

Primer registro de amibas de vida libre en el balneario natural "Hierve el Agua" en el municipio de San Lorenzo Albarradas, estado de Oaxaca.

Gallegos Neyra Elvia Manuela¹, Álvarez Barrientos Jessica Lizbeth¹, Mayen Estrada Rosaura², Vargas Arzola Jaime³, Mendoza Romero María Jimena¹ y Corona Arzola Armando Daniel.¹

¹Laboratorio de Patógenos Emergentes, Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE), Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Av. de los Barrios, No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México, México. C.P. 54090.

²Departamento de Biología Comparada del Laboratorio de Protozoología de la Facultad de Ciencias, UNAM. Av. Universidad 3000, Circuito Exterior S/N, Delegación Coyoacán, CDMX. C. P. 04510.

³Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, Laboratorio 10 y 11. Av. San Manuel, Senda Química, Cd. Universitaria, Oaxaca, Oax. C.P. 72570.

RESUMEN

Las amibas de vida libre (AVL) son protozoos de gran importancia ecológica y médica, debido a que algunas AVL tienen la capacidad de convertirse en parásitos oportunistas o ser reservorios de microorganismos patógenos. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia de AVL en un balneario turístico natural llamado "Hierve el Agua", en Oaxaca, México. Cuarenta muestras fueron colectadas de cuatro biotopos diferentes (agua, biopelícula adherida, biopelícula flotante y sedimento), durante las temporadas de lluvia y sequía, en ambas épocas del año, así como en todos los cuerpos de agua se encontraron AVL. Se registraron los parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua *in situ*: temperatura, pH y conductividad. Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Investigación en Patógenos Emergentes de la UIICSE, FES-Iztacala, UNAM. Se identificaron los aislados amibianos por medio de sus características morfológicas, usando diferentes claves taxonómicas. Del total de las 40 muestras analizadas se aislaron 19 especies distribuidas en nueve géneros: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Thecamoeba*, *Vanella*, *Vahlkampfia*, *Echinamoeba*, *Vermamoeba*, *Rosculus* y *Saccamoeba*. Cabe mencionar que ocho especies pertenecientes al género *Acanthamoeba* (*A. astronyxis*, *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. griffinii*, *A. palestinensis*, *A. polyphaga*, *A. rhyssodes* y *A. triangularis*) identificados, han sido reportados en la literatura como posibles patógenos. Todos los valores de los parámetros fisicoquímicos del agua obtenidos de cuatro cuerpos de agua diferentes, no presentaron gran diferencia entre sí, y estos valores están dentro de los niveles adecuados en los cuales las AVL pueden sobrevivir. A pesar de que se encontraron algunas especies nuevas en la época de seca con respecto a la época de lluvia, el índice de Jaccard indicó que no hubo diferencias significativas entre ambos muestreos en cuanto a la riqueza específica de AVL. El análisis bacteriológico (coliformes fecales totales y NMP) indicó que los cuerpos de agua de este balneario natural tienen una buena calidad bacteriológica y la contaminación por materia fecal es casi nula, por lo que este sistema es considerado adecuado para su uso recreacional, según la NOM-245-SSA1-2010. Sin embargo, la presencia de especies del género *Acanthamoeba* antes mencionadas hace necesario un estudio más detallado para determinar si estas especies tienen un potencial patógeno. En el presente estudio se registra por primera vez la presencia de amibas de vida libre en el balneario "Hierve el Agua", en el estado de Oaxaca.

Palabras clave: Amibas de Vida Libre (AVL), protozoos, aguas recreativas, *Acanthamoeba*

ABSTRACT

Free-living amoebae (FLA) are protozoa with a great ecological and medical importance, because some FLA have the capacity to become opportunistic parasites or be reservoirs of pathogenic microorganisms. For this reason, the main goal of this study was to determine the presence of FLA in a natural tourist resort called "Hierve el Agua", in Oaxaca, Mexico. Forty samples were collected from four different biotopes (water, adhered biofilms, floating biofilms and sediment) during the rainy and dry season, in both times of the year. In every single water body FLA were found. The physicochemical parameters of the water samples were recorded *in situ*: temperature, pH and conductivity. The samples were analyzed in the Emerging Pathogen Research Laboratory of the UIICSE, FES-Iztacala, UNAM. Amebic isolates were identified by their morphological characteristics, using different taxonomic keys. From the total of the 40 samples analyzed, 19 identified species were distributed in nine genera: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Thecamoeba*, *Vanella*, *Vahlkampfia*, *Echinamoeba*, *Vermamoeba*, *Rosculus* and *Saccamoeba*. It should be mentioned that eight species belonging to the genus *Acanthamoeba* (*A. astronyxis*, *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. griffinii*, *A. palestinensis*, *A. polyphaga*, *A. rhyssodes* and *A. triangularis*) which were isolated in the amebic isolates, have been reported to possess a pathogenic potential in the literature. All the values of the physicochemical parameters, which were measured in four distinct water bodies, did not show great difference between them, and these were within the range in which the FLA can survive. Although some new species were found in the dry season with respect to the rainy season, the Jaccard index indicated that there were no significant differences between the two sample seasons in terms of the specific richness of FLA. The bacteriological analysis (fecal coliforms and MPN) indicated that the water bodies have a good bacteriological quality and contamination by fecal matter is almost null, that is why this system is considered suitable for recreational use, according to the NOM- 245-SSA1-2010. However, the presence of *Acanthamoeba* species mentioned above requires a more detailed study to determine if these species have a true pathogenic potential. This is the first report of free-living amoebae in the natural tourist resort "Hierve el Agua", in the state of Oaxaca.

Keywords: Free living amoeba (FLA), protozoa, recreational waters, *Acanthamoeba*

INTRODUCCIÓN

Las amibas de vida libre (AVL) son un grupo de protozoos de gran importancia ecológica y médica, y tienen una distribución cosmopolita. Son habitantes comunes del suelo y de ambientes acuáticos como: estanques, lagos, ríos, estuarios, corrientes subterráneas e incluso agua potable (Ghadar y col., 2012; Mahittikorn y col., 2017). En el agua, las amibas tienen una función fundamental en el flujo energético y en el reciclado de los nutrientes. Contribuyen a controlar el número y la diversidad de especies microbianas en su fase trófica y al pasar a su estado quístico, pueden ser diseminados a través del viento (Khan y col., 2000; Saburi y col., 2017).

Algunas amibas pueden aislarse de biopelículas, las cuales se forman mediante la secreción de polisacáridos de las bacterias en el medio. Estas se pueden desarrollar en sustratos sólidos en contacto con el agua (biopelícula fija) o en la interfase aire-agua (biopelícula flotante), lo que permite a las amibas interactuar con una gran cantidad de microorganismos (Khan 2000; Hsu y col., 2011). Algunas bacterias patógenas (*Legionella pneumophila*, *Helicobacter pylori*, *Vibrio cholerae*, etc.) pueden beneficiarse de las interacciones con las AVL, ya que algunas tienen la capacidad de resistir la digestión intracelular, permitiendo su reproducción dentro de la amiba, además de usarla también como medio de dispersión a otros ambientes en su forma trófica o de latencia cuando la amiba se enquista (Astorga y col., 2011).

Entre todas las especies de AVL conocidas hasta ahora, solo un grupo muy restringido puede comportarse como

parásitos oportunistas y facultativos que pueden causar infecciones en humanos y otros animales, entre los que se incluyen los géneros: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia* y *Sappinia* (Trabelsi y col., 2012; Visvesvara (2013); Fabres y col., 2016). Estos organismos pueden causar enfermedades en el sistema nervioso central (SNC), como la encefalitis amibiana granulomatosa (EAG), la meningoencefalitis amibiana primaria (MEAP), así como infecciones en piel y ojos. (Garaycochea y col., 2008; Karamati y col., 2016). Las especies con potencial patógeno son termotolerantes y se observan con mayor frecuencia en cuerpos de agua con temperaturas superiores a 25 °C, como las aguas naturales de los trópicos y sub-trópicos. La mayoría de ellos casos se han asociado con la natación en cuerpos de agua con presencia de AVL potencialmente patógenas (Montalbano y col., 2017).

En México, los primeros estudios sobre AVL en diversas fuentes de agua comenzaron con los trabajos de Rivera y colaboradores en 1978, donde analizaron muestras de piscinas, agua de grifo y reservorios naturales de agua dulce de la Ciudad de México, encontrando gran diversidad de AVL.

Los sistemas de agua naturales han sido poco estudiados, en 1997 Gallegos realizó un estudio sobre amibas de vida libre en la Huasteca Potosina en el estado de San Luis Potosí, donde aisló seis géneros: *Acanthamoeba*, *Echinamoeba*, *Vermamoeba*, *Naegleria*, *Vahlkampfia* y *Willaertia*, relacionando su presencia con algunos parámetros ambientales. Concluyendo que la temperatura del agua y la cantidad de materia orgánica fueron los parámetros

que más influyeron sobre el crecimiento y distribución de las amibas en el lugar. Otro estudio en cuerpos de agua fue realizado por Lares–Jiménez y Lares-Villa (2009), donde aislaron e identificaron en cuerpos de agua de uso recreativo en Hermosillo, Sonora, cinco géneros de AVL, cuyas frecuencias fueron: *Acanthamoeba* (48 %), *Vermamoeba* (41 %), *Willaertia* (3.6 %) *Platyamoeba* (3.6 %) y *Naegleria* (3.6 %). Como puede observarse, uno de los géneros más frecuentes en estos estudios fue *Acanthamoeba*, el cual, como antes se mencionó, posee especies con potencial patógeno.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio es contribuir al conocimiento de la presencia y distribución de las AVL en el balneario natural “Hierve el agua” a través de su identificación morfológica y de las condiciones fisicoquímicas del agua del sistema donde fueron aisladas y determinar si los usuarios están en contacto directo con especies de AVL que

se han reportado con potencial patógeno, siendo el primer reporte de amibas de vida libre en este lugar.

ÁREA DE ESTUDIO

Las cascadas de “Hierve el Agua” se encuentran ubicadas a 70 km al este de la ciudad de Oaxaca, México a 16° 51' 56.43" N y 96° 16' 32.43" O, en la población de San Isidro Roaguía en el Municipio de San Lorenzo Albarradas en el distrito de Tlacolula, a una altitud de 1720 msnm. Estas cascadas son conocidas como “cascadas de sal” o “cascadas petrificadas” y están formadas por agua sobresaturada con Ca_2CO_3 , que brota de pequeñas grietas que forman manantiales de agua. Cuando el agua se drena en la caída con más de 200 metros, forman una gran estalactita como las que se encuentran en cuevas. Cada año, muchos extranjeros y locales visitan el lugar para realizar actividades recreativas y de curación tradicional (INAFED, 2002) (Fig.1).



Figura 1. Localización de las cascadas de “Hierve el agua” en el estado de Oaxaca, así como la ubicación de los cuatro cuerpos de agua muestreados (Google earth, 2019)-

METODOLOGÍA

Se realizaron dos muestreos en el centro ecoturístico “Hierve el Agua”, el primer muestreo se realizó durante el mes de septiembre del 2013 y el segundo a finales de abril del 2014. Se tomaron un total de 40 muestras de agua, de las cuales 20 pertenecen al primer muestreo y las restantes al segundo muestreo. Estas muestras se obtuvieron de los cuatro cuerpos de agua (pozas), cada uno con diferentes tipos de muestras: a) Biopelícula flotante (recolección manual); b) Biopelícula adherida (recolectado por raspado de la superficie de la pared interna de las rocas); c) Sedimento (recolección manual); d) Mixta (mezcla entre el agua de la superficie, desde el

fondo y desde la profundidad media) (recolección manual). El muestreo se llevó a cabo en tubos de polipropileno estériles de 50 mL y botellas de 1,000 mL. Para determinar las condiciones fisicoquímicas en la que se encuentran las AVL se realizaron las siguientes mediciones *in situ*: temperatura del agua (°C) obtenida con un termómetro digital HANA © modelo H19040, pH y conductividad (mS/cm) obtenidos con un potenciómetro pH/EC/TDS. Instrumentos HANA ©, modelo HI98130. Las muestras de agua se transportaron al Laboratorio de Investigación en Patógenos Emergentes de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria de Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE) de la UNAM,

	Muestreo 1 (época de lluvias)	Muestreo 2 (época de sequía)
Especies de AVL	<i>Acanthamoeba</i> sp.	<i>Acanthamoeba</i> sp.
	<i>Acanthamoeba astronyxis</i> *	<i>Acanthamoeba astronyxis</i> *
	<i>Acanthamoeba castellanii</i> *	<i>Acanthamoeba castellanii</i> *
	<i>Acanthamoeba culbertsoni</i> *	<i>Acanthamoeba culbertsoni</i> *
	-	<i>Acanthamoeba griffini</i> *
	<i>Acanthamoeba palestinensis</i> *	<i>Acanthamoeba palestinensis</i> *
	<i>Acanthamoeba polyphaga</i> *	<i>Acanthamoeba polyphaga</i> *
	<i>Acanthamoeba rhyodes</i> *	<i>Acanthamoeba 30 es</i> *
	<i>Acanthamoeba triangularis</i> *	<i>Acanthamoeba triangularis</i> *
	-	<i>Echinamoeba</i> sp.
	<i>Naegleria</i> sp.	<i>Naegleria</i> sp.
	<i>Naegleria gruberi</i>	<i>Naegleria gruberi</i>
	-	<i>Rosculus ithacus</i>
	<i>Thecamoeba</i> sp.	<i>Saccamoeba</i> sp.
	-	<i>Thecamoeba</i> sp.
	<i>Vannella simplex</i>	<i>Vannella platypodia</i>
-	<i>Vannella simplex</i>	
<i>Vahlkampfia</i> sp	<i>Vahlkampfia</i> sp.	
-	<i>Vermamoeba</i> sp.	

Cuadro 1. Especies aisladas de AVL en las dos épocas del año (lluvias y sequía), en ambos periodos el género *Acanthamoeba* fue predominante. Se observa un incremento en el número de especies en la época de sequía. Las ocho especies marcadas con (*) son aquellas donde estudios previos han demostrado su potencial patógeno en humanos. Las especies no presentes de AVL se marcaron de esta forma (-).

FES-Iztacala y se mantuvieron a temperatura ambiente para su posterior procesamiento. De cada muestra de agua, biopelícula y sedimento, se tomaron 50 mL y se concentraron por centrifugación a 1,000 Xg durante 10 minutos (centrífuga Boeco-U32) (De Jonckheere, 1979). El sobrenadante se decantó hasta un volumen final de 0.5 mL aproximadamente y el sedimento se re-suspendió y se sembró en una caja de Petri con agar no nutritivo (NNE) con una capa de *Enterobacter aerogenes* inactivada previamente por calor. La observación de las placas se realizó 24 h después de su inoculación con un microscopio invertido de contraste de fases Nikon © Eclipse TS100. En las placas de Petri con crecimiento amibiano, se marcó el área de mayor abundancia y se cortó aproximadamente una pieza de agar de 5 mm², y luego se transfirió a otra placa. Después de 24 horas en la incubadora a 37 °C, los trofozoítos se seleccionaron e inocularon en otra placa tantas veces como fue necesario para finalmente aislar y separar por morfotipo las diferentes especies amibianas presentes en las muestras (De Jonckheere, 1979).

La identificación de los aislados amibianos se llevó a cabo utilizando los criterios morfológicos del quiste y de trofozoíto mediante las claves taxonómicas y el atlas de amibas de vida libre elaborado por

Page (1988) Pussard y Pons (1977) y Siemensma (2019). Para la observación de los organismos, las muestras se tomaron mediante la adición de unas gotas de solución de Page a las cajas con medio y luego se hizo un raspado y enjuague, posteriormente se colocó una gota de esta solución en un portaobjetos. Se realizó un registro fotográfico con una cámara Nikon © Coolpix 9, utilizando el microscopio con amplificación de 100, 200 y 400X.

Se utilizó el Índice de Jaccard para medir el grado de similitud entre los cuerpos de agua, así como entre las dos temporadas (lluvia y sequía) (Chao *et al.*, 2004).

También se realizó un análisis de medición de coliformes fecales totales en cada sitio de muestreo por medio del Número más Probable (NMP) (APHA, 2015).

RESULTADOS

Durante el primer muestreo (época de lluvia), el 90 % de las muestras (20 muestras) fueron positivas para amibas de vida libre; se identificaron 12 especies distribuidas en cinco géneros; por otro lado, en el segundo muestreo (época de sequía) en el 65 % (20 muestras) de las muestras positivas se identificaron 19 especies pertenecientes a nueve géneros, las cuáles se muestran en el Cuadro 1.

Los valores registrados para los parámetros fisicoquímicos del agua coincidieron con los valores reportados como óptimos para la supervivencia de las AVL en el ambiente. Durante el primer muestreo el valor promedio de pH (7.7) fue más elevado en comparación con el

9.4 $\mu\text{S}/\text{cm}$, siendo más elevado en la época de sequía (9.8 $\mu\text{S}/\text{cm}$), como se observa en el Cuadro 2.

De acuerdo con el índice de Jaccard para el primer muestreo el valor más alto (1) se obtuvo para las muestras 1d, 3aI y 4 all,

Cuerpo de agua	pH		Temperatura (°C)		Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 1	Muestreo 2
1	7.2	6.1	24.9	28.1	9.9	10.6
2	7.8	6.6	23.0	24.4	9.1	9.5
3	8.4	6.2	22.2	24.6	9.1	8.6
4	7.3	6.5	23.4	24.2	9.4	10.4

Cuadro 2. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos registrados en los cuatro cuerpos de agua (n=40). Todos los parámetros se encontraron dentro del ámbito en el cual las AVL pueden desarrollarse.

segundo muestreo (6.3), mientras que el valor promedio de la temperatura del agua para el primer muestreo fue de 23.3° C y para el segundo fue de 25.3° C. En cuanto a la conductividad, el valor promedio para el primer muestreo fue de

la primera se refiere a la muestra mixta de agua, mientras que las dos últimas pertenecen a biopelículas y para las muestras 2aII, 2b y 4d también correspondieron a biopelículas y muestra mixta de agua respectivamente.

Como puede observarse, en ambas muestras se involucra la presencia de biopelícula y la muestra mixta de agua, ya que al ser cuerpos de agua con poca profundidad, el viento y el agua tienen un impacto en este sistema favoreciendo una

mezcla de la columna de agua, lo que puede llevar a que haya una interacción del agua superficial (biopelículas) y de la columna del agua provocando que todas las amibas se encuentren en todo el cuerpo de agua y de esta forma en todas las muestras (Fig.2).

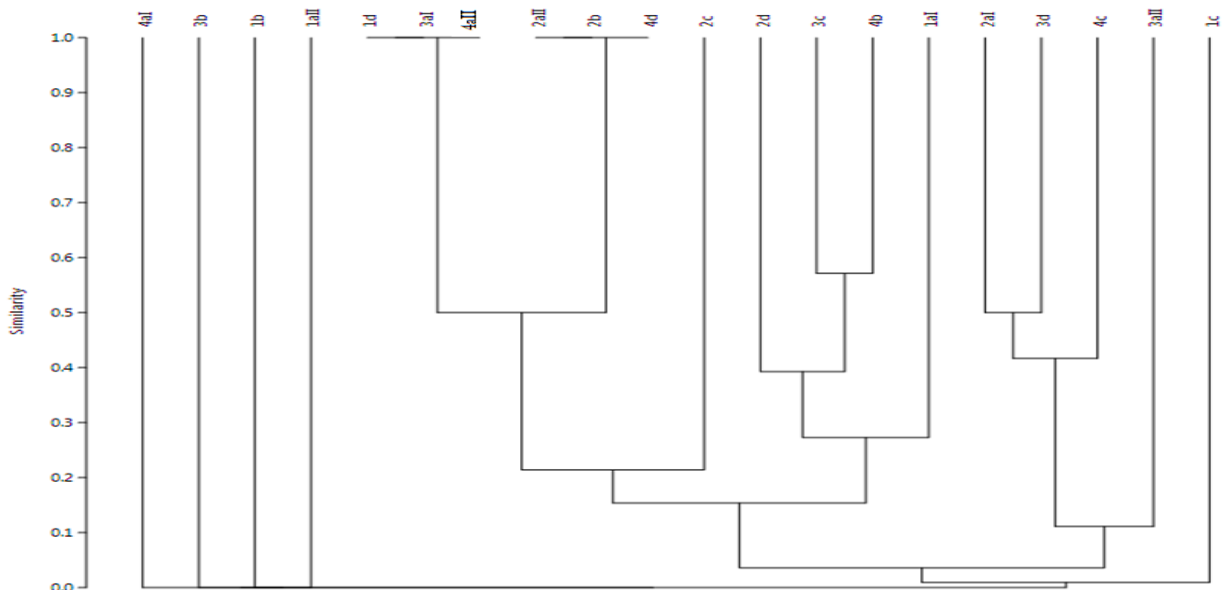


Figura 2. Similitud de la riqueza de especies amibianas entre cada muestra durante la época de lluvia.

Al no encontrarse una gran diferencia entre los valores de los parámetros fisicoquímicos de cada estación de muestreo, no se puede relacionar esta similitud con los valores antes mencionados.

Durante el segundo muestreo (Fig.3) los valores de similitud fluctuaron en 0.1 y 0.7 entre las muestras, esto podría deberse a que el muestreo se efectuó durante época de sequía lo que llevó a que el agua

estuviera confinada, acumulándose materia orgánica, condición que favoreció la formación de biopelículas en donde las AVL encuentran las condiciones óptimas para su desarrollo, además de que la falta de corriente provocaría una estabilidad entre cada bioma, pudiendo ocasionar que no haya interacción entre estas y por lo tanto que no todas las especies amibianas se encuentren en todas las muestras.

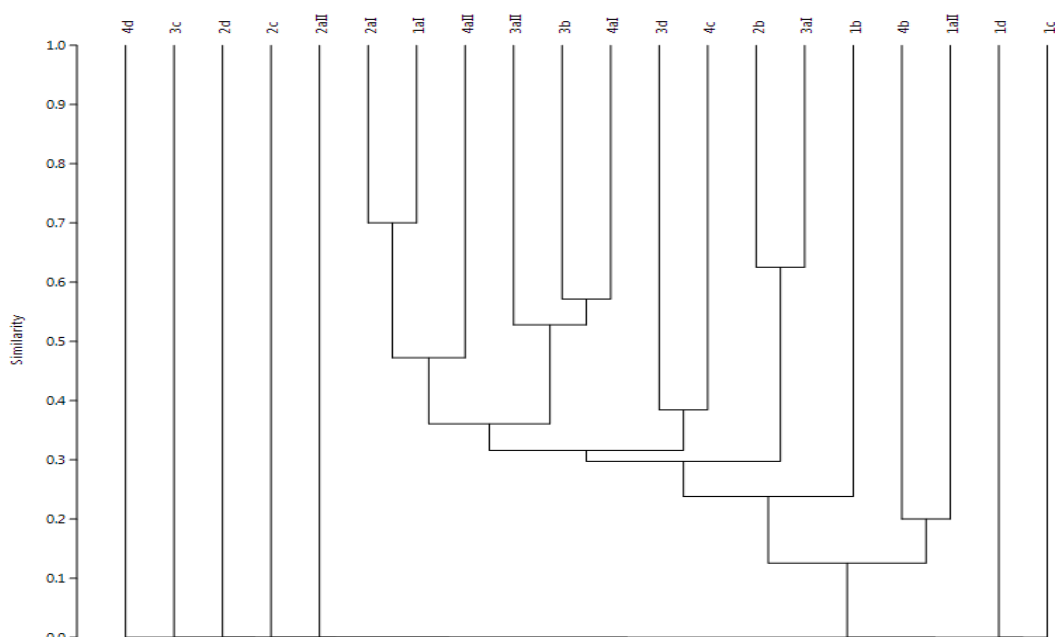


Figura 3. Similitud de la riqueza de especies amibianas entre cada muestra durante la época de sequía.

Para estimar si existía una temporalidad marcada durante los dos muestreos realizados, se efectuó un análisis con el índice de similitud de Jaccard. Como puede observarse en la Figura 4, existe una tendencia de agrupación en las muestras de cada temporada, por lo que no se ve marcada una diferencia entre ambos muestreos en cuanto a la presencia de las amibas. Esto podría deberse que, al ser cuerpos de agua

constantemente alimentados por agua subterránea, no se ven totalmente afectados por el cambio entre temporadas, lo que se podría asociar también con la gran similitud entre los valores fisicoquímicos medidos durante el estudio. A partir del análisis de medición de coliformes fecales totales en cada sitio de muestreo se obtuvo un promedio de 1 NMP (número más probable) para ambas épocas del año.

El género *Acanthamoeba* fue el más predominante en este estudio, su elevada frecuencia de aparición de estos organismos en los diferentes puntos de muestreo para ambas temporadas (lluvia y sequía) pudo ser debido al carácter cosmopolita de estos, el cual incluye un amplio ámbito de nichos ecológicos que comparten con los seres humanos, además de la elevada resistencia de los quistes, los cuales pueden sobrevivir por varios años en condiciones de sequía, baja o elevada temperatura, biocidas, etc. (Warhust, 1985; Bonilla y col., 2010). Es importante mencionar que, siguiendo la clasificación morfológica, las especies identificadas del género *Acanthamoeba* en este estudio, han sido reportadas en la

literatura como patógenas, debido que pueden provocar patologías tales como queratitis amibiana (QA) y encefalitis amibiana granulomatosa (EAG) o acantamebiosis cutánea (AC). Además de que los aislados de *Acanthamoeba* spp. (Fig. 5) crecieron a 37 °C por lo que podrían ser capaces de infectar humanos debido a la termotolerancia que presentaron, la cual es una condición necesaria para la patogenicidad, sin embargo, no todas las amibas termotolerantes son patógenas. De esta forma para asegurar la patogenicidad de los aislados, es necesario someter estas muestras a análisis moleculares para determinar su potencial patógeno (Marciano-Cabral y Cabral, 2003).

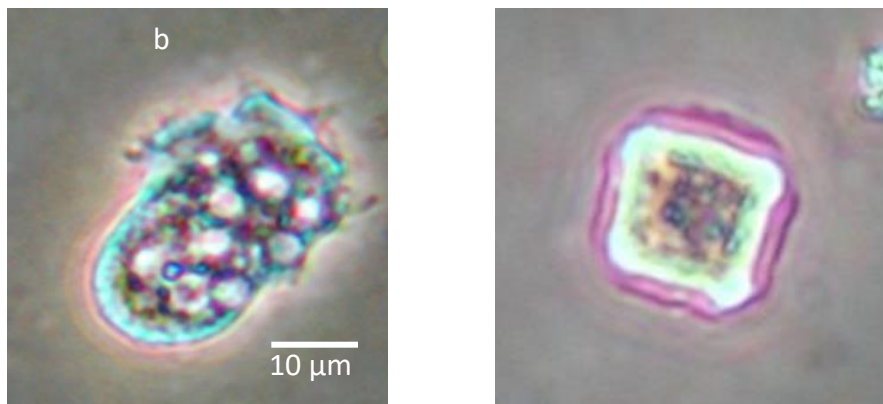


Figura 1. Trofozoíto y quiste de *Acanthamoeba polyphaga* (a y b) 40X. Asociada a casos de queratitis en humanos. Fotografía propiedad del laboratorio de investigación en patógenos emergentes, FESI-UNAM.

Por otra parte, los valores de los parámetros fisicoquímicos de los diferentes puntos de muestreo en ambas temporadas no fueron muy diferentes entre sí, con lo cual no se podría establecer una relación determinante entre los valores obtenidos y la presencia o ausencia de AVL. Por ejemplo, los valores de conductividad no tuvieron una diferencia significativa en los diferentes muestreos y dado que las amibas de vida libre tienen una amplia tolerancia a este parámetro, incluso en la fase trófica), no se considera un factor que tengan gran impacto en la riqueza y distribución de las especies amibianas (Rivera y col., 1994; Rodríguez-Zaragoza, 1994). El índice de similitud de Jaccard no mostró una diferencia significativa entre la temporada sequía y de lluvia en cuanto a la presencia de las amibas, esto podría deberse a que los cuerpos de agua son constantemente alimentados por la misma agua subterránea y no se ven totalmente afectados por el cambio entre temporadas, lo que se complementa también con la gran similitud ente los parámetros

físicos-químicos del agua medidos durante el estudio. El análisis de coliformes fecales totales indicó que los cuerpos de agua tienen una buena calidad y la contaminación por materia fecal es casi nula y adecuada para el uso recreativo, según la NOM-245-SSA1-2010, la cual regula los requerimientos sanitarios y la calidad del agua que las albercas (incluyendo balnearios naturales) deben cumplir, sin embargo, organismos como *Acanthamoeba* deberían estar ausentes. Pero debido a que este es un sistema natural, no se puede realizar una desinfección química, puesto que esto generaría un desequilibrio ecológico, por lo que solo se deben tomar medidas de precaución como evitar el uso de lentes de contacto al estar dentro del agua, no ingresar en las pozas con algún tipo de herida, ya que podrían favorecer el ingreso de estas AVL potencialmente patógenas al cuerpo.

CONCLUSIONES

Se aislaron un total de 19 especies de AVL pertenecientes a nueve géneros: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Thecamoeba*, *Vanella*, *Vahlkampfia*, *Echinamoeba*, *Vermamoeba*, *Rosculus* y *Saccamoeba*. El género que se aisló con más frecuencia fue *Acanthamoeba*, ya que estuvo presente en todos los sitios de muestreo en ambas temporadas, se identificaron un total de ocho especies (*Acanthamoeba astronyxis*, *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. griffinii*, *A. palestinensis*, *A. polyphaga*, *A. rhyodes* y *A. triangularis*), las cuales han sido reportadas en trabajos previos como organismos patógenos para humanos, siendo el primer registro de este tipo para el balneario. La mayor presencia de amibas se encontró en las biopelículas adheridas para ambas épocas del año. No se observaron variaciones significativas en las condiciones ambientales, las cuales se encuentran en el ámbito dentro del cual las AVL pueden desarrollarse, a pesar de que se encontraron algunas especies nuevas en la época de seca con respecto a la época de lluvia, el índice de Jaccard indicó que no hubo diferencias significativas entre ambos muestreos en cuanto a la riqueza específica de AVL. El análisis bacteriológico (coliformes fecales totales y NMP) indicó que los cuerpos de agua de este balneario natural tienen una buena calidad y la contaminación por materia fecal es casi nula, por lo que este sistema es adecuado para su uso recreativo, según la NOM-245-SSA1-2010, sin embargo, la presencia de especies del género *Acanthamoeba* antes mencionadas, hace necesario un estudio más detallado para determinar si estas especies tienen un verdadero potencial patógeno de acuerdo con pruebas de patogenicidad y moleculares (PCR). Por lo que se debería alentar a los visitantes a tomar las medidas preventivas adecuadas para evitar posibles infecciones por *Acanthamoeba* spp. y de esta forma que los visitantes puedan seguir disfrutando de este sitio con seguridad.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo recibió financiamiento por parte del “Programa de Apoyo para la Superación del Personal Académico de la UNAM (PASPA) 2013-2014”. Agradecemos especialmente a la “Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), UNAM”.

LITERATURA CITADA

APHA. 2005. Standard Methods for the examination of water and wastewaters, 21th edition, American Public Health Association, Washintong.

Astorga, B.; J. Lorenzo-Morales; C. Martin-Navarro; V. Alarcon; J. Moreno; A. González; E. Narvarte; J. Piñero & B. Valladares. 2011. *Acanthamoeba* belonging to T3, T4 and T11: Genotypes isolated from air conditioning units in Santiago, Chile. *J. Eukaryot. Microbiol.* 58 (6): 542-544.

Bonilla-Lemus, P.; G. Ramírez-Bautista; C. Zamora-Muñoz; R. Ibarra-Montes; E. Ramírez-Flores & M. Hernández-Martínez. 2010. *Acanthamoeba* spp. in domestic tap water in houses of contact lens wearers in the metropolitan area of Mexico City. *Exp. Parasitol.* 126: 54-58.

Chang, W.; Y. Wu & K. Ming. 2010. Evaluation of real-time PCR methods for quantification of *Acanthamoeba* in anthropogenic water and biofilms. *J. Appl. Microbiol.* 109: 799–807.

Chao, A., Chazdon, R., Colwell, R., y Shen, T. 2004. Un nuevo método estadístico para la similitud de especies con datos de incidencia y abundancia. *Ecology Letters* (2004), 8: 148-159.

CONAGUA. 2014. Disponible en: <http://smn.cna.gob.mx/>. (Acceso: noviembre 2015)

De Jonkheere, J. F. 1979. Studies on pathogenic free-living amoebae in swimming pools. *Bull Inst Pasteur.* 77: 385-392.

Fabres, L.; S. Rosa Dos Santos; L. Benitez & M. Rott. 2016. Isolation and identification of *Acanthamoeba* spp. from thermal swimming pools and spas in Southern Brazil. *Acta Parasitol.* 2: 221-227.

Gallegos, E. M. 1997. Amibas de Vida Libre Potencialmente Patógenas en Cuerpos de Uso de Agua Recreativo en el Estado San Luis Potosí. Tesis Doctoral en Ciencias (Biología). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 130 pp.

Garaycochea, M.; M. Beltrán & C. Morón. 2008. Patogenicidad de las amibas de vida libre aisladas de fuentes de agua en lima. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública.* 2: 204-207.

Ghadar, G.; K. Solhjoo; M. Norouz-nejad; R. Rohi & S. Zia-Jahromi. 2012. Isolation and identification of free living amoeba (*Naegleria* and *Acanthamoeba*) in Shiraz water resources by morphological criteria. *J. Jahrom Univ. Med. Sci.* 3: 33-42.

Greub, G & D. Raoult. 2004. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin. Microbiol. Rev.* 17(2): 413-433.

Google Earth. 2019. Disponible en: <https://earth.google.com/web/@16.8656523,-96.27560223,1713.58494152a,169.74199489d,35y,76.16723532h,44.99468487t,0r/data=ChQaEg oKL20vMDJwa2ZmchgBIAEoAg> (Acceso abril 2019)

Hsu, B.; C. Huang; J. Chen; N. Chen & Huang. 2011. Comparison of potentially pathogenic free-living amoeba hosts by *Legionella* spp. in substrate-associated biofilms and floating biofilms from spring environments. *Water Res.* 45: 5171-5183.

INAFED (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal), Gobierno del Estado de Oaxaca, 2002. Disponible en: http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM_Oaxaca. (Acceso: agosto 2014).

Karamati, S.; M. Niyyati; J. Lorenzo-Morales & Z. Lasjerdi. 2016. Isolation and molecular characterization of *Acanthamoeba* genotypes isolated from soli sources of public and recreational areas in Iran. *Acta Parasitol.* 4: 784-789.

Khan, N.; E. Jarroll; N. Panjwani; Z. Cao & T. Paget. 2000. Proteases as markers for differentiation of pathogenic and nonpathogenic species of *Acanthamoeba*. *J. Microbiol.* 8: 2858–2861.

Kokare, C.; S. Chakraborty; A. Khopade & K. Mahadik. 2009. Biofilm: Importance and applications. *Indian J. of Biotech.* 8: 159-168.

Lares- Jimenez, L. y Lares- Villa, F. 2009. Aislamiento de amibas de vida libre en aguas superficiales del Valle del Mayo, Sonora. *Rev. Lat. De Rec. Nat.* 5 (2): 161-197.

Mahittikorn, A.; T. Kittichathanakul; J. To-Im J. & D. Nacapunchai. 2017. Knowledge, behavior, and free-living amoeba contamination of cosmetic contact lens among university wearers in Thailand: A cross-sectional study. *Eye & Contact Lens.* 2: 81-88.

Marciano, F. & G. Cabral. 2003. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin. Microbiol. Rev.* 16 (2): 273–307

Montalbano Di Filippo, M; A. Novelleto; D. Di Cave & F. Berrilli 2017. Identification and phylogenetic position of *Naegleria* spp. from geothermal springs in Italy. *Exp Parasitol.* 183: 143-149.

Norma Oficial Mexicana NOM-245-SSA1-2010, requisitos sanitarios y calidad del agua que deben cumplir las albercas. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5256066&fecha=25/06/2012 (Accesos: Junio 2012).

Page, F. C. 1988. A new key to freshwater and Soil Gymnamoebae. *Freshwater Biological Association. Cumbria, England.* 122 pp.

Pussard, M. & R. Pons. 1977. Morphologies de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida). *Protistol.* 13: 557-598.

Ramírez, E.; E. Robles; M. Sainz; R. Ayala & E. Campoy. 2009. Calidad microbiológica del cuífero de Zacatepec, Morelos, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25: 247-255.

Rivera, F.; P. Bonilla; E. Ramíre; A. Calderón; S. Rodríguez; R. Ortiz; D. Hernández & V. Rivera. 1994. Seasonal distribution of air-borne pathogenic and free-living amoebae in México City and its suburbs. *Water Air Soil Poll.* 74: 65-87.

Rodríguez-Zaragoza, S. 1994. Ecology of free-living amoebae. *Crit. Rev. Microbiol.* 20: 225–241.

Saburi, E.; T. Rajaii; A. Behdari; M. H. Kohansal & H. Vazini. 2017. Free-living amoebae in the water resources of Iran: a systematic review. *J. Parasit. Dis.* 4: 919-928.

Siemensma, F. 2019. Microworld world of ameboid organism. Disponible en: <https://www.arcella.nl/> (Acceso: abril 2019).

Thomas, V.; G. McDonnell; S. Denyer & J. Maillard. 2009. Free-living amoebae and their intracellular pathogenic microorganisms: risks for water quality. *FEMS Micro. Rev.* 34: 231-259.

Trabelsi, H.; F. Dendana; A. Sellami; H. Sellami; F. Cheikhrouhou; S. Nejj; F. Makni & A. Ayadi. 2012. Pathogenic free-living amoebae: Epidemiology and clinical review. Les amibes libres pathogenes: revue epidemiologique et clinique. *Path. Biol.* 60: 399–405.

Visvesvara, G. S. 2013. Infections with free-living amoebae. *Handb. Clin. Neurol.* 114: 153-68.

Warhust, D. 1985. Pathogenic free-living amoebae. *Parasitol.* To. 1: 24-28.

Fecha de recepción: 20 de enero de 2019
Fecha de aceptación: 25 de marzo de 2019