la muestra y el tipo de procedencia de la misma.

Recolección de la información: Las muestras de agua se recolectaron de manera directa de los pozos y filtros en los sectores 1 y 2 de la comunidad de Troilo, luego se completa una ficha cuyos datos fueron: Dirección de la fuente de agua, nombre del jefe de familia y el tipo de fuente de agua, pozo y filtro.

Agua con filtro:

Es el agua que es pasada por un filtro, que está conformado de las siguientes partes: construido de concreto, tiene 92 cm de alto y 40 cm de ancho, empotrado un tubo para la salida de agua, plato difusor y material filtrante, arena y piedrín.

Agua sin filtro:

Agua obtenida directamente del pozo.

Procedimiento de la muestra.

- 1- Se toman 50 ml de la muestra recolectada.
- 2- Esta se pasa por un filtro estéril utilizando una jeringa descartable de 60 ml.
- 3- En un plato de agar-agar se aplica caldo de *E. coli* que le sirve de alimento a las amebas, luego colocamos el filtro en dicho plato.
- 4- La muestra se deja incubar por 48 horas a una temperatura de 30°C.
- 5- Pasando las 48 horas se lee la muestra en el microscopio de inversión.



Si la muestra es positiva se realizan los siguientes pasos para identificar el tipo de amebas:

- 1- Se procederá a tomar un trozo de gel de la muestra positiva y pasándolo a un sub-cultivo de un nuevo plato de agar-agar que también se le aplicara *E. coli*.
- 2- Se realizara tinción de Giemsa para detectar quistes o trofozoitos y hacerles frotis en solución salina.

Flagelación.

- 1- En una placa limpia se coloca de 0.5–1 ml de agua destilada para localizar trofozoitos.
- 2- Se toma una asa estéril la cual se va a utilizar para la extracción de una porción de gel del plato petri que contenía el sub-cultivo y se coloca en una placa en donde se ha puesto agua estéril y esta se incuba a una temperatura de 37°C observándola posteriormente a los 60-90-120 minutos respectivamente para observar la presencia de flagelos.

Procedimiento para la detección de microorganismo (Bacterias) que se encuentran dentro de las amebas:

- 1- Una vez que la muestra son positivas se procede a buscar los microorganismos por medio de inmunofluorescencia indirecta donde se toman las placas positivas del paso anterior y en esta se colocaran 10 micro-litros en cada orificio de laminas dejándose esta secar al aire libre y se fijara con acetona por 10 minutos y posteriormente se congelara.
- 2- Se coloca 90 micro-litros de PBS + 10 micro-litro de suero: *Shigella*, *Salmonella*, *Helicobacter pylori* y *Legionella*.
- 3- Posteriormente en los orificios se agregan 15 micro-litros por un tiempo de 30 minutos a una temperatura ambiente y se lavara 3 veces por 5 minutos con PBS.



4- Se colocara el conjugado diluido de 1/30 en 15 micro-litro por 30 minutos a temperatura ambiente.

5- Luego se lavara 3 veces con PBS por un tiempo de 5 minutos se monta con glicerina para después leer en el microscopio de IFI.



Operacionalización de las variables.

- Agua de pozo sin filtro y con filtro.
- Cultivo de agar.
- Test de inmunofluorescencia.

Variable	Definición	Indicador	Valor
Agua de pozo	Agua que se encuentra en el manto freático.	Ficha de recolección de datos.	Si o No
Agua de filtro	Agua que se encuentra en un filtro de cemento.	Ficha de recolección de datos.	Si o No
Cultivo	Medio nutricional, sea sólido o líquido, que se utiliza para lograr el desarrollo y reproducción de microorganismos.	Registro de laboratorio.	Positiva o negativa.
Fluorescencia	Técnica que permite identificar proteínas específicas en muestras de tejidos, aplicando anticuerpos que han sido marcados por un compuesto fluorescente.	Registro de laboratorio.	Positiva o negativa.



VII- Resultados.

Los resultados que obtuvimos en la comunidad de Troilo en el año 2002-2003 donde se recolectaron 101 muestra de pozo y filtro se encontró la presencia de 14 muestras positivas con un 14.9%, 13 muestras resultaron con *Acanthamoeba* para un 12.9% y se encontró 1 muestra positiva de *Naegleria* sp. representando el 1.0% , 87 muestras restantes fueron negativas con un 86.1%.

Tabla # 1

Prevalencia de amebas de vida libre en aguas de uso domestico, en la comunidad de Troilo en el 2002-2003.

Tipo de amebas	frecuencia	porcentaje %
<i>Acanthamoeba</i> sp.	13	12.9
<i>Naegleria</i> sp	1	1.0
Ninguna	87	86.1
Toral	101	100.0

Del total de las muestras que se procesaron se encontró que 15 muestras eran de filtro que representaron un 14.9% en el cual se encontró una muestra positiva de *Acanthamoeba* sp. con un 7.7% y las otras 86 muestra fueron de pozo con un 85.1% donde se encontró una muestra positiva para *Naegleria* sp. con un 7.7% y 12 muestra para *Acanthamoeba* con un 92.3%.

Tabla # 2

Comparación de la existencia de amebas de vida libre en pozo y filtro 2002-2003.

Tipo de amebas	Pozo		filtro	
	Frecuencia	porcentaje %	Frecuencia	Porcentaje %
<i>Acanthamoeba</i>	12	13.95	1	6.66
<i>Naegleria</i>	1	1.16	0	0.00
Ninguna	73	84.88	14	93.33



De las muestras positivas con amebas se realizaron análisis para la detección de bacterias intracelulares como *Shiguella*, *Salmonella*, *Helicobacter pylori* y *Legionella*, detectándose únicamente la presencia de *Shiguella* en una de las muestras positivas con amebas representando un 7.1% y el otro 92.9% de las muestras fueron negativas, de tal manera que no se encontraron ninguna muestra positiva con *Salmonella*, *Legionella* y *Helicobacter pylori* esto nos da un 100.0% de las muestras negativas.

Tabla # 3

Identificación de Bacterias patógenas encontradas dentro de amebas de vida libre 2002-2003

Tipo de bacterias	positivas	porcentaje %	negativa	porcentaje %
Shiguella	1	7.1	13	92.9
Salmonella	0	0	14	100.0
Helicobacter pylori	0	0	14	100.0
Legionella	0	0	14	100.0



VIII- Discusión.

En el estudio que realizamos recolectamos 101 muestra, 14 fueron positivas esto significa que la prevalencia en la comunidad de Troilo fue de 14.9% lo que nos demuestra la existencia de amebas de vida libre y no solamente la existencia de estas amabas si no que también la presencia de microorganismos patógenos dentro de estas como es en el caso de *Shiguella*, constituyendo un factor de riesgo en la aparición de enfermedades al hombre.

Las amebas del genero *Acanthamoeba* predominaron más en las aguas de pozo que en aguas de filtro por lo que sugiere que las personas que toman estas aguas están expuestas a contagiarse. El genero *Naegleria* se encontró en agua de pozo, el mayor numero de muestra positiva fue encontrada en aguas extraídas de pozo lo que existe una mayor posibilidad de adquirir una infección al utilizar este tipo de agua ya que la población de esta comunidad la utilizan para el consumo personal y la utilidad cotidiana en el hogar.

La asociación bacteriana encontradas con la especie *Acanthamoeba* fue la Bacteria del genero *Shiguella* .

Al comparar nuestros resultados con los estudios realizados en otras Comunidades observamos que la prevalecía de amebas de vida libre en otros sectores es mayor, esto puede deberse al inadecuado tratamiento que tiene la población con los diferentes tipo de aguas como por ejemplo: no clorar, ni usar filtro para purificarla, en el caso de nuestro en la comunidad de Troilo las aguas se tratan con cloro y también se hace el uso del filtro que ha demostrado tener una buena eficacia en la retención de microorganismos.

Este estudio nos da a conocer que la existencia de amebas en esta comunidades es relativamente baja.



La importancia de nuestro estudio radica en detectar el grado de existencia de amebas en agua de tomar en la comunidad de Troilo y también la existencia de microorganismo patógenos dentro de las amebas que esta a su vez causan enfermedad al hombre.



IX- Conclusión.

- 1) En el estudio realizado se demostró la prevalencia de amebas de vida libre; 14 fueron positivas, para una prevalencia del 14.9%. Los géneros que se encontraron en dicha muestra son, *Acanthamoeba sp.* y *Naegleria sp.*
- 2) Se logró demostrar la asociación de las amebas con microorganismo patógenos que causan enfermedad al hombre como es el caso de la *Shiguella*.
- 3) De todas las muestras positivas de amebas se encontraron especies *Acanthamoeba* y *Naegleria* predominando en aguas de pozo.
- 4) Las amebas de vida libre de la especie *Acanthamoeba sp.* se obtuvo solamente una muestra positiva en filtro.



X- Recomendación

Una vez que se han obtenido los datos de laboratorio, informarle al centro de salud de la comunidad para que se realice un mejoramiento en la calidad de agua con relación al daño que causan estos microorganismos patógenos, o recomendar a la población clorar el agua.

Seguir realizando trabajos investigativos en otras comunidades para determinar, si el agua que están tomando los pobladores esta en condiciones optimas para el uso domestico.

Establecer un convenio UNAN-León y el MINSA para realizar monitoreos en las distintas comunidades y municipios del departamento de León.

Hacer conciencia en los pobladores dela comunidad de Troilo para que estos utilicen los filtros que se le han facilitado, para que filtren el agua que ellos extraen de los pozos.



XI- Bibliografía.

- 1) Atlas color de parasitología clínica, 2^{da} edición , editorial medica panamericana Mayo de 1998.
- 2) Biología de Ville, 3^{era} edición, capítulo 24, Pág. 496.
- 3) Brass, meningoencefalitis amebiana primaria por Naegleria, archivo Venezolano, medico de parasitología tropical, capítulo V , Pág. 291-301
- 4) Introducción a la microbiología de John L. Ingrahan, Catherine A. Ingrahan, volumen 2, Capítulo 22-23, Pág. 536-566
- 5) Medicina interna de Harrison, 14^{va} edición 1994, volumen 1, capítulo 173, Pág. 1025-1029
- 6) Microbiología medica de Ernest Jawetz, 3^{era} edición 1990, capítulo 31, Pág. 326
- 7) Parasitología clínica de Atias-Neghme 3^{era} edición, capítulo 33, Pág. 287-290.
- 8) Parasitología clínica 3^{era} edición, Antonio Atias capítulo 2 Pág. 28
- 9) Protozoo parásitos, segunda edición, volumen III, 1993, editado por Julius P. Kreier-John R. Barker
- 10) Revista critica de microbiología Pág. 225-241, 1994, titulo ecología de las amebas de vida libre, Salvador Rodríguez Zaragoza.
- 11) Revista escandinava de infección, articulo original, Pág. 338-385, 1998, Jawiga Wijiecka-Krusnel y Ewert Linder, amebas de vida libre protegiendo a la Legionella en agua.
- 12) Revista escandinava de infección, Pág. 639-641, 1998, Jawiga Wijiecka-Krusnell y Ewert Linder, queratitis por Acanthamoeba
- 13) <http://www.scbbs-bo.com/bolaj/naegleriasis%20y%20acanthamibiasis.htm>
- 14) http://www.geocities.com/sochiltmol/articulos/amebas_vida_libre.htm
- 15) <http://www.drscope.com/privado/pac/generales/Naegleriasis.htm>.
- 16) <http://www.geocities.com/arareko/endosinbiosis>.
- 17) <http://www.aepop.org/faq/faqpod-legion.htm>
- 18) <http://www.mntsa.es/legionella.html>.
- 19) <http://www.salomujeres.com/articles/salmonella.html>.





ANEXO



E. coli. Esta constituida por una bacteria pura que se cultiva en un medio mac Conkey , se incuba a una temperatura de 37°c por 24 horas, después se guarda en caldo de agar nutritivo más glicerina.

Compuestos químicos utilizados para la preparación de la solución madre de Giemsa:

1 gr. de colorante de Giemsa

54 ml. de glicerina

84 ml de metanol

Se coloca el polvo colorante en un mortero de tamaño apropiado, vertir un poco de la cantidad indicada de glicerina y revolver, vaciar cerca de un tercio de la mezcla en un frasco, añadir más glicerina y continuar revolviendo, repetir hasta que la mayor parte del polvo se halla mezclado con la glicerina y trasferirlo al frasco. Limpiar residuos del mortero con 20 a 30ml. de metanol y trasferirlo al frasco, tape el frasco con un tapón de algodón, cubra este con papel grueso y asegúrelo con una banda de hule. Coloque el frasco en baño maría a 55 – 60°c por 2 horas, agite suavemente en intervalo de ½ hora, añadir el resto de metanol, trasferirlo a una botella de tapón hermético, dejándolo enfriar, luego se Incuba a una temperatura de 37°c por 5 días y luego se filtra con una capa delgada de algodón

Solución de trabajo al 1/20 :

1 ml. de solución madre + 19 ml. de agua destilada.

Procedimiento de la tinción de Giemsa:

En un porta objeto se coloca una gota de solución salina, una asa previamente se esteriliza con la flama del mechero, se extrae con esta una capa fina de gel donde se localizan trofozoitos y quistes de amebas para realizar un frotis, se deja secar a temperatura ambiente, una vez secado la muestra se fija en metanol al 99.5% durante 5 minutos, se extrae el porta objeto y se pone a decantar (escurrir), luego se agrega Giemsa durante 20 minutos, transcurrido los 20 minutos se lava con agua del grifo, se deja secar para finalmente observarla al microscopio.



Sueros utilizados:

Grupo 1: Shiguella A1 (type 1-5)

Antisuero 5 ml.

Mertiolato 1:10000 BSA 1:20

Almacenar a $+ 2 - + 8^{\circ}\text{c}$ prep. Nr = 4/85

Grupo 2 : Shiguella (type 6-10)

Antisuero 5 ml.

Mertiolato 1:10000 BSA 1:20

Almacenar a $+ 2 - + 6^{\circ}\text{c}$ prep. Nr = 3/95



Descripción del producto monofluor™ *Legionella pneumophila* ifa Test Kit.

Componentes	Contenidos	Preparación
R1- Reactivo colorante anti <i>Legionella pneumophila</i> un frasco cuentagotas 1.3 ml	- anticuerpos monoclonales anti <i>Legionella</i> marcado con fitc. - coloración de contraste. - ácido de sodio. - tampón estabilizado con proteínas.	Listo para usar
C1- Suspensión de antígeno de control positiva un frasco cuentagotas 2.0 ml	- <i>Legionella pneumophila</i> muertas. - solución fisiológicas tamponadas. - ácido desoxidado.	Agítese antes de usar
R2- Medio de montaje un frasco cuentagotas 4.0 ml	- glicerol tamponado. - estabilizador de fluorescencia	Listo para usar
R3- portaobjeto para microscopio de fluorescencia 12 (2 pozos cada uno)	- porta objeto para microscopio de fluorescencia.	Limpie con un paño sin pelusa antes de usar

Los reactivos deben mantenerse de 2 - 8°C y los porta objetos de 2 – 28°C.



Preparación del PBS:

Agua destilada	1000ml
Cloruro de sodio (NaCl)	8.0 gr
Cloruro de potasio (KCl)	0.2 gr
Hidrógeno fosfato de sodio ($\text{Na}_2\text{Hpo}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$)	1.44 gr
Hidrógeno fosfato de potasio (KH_2Po_4)	0.2 gr

Se toman 200 ml de esta solución y se diluyen en 800 ml de agua destilada, este PBS sirve para toda prueba.

Conjugado diluido:

100ml de PBS + 2ml de azul de evans (comercial)

Azul de evans (comercial) 0.5 % en fosfato, Buffed salina con ácido de sodio 0.1 % ; Sigma diagnostics USA.

Para *Shiguella* y *Salmonella* 1/30 antirabit

5 micro litro de antirabit + 145 micro litro de azul de evans .

Para anti *Helicobacter*

5 micro litro de anti *Helicobacter* + 45 de azul de evans .

Para anti *Legionella* 7 micro litro (comercial)



Ficha de recolección de información

Nombre del estudio:

Prevalencia de las amebas de vida libre en agua de consumo y utilidad humana en la comunidad de Troilo 2002-2003.

Troilo :

Nombre del propietario de la casa: _____

Tipo de agua de consumo:

1-pozo()

2-filtro()