

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE AMEBAS DE VIDA LIBRE EN
PISCINAS DE CENTROS DE RECREACIÓN EN LOS DEPARTAMENTOS DE
GUATEMALA Y ESCUINTLA QUE SE ENCUENTRAN ALEDAÑOS A LA
CARRETERA INTERNACIONAL AL PACÍFICO CA-9 SUR**

SAMUEL MAZARIEGOS RODRÍGUEZ

MARCELA ARCELY GÓMEZ SANTOS

SUSAN ANDREA LÓPEZ JIMÉNEZ

ALLAN BERNANDO VÁSQUEZ ZAVALA

QUÍMICOS BIÓLOGOS

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2017

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE AMEBAS DE VIDA LIBRE EN
PISCINAS DE CENTROS DE RECREACIÓN EN LOS DEPARTAMENTOS DE
GUATEMALA Y ESCUINTLA QUE SE ENCUENTRAN ALEDAÑOS A LA
CARRETERA INTERNACIONAL AL PACÍFICO CA-9 SUR**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

SAMUEL MAZARIEGOS RODRÍGUEZ

MARCELA ARCELY GÓMEZ SANTOS

SUSAN ANDREA LÓPEZ JIMÉNEZ

ALLAN BERNANDO VÁSQUEZ ZAVALA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICOS BIÓLOGOS

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2017

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
M. A. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza	Secretaria
M. Sc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Andreina Delia Irene López Hernández	Vocal IV
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A Dios por habernos guiado a lo largo de nuestra carrera, por ser nuestra fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarnos una vida llena de aprendizajes, experiencia y sobre todo felicidad.

A nuestros padres por el apoyo en todo momento, por la oportunidad de tener una educación y sobre todo por un excelente ejemplo de vida a seguir.

A nuestro asesor y revisor por la confianza, apoyo, dedicación y por haber compartido sus conocimientos.

INDICE

I. Resumen	1
II. Ámbito de la investigación	2
III. Antecedentes	3
A. Amebas de vida libre	3
1. <i>Acanthamoeba</i> spp.	4
a. Epidemiología	4
2. <i>Naegleria</i>	5
a. Epidemiología	6
3. <i>Balamuthia</i>	7
a. Epidemiología	7
4. <i>Hartmanella</i>	8
B. Hábitat	9
C. Ciclo de vida	12
D. Mecanismos de infección y manifestaciones clínicas	13
1. Meningoencefalitis Amebiana Primaria (MEAP)	13
2. Encefalitis Amebiana Granulomatosa (EAG)	14
3. Queratitis Amebiana (QA)	14
4. Respuesta del hospedero de la infección	15
5. Mecanismos del parásito para contrarrestar la respuesta del hospedero	15
E. Profilaxis y control	16
F. Piscinas	17
1. Piscina recreativa	17
2. Piscinas reglamentarias	17
3. Tratamiento del agua de piscinas	18
a. Tratamiento físico del agua recreacional	18
i. Recirculación del agua	18

ii. Impulsión por bombeo	19
iii. Filtración	19
b. Tratamiento físico-microbiológico del agua recreacional	19
i. Desinfectantes	20
• Cloro	20
• Hipoclorito de calcio	20
• Algicidas	21
• Control de pH	21
• Alcalinidad	21
G. Riesgos al usar una piscina	22
1. Pureza microbiológica del agua recreacional	22
H. Área de estudio	23
I. Conceptualización del área de estudio	23
1. Municipio de Amatitlán, Guatemala	23
2. Municipio de Palín, Escuintla	24
3. Municipio de Masagua, Escuintla	25
IV. Justificación	27
V. Objetivos	28
A. General	28
B. Específicos	28
VI. Hipótesis	29
VII. Materiales y Métodos	30
A. Universo de trabajo	30
B. Muestra	30
C. Recursos	30
1. Humanos	30
2. Institucionales	31
3. Equipos de laboratorio	31

4. Materiales	31
5. Reactivos y Colorantes	32
6. Cepas	32
7. Medio de cultivo	32
D. Metodología	32
1. Selección de los sitios de muestreo	32
2. Toma de muestra	33
3. Análisis microbiológico	34
a. Fase presuntiva	34
b. Fase confirmatoria	34
4. Determinación de cloro y pH	35
5. Medición de temperatura ambiental	36
E. Diseño experimental	36
F. Diseño estadístico	36
VIII. Resultados	37
IX. Discusión	40
X. Conclusiones	43
XI. Recomendaciones	44
XII. Referencias	45

I. RESUMEN

En la actualidad se han reportado diversas enfermedades que son a causa de la calidad microbiológica del agua de las piscinas y se ha relacionado directamente con la transferencia de contaminantes y/o microorganismos.

Algunas de estas enfermedades son producidas por amebas de vida libre (AVL) y han sido estudiadas debido a que en algunas ocasiones causan enfermedades graves en el hombre. Entre las amebas de vida libre se pueden mencionar a *Acanthamoeba* spp., *Naegleria* spp., *Balamuthia* y *Hartmanella*. Las especies patógenas se observan más frecuentemente en cuerpos de agua con temperaturas mayores a los 30° C. En climas templados y fríos las amebas patógenas proliferan mejor durante los meses más cálidos, lo que conlleva a pensar en un patrón estacional.

En éste trabajo de investigación se determinó la presencia de amebas de vida libre en piscinas de centros de recreación en los departamentos de Guatemala y Escuintla que se encuentran aledaños a la Carretera Internacional al Pacífico CA-9 Sur. Para ello se tomaron en cuenta nueve centros de recreación, los cuales se muestrearon en diferentes fechas de acorde a las estaciones del año para determinar si los factores ambientales como la temperatura, concentración de cloro y pH del agua de las piscinas, fueron determinantes para la presencia/ausencia de las AVL, obteniendo un resultado positivo en uno de los 9 centros recreativos.

Con base a los resultados obtenidos, se evidenció la presencia de quistes de *Acanthamoeba* spp, en el centro recreativo No.2. Además se observó que la cloración del agua de las piscinas de los centros recreativos a una concentración media, no es garantía absoluta para eliminar la presencia de las amebas de vida libre, por lo que se recomienda que las autoridades del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social se deben de encargar en elaborar y difundir entre la población guatemalteca las medidas de prevención para las patologías que causan las amebas de vida libre.

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Las amebas de vida libre son un grupo de protozoos que normalmente tienen vida libre en numerosas y diversas áreas ambientales, donde se alimentan saprofiticamente, de preferencia en medios acuáticos de agua dulce y son capaces de desarrollar formas quísticas de resistencia y que en ciertas circunstancias pueden parasitar al hombre. En Guatemala no se han realizado estudios sobre la presencia o ausencia de amebas de vida libre en piscinas de centros de recreación, por lo que no se conoce aún el riesgo que presentan estos como reservorios para la transmisión de protozoos y así causar alguna patología en los usuarios de los mismos.

El presente trabajo de investigación forma parte de un proyecto macro sobre amebas de vida libre en piscinas de los centros de recreación en los departamentos de Guatemala y Escuintla, que se encuentran aledaños a la Carretera Internacional al Pacífico CA-9 Sur, el cual se pretende determinar la presencia de amebas de vida libre mediante exámenes microscópicos directos y por medio de cultivos.

Este estudio fue realizado en el Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

III. ANTECEDENTES

A. Amebas de vida libre

Las amebas de vida libre (AVL) son un grupo de protozoos anfitrións ampliamente distribuidos en la naturaleza. Han sido aisladas del suelo, polvo, aire, agua natural y tratada, agua de mar, sedimento oceánico, de piscinas, aguas residuales, lagos, lagunas, acuarios y de descargas termales de centrales eléctricas (Marciano & Cabral, 2003).

Las AVL tienen la capacidad de actuar como parásitos oportunistas y de producir enfermedades graves en el hombre. En comparación con otras enfermedades causadas por protozoos, las infecciones causadas por AVL se destacan por su amplia distribución, extrema virulencia y falta de tratamiento efectivo si el diagnóstico no se establece precozmente (Costamagna, 2005).

La información sobre la ecología y distribución es sumamente importante, ya que algunas especies pueden causar enfermedad en el hombre. *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* spp. y *Balamuthia mandrillaris* son AVL que ocasionalmente provocan patología en el hombre. *N. fowleri* produce meningoencefalitis amebiana primaria (MAP), una enfermedad del sistema nervioso adquirida después de la exposición a aguas contaminadas de piscinas, ríos y lagos. El curso clínico es agudo y frecuentemente mortal. *Acanthamoeba* spp. y *B. mandrillaris*, pueden causar encefalitis amebiana granulomatosa (EAG) crónica, en pacientes inmunológicamente comprometidos (Scaglia, 2000). *Acanthamoeba* spp. puede producir queratitis amebiana severa (QA), principalmente en usuarios de lentes de contacto y ha sido asociada a lesiones cutáneas y sinusitis en pacientes inmunocomprometidos (Helton, Jennifer, Mark & Clifton, 2002).

Las AVL, además de poseer patogenicidad propia, actúan como vehículos o reservorios ambientales de distintos microorganismos que han desarrollado la capacidad de sobrevivir en su interior. Entre estos se destacan microorganismos de las familias *Legionellaceae*, *Pseudomonaceae*, *Mycobacteriaceae*, *Parachlamydiaceae*, entre otros; así

como Mimivirus, Enterovirus y hongos como *Cryptococcus neoformans* (Dunand, et al., 2000).

1. *Acanthamoeba* spp.

Fue descrita por primera vez en 1930, por Sir Aldo Castellani como un microorganismo saprófito que se desarrollaba en cultivos de levaduras de *Cryptococcus paraoseus*. *Acanthamoeba* debe su nombre a la forma aguzada de sus seudópodos que asemejan espinas. Las especies descritas hasta el momento son: *A. astronyxis*, *A. castellani*, *A. culbertsoni*, *A. divionensis*, *A. hatchetti*, *A. healyi*, *A. polyphaga* y *A. rhysodes* (Visvesvara, 1990).

Presenta dos estadios: trofozoito y quiste. El trofozoito mide entre 24 y 56 μm . El citoplasma contiene múltiples mitocondrias, lisosomas, ribosomas y vacuolas. Posee también pseudópodos finos denominados acantópodos. El núcleo está localizado centralmente con un nucléolo esférico. Los trofozoitos se dividen por fisión binaria y la división del núcleo se realiza por mitosis, en la cual el núcleo y la membrana nuclear desaparecen durante el proceso. La temperatura óptima de crecimiento se aproxima a los 25 °C, aunque puede crecer a temperaturas mayores. El quiste mide entre 11 y 25.3 μm de diámetro y presenta una pared doble. La pared externa o ectoquiste es ondulada o arrugada, mientras que la pared interna o endoquiste puede ser estrellada, poligonal, esférica u oval. Los poros se forman en la unión del ectoquiste y el endoquiste y están cubiertos por opérculos. Los quistes se forman como reacción a condiciones ambientales adversas (Becerril y Romero, 2008).

a. Epidemiología

Se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, agua de mar y charcos, aguas residuales, lagunas, ríos y en el polvo. En ambientes artificiales se la ha aislado de enfriadores de agua, filtros acondicionadores de aire, humidificadores y de aparatos de diálisis. La doble capa del quiste le confiere resistencia a la desecación, salinidad y

cloración del agua, por ello se la puede encontrar dispersa por el viento, en el medio ambiente y en sedimentos salinos. Se han reportado casos en Inglaterra, Alemania, Holanda, India, Zambia, Corea, Venezuela, Perú, y en varios estados de Estados Unidos (Arizona, Nueva York, Pensilvania, Luisiana, Virginia y California). En Israel se comunicó un caso de invasión en oído y en África un caso de invasión de piel (Gonzales, Gould, Dickinson, Martinez & Visvesvara, 1980).

Afecta al hombre y animales como gorilas, monos, ovinos, bovinos, perros y canguros. Hasta la década de los años 60 eran muy pocos los casos de encefalitis granulomatosa amebiana (EGA) comunicados, debido a que no había una clara diferenciación entre *Acanthamoeba* y *Naegleria*, este último agente etiológico de meningitis amebiana primaria (MAP) y al que se le adjudicaba la mayoría de los casos. Sin embargo, al utilizar técnicas más modernas y realizar cultivos en diferentes medios se demostró que muchos de estos casos eran producidos por *Acanthamoeba* (Gonzales, et al., 1980).

En el mundo han sido informados 105 casos de EGA causada por *Acanthamoeba* spp, aproximadamente 73 de ellos (53 en pacientes con SIDA) ocurrieron en Estados Unidos hasta enero de 1998 (Gutiérrez, 2000).

2. *Naegleria* spp.

Presenta dos especies, las cuales son: *N. gruberi* y *N. floweri* (la única patógena). Tiene tres estadios en su ciclo de vida: trofozoito, flagelado y quiste. El trofozoito mide entre 15 y 25 μm . El citoplasma es granular con mitocondrias, lisosomas y vacuolas. La locomoción se debe a pseudópodos redondeados llamados lobópodos. Por lo general, el núcleo es esférico y se localiza en la parte central, con gránulos de cromatina. El trofozoito se divide por fisión nuclear y el nucléolo se divide por promitosis, proceso por el cual el nucléolo y la membrana nuclear persisten durante la división celular. El trofozoito es termófilo, ya que puede crecer y reproducirse a temperaturas de 40 a 45 °C y se enquista en respuesta a condiciones ambientales adversas. El flagelado tiene forma de pera y posee dos

flagelos, aunque puede formar hasta 10. En esta forma no se alimenta y es reversible a la etapa de trofozoito. Los quistes son esféricos de 8 a 12 μm de diámetro y poseen una densa pared con uno o dos poros planos (Becerril y Romero, 2008).

En la actualidad se conoce como “*la ameba que devora el cerebro*”, ya que en la última década produjo en Estados Unidos más de 25 casos mortales entre nadadores de los lagos sureños de ese país (Ferrante, 1991).

a. Epidemiología

Se puede encontrar en aguas termales. Las especies no patógenas soportan temperaturas de 42°C y las patógenas de 45°C a 46°C. Se han comunicado numerosos casos en Estados Unidos (principalmente en Virginia, Florida y California; también en Georgia y Nueva York, Arizona, Carolina del Sur y Texas). Los tres primeros casos publicados en Estados Unidos fueron por la práctica de deportes acuáticos, como esquí y buceo en un pequeño lago del centro de Florida. En Bélgica se diagnosticaron cinco casos en una localidad y se comprobó la presencia de *Naegleria* en conductores de agua y canales que guardan relación con la contaminación por los vertidos de varias fábricas (Gordon, Steinberg, Puis, Kozarsky, Nickerson & Visvesvara, 1992).

La mayoría de los casos publicados proceden de Bélgica, Checoslovaquia, Australia, Nueva Zelanda, India, Nigeria, Inglaterra, Irlanda, Venezuela, Panamá y Nueva Guinea. En los casos de personas que padecen la MAP y no han estado en contacto con aguas, se piensa que la transmisión fue aérea. En época de sequía se aisló *Naegleria* de hisopados nasales en 12 de 50 investigados. En 1965 Fowler y Carter fueron los primeros en describir una infección fatal por AVL en el cerebro de un paciente australiano, la cual se cree en la actualidad que fue debida a *N. fowleri* (Gordon, et al., 1992).

Se han comunicado más de 175 casos MAP en el mundo y un poco menos de la mitad (aproximadamente 86) de estos casos han sido reportados en Estados Unidos y en el Sur de América Latina hasta enero de 1998, de los cuales solo pocos pacientes han

sobrevivido. Hasta hace poco se creía que *N. fowleri* infectaba solo humanos, sin embargo, en marzo de 1997 se publicó el primer caso de meningoencefalitis amebiana primaria en un tapir de Sudamérica, lo que demostró que la infección también puede ocurrir en animales (Huang, Ferrante & Carter, 1999).

3. *Balamuthia*

Presenta dos estadios, trofozoito y quiste. El trofozoito de *B. mandrillaris* mide entre 12 y 60 μm , aunque las formas alargadas pueden alcanzar hasta 60 y 120 μm de largo. Tiene forma irregular, aunque algunas veces puede ser alargado y en otras adopta un aspecto de araña con numerosos pseudópodos sin ramificaciones. El quiste mide entre 6 y 30 μm y carece de poros. En el plano ultraestructural se reconoce una triple constitución: una fina capa externa irregular o ectoquiste; una capa interna densa y gruesa o endoquiste; y una capa fibrilar amorfa media llamada mesoquiste. Durante la mitosis, el nucléolo y la membrana nuclear permanecen al principio intactos, pero a medida que la mitosis continúa desaparecen (Ferrante, 1991).

Este género presenta una única especie patógena, *B. mandrillaris*, el cual produce enfermedad aguda gastrointestinal en el hombre, pero afectan fundamentalmente a pacientes inmunocomprometidos. Esta ameba de vida libre (AVL) no crece en medios de cultivo comunes, sino que requiere cultivos celulares de tejidos de mamíferos (Becerril y Romero, 2008; Ferrante, 1991).

a. Epidemiología

La infección se produce tanto en el hombre como en gorilas, orangutanes, gibones, ovejas y caballos. Hasta hace poco se creía que éstos casos eran producidos por *Acanthamoeba* spp, sin embargo, a través de los test de inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa se identificaron como *Balamuthia* (Kernoham, Magath & Scloss, 1960).

En el mundo se han reportado más de 100 casos, de los cuales 31 han sido diagnosticados en Estados Unidos (11 de estos casos fueron pacientes con SIDA) (Kernoham, et al., 1960).

Inicialmente identificada como agente causal de encefalitis en mandriles, actualmente se reconoce como patógeno en humanos. Más de 100 casos han sido reportados en la literatura médica, provenientes de Australia, los Estados Unidos de Norte América, Japón, República Checa y Latinoamérica, incluyendo Argentina, Brasil, México, Perú y Venezuela. La enfermedad es muy poco reconocida en Europa y en el Sur Este de Asia (Kernoham, et al., 1960).

4. *Hartmanella*

Pertenece a la familia *Hartmannellidae*. Presenta dos estadios, trofozoito y quiste. El trofozoito es de tamaño pequeño y no rebasa los 50 µm de diámetro. Suele distinguirse en ellos una finísima membrana plasmática elástica e invisible al microscopio de luz. La elasticidad y facilidad de reconstrucción de esta membrana les permite la emisión de pseudópodos para su movilidad y captación de alimento. Generalmente se considera que la forma de los trofozoitos en absoluto reposo es la esférica, pero debido a la continua formación de pseudópodos suelen aparecer de muy variadas formas y aspectos. Frecuentemente puede apreciarse en ellos un ectoplasma hialino y un endoplasma granuloso con vacuolas que pueden incluir partículas alimenticias, frecuentemente bacterias, u otros restos vegetales o animales. También pueden alojarse en el endoplasma una o más vacuolas pulsátiles de función osmorreguladora. El núcleo suele ser vacuolar, apreciándose un nucléolo central o excéntrico (Ferrante, 1991).

Los quistes poseen una pared externa gruesa y resistente. A veces esta membrana o pared del quiste es doble y presenta una membrana externa y otra interna, esta última de aspecto poliédrico, cuyos vértices o salientes contactan con la pared externa. Al microscopio electrónico se ha señalado en el citoplasma un retículo endoplasmático poco desarrollado, el aparato de Golgi, ribosomas y mitocondrias (Ferrante, 1991).

Generalmente se considera que la forma de los trofozoitos es causante de problemas oftalmológicos, principalmente queratitis en quienes emplean lentes de contacto y el riesgo se ha relacionado con el lavado de los ojos o de los lentes con agua contaminada (Aitken, Hay, Kinnear, Kirkness, Lee & Seal, 1996).

También pueden causar meningoencefalitis y bronconeumonía. Estas amebas se han encontrado en agua dulce, con una prevalencia mayor en comparación con otras que presentan parasitismo facultativo. El contacto con agua contaminada y la desnutrición aumentan el riesgo de ser invadido por estas amebas (Brieland, Fantone, Remick, Gendre, McClain & Engleberg, 1997).

B. Hábitat

Las AVL presentan en general una distribución cosmopolita y son ubicuas en la naturaleza. Las especies patógenas son termotolerantes, aunque no todas ellas son patógenas (Martínez, et al., 1985). El hábitat principal es el suelo y desde ahí pueden llegar a los cuerpos de agua arrastradas por escurrimientos o a través del aire (Rivera, et al., 1985). En el agua desempeñan un papel fundamental en el flujo energético y en el reciclado de los nutrientes. El crecimiento rápido, el uso eficiente de los recursos comparado con formas superiores de vida, así como el hecho de ser un enlace fundamental entre desintegradores y niveles tróficos superiores, los convierten en un eslabón importante en las cadenas alimentarias acuáticas (Fenchel, 1987).

Las AVL se encuentran en mayor proporción en la microcapa superficial del agua debido a la abundancia de nutrientes y de establecimiento de quistes aéreos; por lo que se hallan en menor proporción en los sedimentos (Kyle & Geyle, 1986).

El análisis por género muestra que *Naegleria* vive principalmente en el suelo y ambientes acuáticos calentados natural o artificialmente (Bottone, 1993), aunque también se puede establecer en estanques, cascadas, manantiales, lagos y ríos con temperaturas

menores (Bonilla, et al., 1986). *Naegleria* ha sido aislada de agua de grifo, piscinas, aguas termales, aguas de desecho, canales de riego, tinas de hidroterapia, lagos artificiales y efluentes calientes de plantas termoeléctricas (Rivera, et al., 1985).

Las especies patógenas se observan con mayor frecuencia en cuerpos de agua con temperaturas por encima de los 30 °C y aguas naturales de los trópicos y subtropicos. En países templados y fríos, las amebas patógenas proliferan mejor durante los meses más cálidos, lo que lleva a pensar en un patrón estacional (Bonilla, 1999).

Algunos investigadores han propuesto que el incremento brusco de temperatura favorece la predominancia de la forma patógena de *Naegleria* (Pernin & Pelandaski, 2001).

Los factores ambientales favorables para el desarrollo de este género de amebas son intervalos de temperatura entre 30 °C y 45 °C, niveles óptimos de oxígeno (5.0 mg/L ó ppm), pH neutro, alimento suficiente (bacterias y materia orgánica) y humedad. Sin embargo, pueden soportar amplias variaciones. Por ejemplo en piscinas, la presencia de cloro libre residual en concentraciones de 2 mg L⁻¹ puede inhibir su presencia (John & Macutchen, 1993).

Acanthamoeba se encuentra distribuida en todos los ambientes (Bottone, 1993) y probablemente es la ameba con mayor distribución en la naturaleza, debido a la gran resistencia de los quistes (Page, 1988). Como consecuencia de su distribución cosmopolita, el contacto con el ser humano es constante y probablemente es la razón de la presencia de anticuerpos hacia *Acanthamoeba* y *Naegleria* en suero humano (Bottone, 1993). *Acanthamoeba* se ha aislado de diversos tipos de agua: natural superficial (estanques, lagos y ríos), subterránea, marina, de grifo, piscinas, aguas termales, agua mineral embotellada, agua de desecho, canales de riego, tinas de hidroterapia, lagos artificiales, efluentes calientes de plantas termoeléctricas e incluso de agua congelada (Ramírez, 1995; Munson, 2001).

Acanthamoeba también ha sido aislada de diferentes tipos de suelo, sedimento oceánico, sedimento de lagos, lodos resultantes del tratamiento del agua de desecho, polvo de casas de habitación y de composta (Bonilla, 1993).

De las amebas de vida libre potencialmente patógenas, *Acanthamoeba* es la única que se ha aislado de muestras de aire extra e intramuros, así como de conductos de aire acondicionado. Se considera que debido a las condiciones extremas en ese ambiente, el aire solo les sirve como medio de dispersión (Bonilla, 1993). Dos fuentes de donde se aisló *Acanthamoeba*, el agua de grifo y lentes de contacto, están muy relacionadas con la incidencia de la queratitis amebiana. Algunas especies también se han aislado de recipientes para lavado de ojos (Bottone, 1993; John & Macutchen, 1993).

Debido a que *B. mandrillaris* solo se puede desarrollar en cultivos de tejido y en un medio axénico muy específico, su búsqueda en el ambiente se ha restringido y no se conoce exactamente su hábitat. Se aisló por primera vez de un mandril y posteriormente de pacientes con encefalitis amebiana (EA) (Visvesvara, 1990), aunque recientemente se reportó lo que se considera el primer aislamiento ambiental (Scalgia, 1997).

Por otro lado, se ha demostrado que *Acanthamoeba* y *Naegleria*, entre otras AVL, participan como vectores de diferentes especies bacterianas (Barker & Brown, 1994). *L. pneumophila* es capaz de multiplicarse dentro de la célula amebiana, causar lisis y liberarse nuevamente en el ambiente. También algunas bacterias coliformes y *M. avium* sobreviven dentro de las amebas aunque sin multiplicarse. De esta manera, el quiste amebiano no solo ofrece a las bacterias un mecanismo de protección para evadir ambientes hostiles, sino también les proporciona un medio para transportarse y colonizar nuevos hábitat aprovechando los mecanismos de dispersión (Barker & Brown, 1994).

C. Ciclo de vida

El ciclo de vida de las AVL comprende una fase activa llamada trofozoito y una forma quística de latencia. En *Naegleria* además se presenta una forma flagelada (Bottone, 1993; John & Macutchen, 1993).

Naegleria presenta tres fases en el ciclo de vida: trofozoito, quiste y ameba flagelada. La forma de quiste es la fase de resistencia en la cual la ameba se mantiene en latencia y puede resistir largos períodos en condiciones adversas como la desecación, bajas concentraciones de oxígeno, escasez de alimento entre otros (John & Macutchen, 1993). En los cultivos de laboratorio se ha observado que el quiste de *Naegleria* es menos resistente que el de *Acanthamoeba* (John & Macutchen, 1993).

En el ciclo de vida de *Naegleria* se destaca su capacidad para cambiar a la forma flagelada, la cual se presenta cuando la ameba se encuentra en un medio sin nutrientes. En forma transitoria, el organismo no se alimenta ni se divide y después de un tiempo, cuando la ameba encuentra nuevamente un ambiente adecuado, regresa a su forma amebiana (John & Macutchen, 1993).

Las diversas especies de *Acanthamoeba* y la única especie de *Balamuthia* (*B. mandrillaris*) presentan solamente dos etapas en su ciclo de vida: la etapa de trofozoito y la forma quística. La etapa de trofozoito, igual que *Naegleria*, es la forma en la que la ameba realiza todas sus funciones. La forma de quiste es la estructura de resistencia, la cual regresa a su forma vegetativa cuando las condiciones son favorables (John & Macutchen, 1993).

En el laboratorio es posible observar que el trofozoito de *Acanthamoeba*, puede permanecer algún tiempo sin enquistarse aunque las condiciones no sean favorables y en medio líquido se redondea y presenta prolongaciones citoplasmáticas, similares a la forma flotante de otras amebas pequeñas de vida libre (por ejemplo, *Vannella* y *Platyamoeba*). El quiste de *Acanthamoeba* es muy resistente y puede permanecer viable en los cultivos por

meses e incluso años; probablemente a esto se debe su amplia distribución y alta incidencia en el ambiente (Page, 1988).

D. Mecanismos de infección y manifestaciones clínicas

1. Meningoencefalitis amebiana primaria (MEAP)

N. fowleri causa infección aguda que afecta al sistema nervioso central. La infección ocurre principalmente en niños y jóvenes en buenas condiciones de salud, con antecedentes de natación en cuerpos de agua naturales en el verano o piscinas calentadas de modo artificial (Lavande & Marcel, 1980).

Las amebas son invasivas en la fase de trofozoito, cuando se desplazan rápida y libremente y se alimentan con voracidad debido a su composición enzimática y producción de toxinas que favorecen la digestión y destrucción, sobre todo en tejido nervioso (Becerril y Romero, 2008).

La puerta de entrada es la aspiración de agua contaminada por las fosas nasales; desde donde las amebas alcanzan el techo de la cavidad, hasta llegar a la mucosa olfatorio, migran al nervio olfatorio, atraviesan la lámina cribiforme y avanzan hasta el espacio subaracnoideo (Lavande & Marcel, 1980).

La MEAP producida por *N. fowleri* la mayoría de las veces tiene consecuencias fatales. El curso clínico de la enfermedad es rápido y el periodo de incubación es de tres a cinco días. La enfermedad se caracteriza por intenso dolor de cabeza frontal, fiebre, náuseas, vómito y rigidez de cuello, seguido de coma, ataques y al final la muerte, como consecuencia de una falla cardiorrespiratoria por edema cerebral grave (Lavande & Marcel, 1980).

2. Encefalitis amebiana granulomatosa (EAG)

También conocida como acanthamoebosis, puede ser provocada por varias especies de *Acanthamoeba* y *B. mandrillaris*, sobre todo en individuos inmunosuprimidos o inmunodeficientes, como alcohólicos crónicos, embarazadas, personas positivas al HIV o enfermos con SIDA o con lupus eritematoso sistémico. También se han descrito casos de EAG, sin evidencia de inmunodeficiencia. La neumonitis y ulceraciones de la piel con trofozoitos y quistes de las amebas sugieren la puerta de entrada al torrente sanguíneo, aunque no se descarta al neuroepitelio olfatorio como una posible vía de acceso (Lares & Marcel, 2001).

El período de incubación de la EAG se desconoce, aunque tal vez es mayor a diez días. La habilidad de los patógenos del género *Acanthamoeba* para producir necrosis del tejido cerebral se debe probablemente a una acción enzimática inducida por hidrolasas lisosomales y fosfolipasas que pueden degradar los fosfolípidos de las vainas de mielina (Lares & Marcel, 2001).

Los síntomas y signos son los de una encefalopatía focal o local con notoria irritación meníngea y encefalitis. El curso clínico es insidioso y puede confundirse con leptomeningitis bacteriana, meningitis tuberculosa o encefalitis viral (Lares & Marcel, 2001).

3. Queratitis amebiana (QA)

Es una inflamación crónica de la córnea y se debe a varias especies del género *Acanthamoeba*. Es posible que los trofozoitos secreten enzimas colagenolíticas y proteinasas, que pueden tener un papel importante en la QA. Las amebas entran al estroma de la córnea por un rompimiento del epitelio consecutivo a un traumatismo menor o abrasión del epitelio protector (Becerril y Romero, 2008).

La queratitis es una infección grave de la córnea a menudo devastadora, causada por ciertas especies de *Acanthamoeba*. La queratitis por *Acanthamoeba* se presenta como una urgencia oftalmológica. Normalmente ocurre en niños, sobre todo de 12 años de edad y más pero también es común en los adultos jóvenes y menos frecuentes en las personas mayores. La infección progresa implacablemente, con ulceración corneal y puede causar ceguera (Lavande & Marcel, 1980).

4. Respuesta del hospedero a la infección

El mecanismo más importante de la reacción inmunológica contra las amebas patógenas es la activación de las células capaces de eliminarlas por fagocitosis, en especial a los glóbulos blancos (Becerril y Romero, 2008).

La mayor parte de los estudios experimentales se han realizado en cultivos celulares y se han utilizado animales de experimentación. En *N. fowleri* se han propuesto los siguientes mecanismos de patogenicidad: a) fagocitosis, b) secreción de sustancias citolíticas; c) presencia de componentes biológicos activos (material citopatogénico del trofozoito de *Naegleria*). La información existente de los factores responsables de la susceptibilidad y resistencia innata a la infección por AVL es escasa. La gran mayoría de casos de MEAP y QA se han observado que ocurren en niños o jóvenes sanos. Por el contrario, la EAG se presenta por lo general, en personas debilitadas, crónicamente enfermas o inmunosuprimida (Anderson, Jemieson, Jadin & Wilaert, 1973).

5. Mecanismos del parásito para contrarrestar la respuesta del hospedero

El conocimiento de los mecanismos que le permiten a las AVL patógenas de contrarrestar la reacción inmunitaria es muy escaso. Se ha demostrado la habilidad de *N. fowleri* para capturar y degradar anticuerpos de superficie, lo que permite al organismo patógeno evadir las defensas inmunitarias del huésped. El suero humano normal es capaz de lisar *A. culbertsoni* y *N. fowleri* a través de la activación de la vía alterna del complemento, aunque también se ha demostrado que cepas virulentas de *N. fowleri* y

Acanthamoeba spp. presentan resistencia debido a glucoproteínas en la superficie (Becerril y Romero, 2008).

Con respecto a *N. fowleri* se ha propuesto los siguientes mecanismos de patogenicidad: a) fagocitosis, b) secreción de sustancias citolíticas y c) presencia de componentes biológicos activos (material citopatogénico del trofozoito y *Naegleria*) (Lares & Marcel, 2001).

E. Profilaxis y control

Debido a la estrecha relación entre nadadores de agua dulce y la infección con *N. fowleri*, las zonas de natación en los países desarrollados están sujetas a investigación y análisis cuidadoso del agua. Los factores que favorecen el crecimiento de *N. fowleri* en las piscinas u otras áreas de natación son las altas temperaturas, la presencia de una fuente de alimentación, insuficientes residuos de cloruro libres, la mínima competencia con otros protozoos y probablemente el pH y niveles de oxígeno (Becerril y Romero, 2008).

Las medidas de control y prevención incluyen: educación del público, alerta de la comunidad médica y una adecuada cloración (niveles continuos de cloro libre residual de 0.5 a 1.0 mg/L de agua a 26°C) del agua potable y de centros de natación (Becerril y Romero, 2008).

Para la prevención de casos de queratitis por *Acanthamoeba* es importante que los usuarios de los lentes de contacto realicen los cuidados y recomendaciones del fabricante y del oftalmólogo en su manejo (uso, limpieza y mantenimiento) y no utilizarlos durante la práctica de deportes acuáticos. En el caso de la EAG, es más difícil prevenirla debido a que *Acanthamoeba* es oportunista, por lo que la única recomendación es evitar factores de riesgo, si se sabe que hay inmunosupresión o inmunocompromiso (Becerril y Romero, 2008).

F. Piscinas

Las piscinas, al igual que otros espacios de uso común, tanto a nivel de recreo, como de ejercicio regulado o de competición, presentan unos requerimientos de construcción, uso y mantenimiento que son imprescindibles para que se conviertan en espacios seguros, tanto a nivel de trabajadores como de usuarios y público en general. Dependiendo de las dimensiones y uso de la misma, se clasifica como piscina recreativa o reglamentaria (Fernández, 1964).

1. Piscina recreativa

Se denomina así a aquellos escenarios que si bien se destinan para la práctica deportiva y recreativa, no cumplen con las medidas reglamentarias haciendo que el arquitecto pueda diseñar cualquier forma, sin que la profundidad sea mayor a 1.30 metros contados a partir del nivel superior del agua (Valenzuela, 1968).

2. Piscinas reglamentarias

El agua procederá de la red general de suministro público, en caso de que su procedencia sea de ríos, lagos, manantiales, corrientes subterráneas u otros, es necesario realizar los estudios y análisis pertinentes para garantizar su calidad y obtener la autorización sanitaria (Valenzuela, 1968).

El agua de la piscina deberá cumplir con condiciones sanitarias admisibles, y para esto la piscina deberá contar con un sistema de depuración que filtrará y realizará un tratamiento de desinfección del agua para eliminar microorganismos e impedir el crecimiento de algas y bacterias. El sistema de purificación se hará mediante recirculación del agua de la piscina y con el aporte de agua nueva necesaria para mantener la calidad y el nivel de la misma. La temperatura del agua de piscina reglamentaria debe ser entre 25°C y 28°C (Valenzuela, 1968).

3. Tratamiento del agua de piscinas

Los equipos de tratamiento de agua de piscinas están destinados a garantizar que las piscinas no represente ningún riesgo de tipo bacteriológico ni químico a los usuarios de las mismas. Para su tratamiento se utilizan distintos productos químicos de unas características de peligrosidad determinadas (Mosquera, 1992).

Por otra parte, la piscina debe disponer de un sistema de recolección continuo que permita la recirculación uniforme de la totalidad de la lámina superficial del agua, así como de un sistema de control de aportación de agua nueva y de agua recirculada (Mosquera, 1992).

Las fases del tratamiento del agua son:

- Recolección del agua de superficie por rebosaderos (skimmers) y del agua del fondo por el desagüe de fondo.
- Prefiltraje, mediante tamiz, con el fin de retener partículas grandes en suspensión.
- Bombeo, para impulsar el agua a través de los filtros y devolverla a la piscina.
- Floculación. Cuando se utilizan filtros de arena, suele ser necesaria la adicción de productos químicos floculantes que potencian la filtración.
- Filtración para retener las partículas más finas.
- Calentamiento del agua en piscinas climatizadas.
- Dosificación de desinfectantes y del corrector de pH.
- Retorno del agua tratada al interior del vaso mediante bocas impulsoras.

a. Tratamiento físico del agua recreacional

i. Recirculación del agua

Consiste en la recolección del agua, su tratamiento y retorno de forma rápida y continua, con el fin de eliminar la contaminación aportada por los bañistas. Una correcta

recirculación evita un excesivo consumo de agua por renovación y optimiza el tratamiento de desinfección, disminuyendo el aporte de desinfectantes y procurando una distribución homogénea, evitando "zonas muertas" en los ángulos de la piscina. Se llama ciclo de recirculación al tiempo que tarda el equipo de filtración en pasar el volumen de la piscina por el mismo siguiendo el ciclo indicado anteriormente (Mosquera, 1992). Existen dos tipos de recirculación:

ii. Impulsión o bombeo

Es importante el diseño hidráulico. El diámetro y el tipo de tuberías debe estar de acuerdo con los caudales del sistema de filtración y el reparto de agua aspirada y retornada debe ser correcta y estratégicamente posicionada en la piscina (Mosquera, 1992).

iii. Filtración

El filtrado consiste en hacer pasar el agua a través de una masa porosa que retiene la materia en suspensión y es la base del tratamiento físico del agua de la piscina. El tamaño de poros determina la calidad de la filtración. Es recomendable que el filtrado se realice antes de la desinfección ya que ello implica disminuir el consumo de desinfectante. Debe tenerse en cuenta que los desinfectantes son, en general, productos de peligrosidad importante para la salud de las personas (Mosquera, 1992).

Fundamentalmente se utilizan tres tipos de filtros: los de cartuchos, los de tierra de diatomeas y los de arena.

b. Tratamiento físico-microbiológico del agua recreacional

Existen varios tratamientos físico-microbiológicos para el agua utilizada en piscinas, las cuales ayudan a mantener una pureza microbiológica, regular los factores fisicoquímicos y así evitar riesgos para los usuarios.

Dentro de éstos tratamientos se encuentran: desinfectantes, cloro, hipoclorito de sodio, hipoclorito de calcio, cloraminas, bromo, estabilizadores, supercloración, algicidas, controladores de pH, alcalinidad, agua balanceada (Arboleda y Valencia, 2001).

En la ciudad de Guatemala, no hay estándares que regulen el tratamiento de agua para las piscinas de establecimientos públicos, por lo que, no existe un tratamiento físico-microbiológico estándar del agua recreacional (Municipalidad de Guatemala, 2010).

Uno de los tratamientos físico-microbiológicos para aguas recreacionales más utilizados son:

i. Desinfectantes

El cloro y sus componentes han sido y continúan siendo los productos químicos de primer orden para la desinfección del agua de las piscinas. El gas cloro, las soluciones de hipoclorito de sodio, el hipoclorito de calcio y los cloroisocianuratos aportan cloro libre disponible y son los agentes desinfectantes de uso más común en piscinas (Arboleda y Valencia, 2001), dentro de los cuales se pueden mencionar:

- **Cloro**

Es un elemento que pertenece al grupo de los halógenos y tiene un elevado grado de oxidación. Esta propiedad, junto con la alta solubilidad en agua, lo hace un elemento adecuado para el cuidado y de desinfección del agua en piscinas; su concentración debería encontrarse siempre entre 0.5 a 2 ppm (Ballesteros, Ruiz, Rubio & Pérez, 2007).

- **Hipoclorito de calcio**

Es la sal de calcio del ácido hipocloroso, que se origina al burbujear cloro gas en una solución de hidróxido de calcio, cuyo componente resultante es un sólido con un

contenido máximo en cloro activo del 70% y el resto son componentes secundarios de la reacción, mayormente óxido de calcio y carbonato de calcio (Ballesteros, et al., 2007).

Una de sus desventajas es que aumenta la dureza del agua, el cual provoca precipitaciones de cal y causa variaciones en el valor del pH.

- **Algicidas**

El crecimiento de algas en las piscinas es invisible, presentando un riesgo para los nadadores y resulta por lo general, del mantenimiento deficiente de la piscina. Puede dar lugar a superficies resbalosas, desarrollo de olores, agua turbia y decolorada, formación de cloramina, mayor demanda de cloro y crecimiento bacteriano. El bajo contenido del cloro libre disponible, las temperaturas altas, la luz solar y ciertos nutrientes minerales favorecen el crecimiento de las algas. Tal crecimiento puede evitarse, mediante el bombeo continuo para asegurar la dispersión eficaz, así como el contenido de cloro libre disponible, complementos con supercloraciones periódicas o tratamientos de choque (Healy, Rodgers & Mulqueen, 2006).

- **Control de pH**

El intervalo óptimo para la comodidad de los bañistas y la eficacia de la desinfección con compuestos a base de cloro es pH 7.2-7.6, en el que el agente biocida HOCl representa 47-69% de cloro libre disponible. El pH del agua de piscinas se controla fácilmente con sustancias químicas poco costosas. La solución de ácido clorhídrico o el bisulfato de sodio lo baja, mientras que el carbonato de sodio lo aumenta (Healy, et al., 2006).

- **Alcalinidad**

En el agua de piscinas con intervalo normal de pH, la llamada alcalinidad por carbonatos es producida por bicarbonato de sodio. Por su capacidad reguladora, la

alcalinidad resiste cambios de pH, cuando se agregan desinfectantes al agua de las piscinas. Generalmente se agrega bicarbonato de sodio, para aumentar la alcalinidad y ácido muriático o bisulfato de sodio para reducirla (Fair, Gayer & Okum, 1998).

G. Riesgos al usar piscina

1. Pureza microbiológica de agua recreacional

Indudablemente, el aspecto más importante a controlar dentro de la vigilancia epidemiológica de estas zonas recreativas, es la calidad fisicoquímica y microbiológica de sus aguas, ya que la primera condición que debe cumplir el agua de piscinas es la de su pureza bacteriológica y de otros microorganismos como las amebas de vida libre (AVL), ya que estas al igual que las bacterias son numerosas y están ampliamente distribuidas en la naturaleza (agua, tierra, vegetación) los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Hartmannella* y *Balamuthia* son patógenas para el hombre. Las rutas de entrada al organismo son las mucosas nasales, oculares y dérmicas; por eso es importante conservar la pureza del agua recreacional esto es, estar exenta de microorganismos patógenos capaces de alterar la salud de los bañistas (Koopp & McKee, 1998).

Si se tiene en cuenta que su uso está sometido a una demanda incesante y creciente por parte de la población, no solo como lugar de esparcimiento, sino también para la práctica del deporte e incluso para la recuperación de ciertas patologías, está suficientemente justificada la necesidad de llevar a cabo un control riguroso de la calidad de sus aguas (Koopp & McKee, 1998).

H. Área de estudio

Estará representada por 9 centros de recreación que se encuentran aledaños a la carretera CA-9 Sur entre el municipio de Amatitlán perteneciente al departamento de Guatemala y los municipios de Palín y Masagua pertenecientes al departamento de Escuintla.

I. Contextualización del área de estudio

1. Municipio de Amatitlán, Guatemala

El municipio de Amatitlán, se localiza a 27 kilómetros al Sur de la Ciudad de Guatemala con una altura aproximada de unos 1,188 metros sobre el nivel del mar, cuyo clima es templado y su temperatura oscila entre 23-16 °C (Chinchilla, 1961).

Tomando en cuenta los censos poblacionales a partir de 1950 y de acuerdo con los datos presentados por el CEUR-USAC en febrero de 2007, se estima que la población de Amatitlán en el año 2010 fué de 100,456 habitantes (Municipalidad de Amatitlán, 2007).

Este municipio cuenta con varias de vías de acceso asfaltadas, la principal de ellas, es la carretera CA-9 Sur o autopista al Pacífico, que conecta con la Ciudad Capital y municipios vecinos como Villa Nueva, Villa Canales, San Miguel Petapa, Mixco (en el Depto. d Guatemala), San Vicente Pacaya, Palín y Escuintla (en el Depto. de Escuintla) (Municipalidad de Amatitlán, 2007).

El centro turístico que se encuentra ubicado en el municipio de Amatitlán es:

- a. La Ceiba: Se encuentra ubicada en el km. 29 del municipio de Amatitlán departamento de Guatemala, este centro cuenta con 3 piscinas de tipo recreativas (2 piscinas para adultos y 1 piscina para niños). El tratamiento del agua es por medio de cloración y el agua con la cual se llenan las piscinas es con agua municipal.

2. Municipio de Palín, Escuintla

El municipio de Palín se encuentra localizado en la parte nor-oriental del departamento de Escuintla, en la Región Central. Limita al Norte con el municipio de Amatitlán, al Sur y al Este con San Vicente Pacaya y al Oeste con el municipio de Escuintla.

Cuenta con una extensión territorial de 88 km² y se encuentra a una altura de 1,145 metros sobre el nivel del mar, por lo que generalmente su clima es templado y en ocasiones frío por las corrientes de viento que circulan a través del llamado cañón de Palín. Se encuentran a una distancia de 40 km de la ciudad capital y a 17 km de la cabecera departamental de Escuintla. (Municipalidad de Escuintla, 2008).

De los centros turísticos que se encuentran en el municipio de Palín están:

- a. **Sirenas:** Ubicado en el Km.29.5 ruta al Pacífico Palín, Escuintla, el cual cuenta con dos piscinas de tipo recreacional una para adultos y una para niños; El tratamiento del agua es por medio de cloración y el agua con la cual se llenan las piscinas es agua municipal.
- b. **La Red:** Ubicado en el Km.31 ruta al Pacífico Palín, Escuintla, el cual cuenta con dos piscinas medianas tipo recreativas; además cuenta con los servicios de canchas deportivas, churrasqueras, mesas y bancos en toda el área. El tratamiento del agua es por medio de cloración y el agua con la cual se llenan las piscinas es agua municipal.
- c. **Agua Salvaje:** Centro turístico ubicado en el km. 34.5 ruta al Pacífico, Palín, Escuintla, el cual cuenta con piscinas tipo recreacional para niños y adultos, un tobogán y también cuenta con área de churrasquera, mesas y un pequeño zoológico como atractivo turístico. El tratamiento de aguas es por medio de cloración y el agua con la cual se llenan las piscinas es agua municipal.

- d. Automariscos: Localizado en el km. 34 Ruta al Pacífico, Palín, Escuintla, el cual cuenta con las siguientes piscinas: piscinas de agua tibia natural, piscina de niños, piscina mediana con tobogán, piscina de olas. Todas las piscinas están alimentadas con aguas termales puras y cristalinas. El tratamiento que se le da al agua de las piscinas es por medio de cloración y circulación por bombeo.

3. Municipio de Masagua, Escuintla

El municipio de Masagua se encuentra situado en la parte Central del departamento de Escuintla. Limita al Norte con el municipio de Escuintla; al Sur con el municipio de San José (Escuintla); al Este con los municipios de Guanagazapa e Iztapa (Escuintla); y al Oeste con el municipio de La Democracia (Escuintla).

Cuenta con una extensión territorial de 448 km² y se encuentra a una altura de 100 metros sobre el nivel del mar, por lo que generalmente su clima es cálido. (Municipalidad de Masagua, 2008).

De los centros turísticos que se encuentran en el municipio de Masagua están:

- e. Guateque: Ubicado en el km. 73.5 en el municipio de Masagua, Escuintla. Este centro cuenta con 3 piscinas de tipo recreativas (2 piscinas para adultos y 1 Piscina para niños), un zoológico y un área de restaurante. El agua de las piscinas es proveniente de un pozo propio del establecimiento. El tratamiento que se le da al agua de las piscinas es por medio de cloración y recirculación por bombeo.
- f. Torremolinos: Se encuentra ubicado en el km. 79 en el municipio de Masagua, Escuintla. Este centro cuenta con 4 piscinas de tipo recreativas (3 piscinas para adultos y 1 Piscina para niños) y un área de restaurante. El agua de las piscinas es proveniente de un pozo propio del establecimiento. El tratamiento que se le da al agua de las piscinas es por medio de cloración y recirculación por bombeo.

- g. Quintas la Ponderosa: Localizado en el kilómetro 77 en el municipio de Masagua, Escuintla. Este centro cuenta con 2 piscinas familiares de tipo recreativas y un área de restaurante. El agua de las piscinas es proveniente de un pozo propio del establecimiento. El tratamiento que se le da al agua de las piscinas es por medio de cloración y recirculación por bombeo.

- h. Cataratas de UXMEL: que se encuentra ubicado en el kilometro 79.5 en el municipio de Masagua, Escuintla. Este centro cuenta con 4 piscinas de tipo recreativas (3 piscinas para adulto y 1 piscina para niños) y un área de restaurante. El agua de las piscinas es proveniente de un pozo propio del establecimiento. El tratamiento que se le da al agua de las piscinas es por medio de cloración y recirculación por bombeo.

II. JUSTIFICACIÓN

Una gran variedad de enfermedades han sido reportadas como resultado del mantenimiento y uso inapropiado de las piscinas. Los casos registrados han incrementado en los últimos años y son atribuidos al incremento en la popularidad de las piscinas, ya que la calidad microbiológica se relaciona directamente a la contaminación transferida por los usuarios (Koopp & McKee, 1998).

Las amebas de vida libre (AVL) han sido estudiadas principalmente debido a que en algunas ocasiones causan enfermedades humanas fatales. Los primeros estudios sobre su presencia demostraron que son organismos cosmopolitas, pero no se sabe si en Guatemala, realmente existen estas especies patógenas que son capaces de desarrollarse en diferentes ambientes. Las especies patógenas se observan más frecuentemente en cuerpos de agua con temperaturas mayores a los 30° C y aguas naturales de los trópicos y subtrópicos como es el caso del departamento de Escuintla. En climas templados y fríos como el departamento de Guatemala, las amebas patógenas proliferan mejor durante los meses más cálidos, lo que lleva a pensar en un patrón estacional (Deligiorgis, Xekoukoulotakis, Diamadopoulos & Mantzavinos, 2008).

Por lo anterior se realizó una investigación que se llevó a cabo en los diferentes centros turísticos de los departamentos de Guatemala y Escuintla, de los municipios de Amatitlán, Palín y Masagua, los centros turísticos a estudiar, cuentan con piscinas de tipo recreacionales, indicando que ningún centro presenta piscinas de tipo reglamentarias. Estos centros se encuentran aledaños a la Carretera Internacional al Pacífico CA-9 Sur. Con esta investigación se dio a conocer si las amebas de vida libre se encontraban presentes en las piscinas de dichos centros.

Si se toma en cuenta que el agua constituye uno de los vehículos de transmisión de estas amebas y debido a que las personas se encuentran más vulnerables en centros recreativos, es necesario implementar técnicas y métodos para su identificación y aislamiento en este país.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar la presencia de amebas de vida libre en piscinas de tipo recreacional en los centros turísticos que se encuentran en los departamentos de Guatemala y Escuintla, aledaños a la carretera Internacional al Pacífico CA-9 Sur.

B. Específicos

1. Identificar por medio de exámenes directos y cultivos el género y especie de las amebas que proliferan en las piscinas de los centros turísticos considerados en este estudio.
2. Determinar la frecuencia de amebas de vida libre con base a su presencia en cada piscina de cada uno de los centros recreativos, que se analizarán en la investigación.

VI.HIPÓTESIS

En este estudio no es necesario el planteamiento de una hipótesis ya que el análisis estadístico es de tipo descriptivo.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Representado por 9 centros turísticos de recreación, un único centro pertenece al departamento de Guatemala y 8 centros al departamento de Escuintla, los cuales se encuentran aledaños a la Carretera Internacional al Pacífico CA-9 Sur.

B. Muestra

Se realizaron 3 muestreos en cada una de las piscinas de los 9 centros turísticos, los cuales fueron 2 muestreos en época seca y uno en época de lluvia; por cada muestreo se seleccionó 2 piscinas principales de uso, de las cuales se tomaron 3 muestras de agua a diferentes profundidades por cada piscina analizada, para llegar a un total de 243 muestras recolectadas.

C. Recursos

1. Humanos

- ✓ Susan Andrea López Jiménez, Allan Bernardo Vásquez Zavala, Samuel Mazariegos Rodríguez y Marcela Arcely Gómez Santos. (Seminaristas)
- ✓ Lic. Martin Gil (Asesor)
- ✓ Personal de mantenimiento de los centros recreacionales en los departamentos de Escuintla y Guatemala.

2. Institucionales

- ✓ Laboratorio de Análisis Físicoquímico y Microbiológico –LAFYM--
- ✓ Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- ✓ Laboratorio del Hospital Nacional de Amatlán.

3. Equipo y materiales de laboratorio

- ✓ Incubadora a 37⁰ C.
- ✓ Incubadora a 42⁰ C.
- ✓ Centrifugadora (1000 r.p.m.)
- ✓ Balanza
- ✓ Microscopio Corriente
- ✓ Lupa estereoscópica
- ✓ Refrigeradora

4. Materiales

- ✓ Frascos de plástico estériles de 1 ó 1.5 L
- ✓ Hielera
- ✓ Matraces de copa estériles
- ✓ Portaobjetos
- ✓ Cubreobjetos
- ✓ Gradillas de plástico
- ✓ Mechero Bunsen
- ✓ Micropipetas
- ✓ Cajas de Petrí
- ✓ Papel pH
- ✓ Asas microbiológicas
- ✓ Tubos cónicos

5. Reactivos y colorantes

- ✓ Tiosulfato sódico pentahidratado
- ✓ Solución de Lugol
- ✓ Colorantes vitales
- ✓ Hematoxilina férrica de Heidenhain
- ✓ Kit para medir concentraciones de Cloro y pH marca RAINBOW“Pool and SPA test kit”

6. Cepas

- ✓ Cepas de *Escherichia coli*.

7. Medio de cultivo

- ✓ Agar - Agar al 2%.
- ✓ Caldo Trypticase Soya
- ✓ Agar MacConkey

D. Metodología

1. Selección de los sitios de muestreo

Se utilizaron las piscinas de los 9 centros recreativos de los departamentos de Guatemala y Escuintla que se encuentren aledaños a la carretera Internacional al Pacífico CA-9 Sur, con el propósito de establecer el riesgo de infección causado por las amebas de vida libre para las personas que visitan dichos centros recreativos.

2. Toma de muestra

El número de muestras utilizado en esta investigación fueron 243 muestras individuales recogidas en diferentes sitios simultáneamente lo cual se conoce como muestra integrada, debido a la variación de los componentes a lo ancho y profundo de la superficie. Se utilizaron contenedores esterilizados con capacidad de de 120 mL, a los cuales se les añadieron 0.1 mL al 10% de tiosulfato sódico pentahidratado (Page, 1976).

Para la recolección de muestras, se removió la capa del recipiente estéril y se colocó el recipiente cerca de la base a un ángulo de 45 grados, llenándolo con un suave barrido por el agua, con la boquilla del recipiente delante de la mano y luego cerrar el recipiente. Y para piscinas equipadas con filtro, las muestras fueron recolectadas por pequeñas muestras que provienen del regreso y de la línea de descarga la cual viene del filtro (Beltran y Uyema, 1997).

Se realizó una segunda toma en la superficie en un área de un metro de profundidad por medio de un plato de vidrio de más o menos de 20 por 20 centímetros y se colocó verticalmente en la superficie del agua para retirarlo hacia arriba con un rango de aproximadamente de 6 cm/s. Luego se pasó a colectarlo en una botella de vidrio estéril y se repitió hasta que el volumen deseado fue obtenido. Se emplearon dos envases estériles. El primero, sin tiosulfato que se debe abrir dentro del agua a 0.5 metros bajo la superficie y dejarlo que se llene del agua. Y el segundo, con tiosulfato sódico pentahidratado, al que se trasvasó inmediatamente el agua tomada en el primero. El envase no fue llenado hasta el borde, de modo que se dejó un espacio de aire (Beltran y Uyema, 1997).

La muestra se llevó al laboratorio en el menor tiempo posible en cadena de frío desde la toma de la misma y se conservó en refrigeración y sin llegar a congelación, porque esto afectaría la supervivencia de estas amebas (Page, 1976).

3. Análisis microbiológico

Las muestras se efectuaron en dos métodos: 1) mediante examen microscópico directo en fresco y 2) por cultivo. El método microscópico directo en fresco tuvo como objetivo de orientación sobre la posible presencia de AVL y el método por cultivo para la confirmación y aislamiento (Alfredo, 2000).

a. Fase presuntiva

Para ello primero se dejó decantar por tres a cuatro horas en matraces de copa estériles, protegidos del polvo para evitar contaminación exógena. Se desechó el sobrenadante y se centrifugó el sedimento (1,000 r.p.m) durante 10 min. Del centrifugado se realizó un examen directo a fresco, entre un portaobjetos y cubreobjetos. La lectura directa se realizó por microscopios ópticos corrientes a aumentos de 10X a 40X (Alfredo, 2000).

b. Fase confirmatoria

En caso de que la muestra tuviera presencia de amebas de vida libre (AVL), se obtendrían inóculos para la siembra del cultivo de los sedimentos respectivos. Por ser así, se dejaron caer dos gotas del sedimento respectivo en cuatro placas de petri preparadas con medio de agar simple al 2% (Alfredo, 2000), en cuya superficie se depositó previamente una película de *Escherichia coli* en concentraciones de 10^5 UFC/mL, con la finalidad de servir como nutrientes para las AVL (Alfredo, 2000).

Previamente se sembraron en tres placas distintas cepas de *E .coli*, preparadas previa al muestreo (Castro y Guerrero, 2001). Todo este procedimiento inicial se efectuó en un lapso no mayor de 72 horas desde la recolección de la muestra (Alfredo, 2000).

Dos placas fueron incubadas a 37⁰C y otras dos a 42⁰C, durante siete días, examinándolas cada 24 horas bajo microscopio corriente y lupa estereoscópica (Muñoz, Reyes, Toche, Carcamo y Gottlier, 2003).

Si a los siete días de observación, no hubo multiplicación de AVL, la muestra se considera negativa. Si, por el contrario, si se desarrolló, se procedió al aislamiento de las colonias (Castro y Guerrero, 2001). Por haber sido así, bajo lupa estereoscópica, con bisturí fino y esterilizado, se cortó en trozos de agar que contenía las colonias y con ayuda de una espátula fina se transfirió con la cara hacia abajo, a la superficie de otra placa en la forma ya mencionada (Alfredo, 2000).

Se repitió todo el mismo proceso durante el plazo necesario hasta obtener cepas puras o clonadas siendo éste de un aproximado de 30–35 días (Martinez, et al., 1985).

Una vez logrado lo anterior, se procedió a determinar el género mediante estudios de morfología de las formas quísticas y trofozoíticas utilizando técnicas de coloración (colorantes vitales y hematoxilina férrica de Heidenhain), (Castro y Guerrero, 2001).

4. Determinación de cloro y pH

Para la determinación de cloro y pH se tomaron aproximadamente 2 mL de agua de cada piscina a muestrear, posterior a ello, se procedió a trasvasar el agua recolectada en 2 recipientes estériles distintos (1mL en cada recipiente), un recipiente sirvió para la medición de pH y el otro para la medición de cloro. Para la medición del pH se agregaron de 4 a 5 gotas de rojo de fenol y para la medición de cloro se agregaron 4 a 5 gotas de Ortotoluidina, se homogenizaron adecuadamente los dos recipientes durante 1 min. Posterior a ello se realizó la lectura correspondiente observando un cambio de color en las muestras a analizar, con ayuda de una tabla colorimétrica estándar se comparó el color de la solución y se determinó la concentración correspondiente de cada muestra.

5. Medición de temperatura del Agua

Para la medición de la temperatura del agua se necesitó de un termómetro digital el cual se dejó en el lugar de la recolección por 5 min. Se esperó hasta ver que la lectura de la temperatura sea estable. Se anotó la temperatura de cada piscina muestreada de cada centro recreativo.

E. Diseño experimental

Se analizaron las muestras recolectadas de los 9 centros recreativos que forman parte de esta investigación, determinando la frecuencia (presencia/ausencia) de amebas de vida libre. De cada piscina se recolectaron 3 muestras, en recipientes estériles de boca ancha, de 500 mL de capacidad a diferentes profundidades de la piscina, siendo éstas en la superficie, en el medio y el fondo de la piscina.

En la recolección de muestras se tomaron en cuenta factores como la temperatura ambiental, pH y concentración de cloro presente en cada piscina, las cuales se analizaron por medio de microscopía en fresco y en cultivo para la determinación de la presencia/ausencia de las amebas de vida libre. Asimismo, la cuantificación de cloro se realizará por método colorimétrico.

F. Diseño estadístico

El método que se utilizó para el análisis de los resultados obtenidos en esta investigación fue el método descriptivo, cualitativo (ausencia/presencia), el cual se realizó por conveniencia. Los resultados obtenidos se reportaron por medio de gráficas, utilizando porcentajes para representar la presencia de amebas de vida libre, estos porcentajes se obtuvieron de acuerdo al número de muestras recolectadas en el estudio.

VIII. RESULTADOS

A. Muestreos realizados durante la época de verano – invierno 2013 y verano 2014.

La tabla 1 representa las mediciones de concentraciones de cloro, pH y temperatura. No se identificaron AVL en ninguna de las piscinas, solo se evidenció que el centro 2 posee la menor concentración de cloro (1.00) y un pH (7.80) muy superior al de los demás centros.

Tabla 1. Resultados de las muestras analizadas obtenidas de los centros recreativos de los departamentos de Guatemala y Escuintla, recolectadas en el verano del 2013 para presencia de AVL.

Departamento	Centro recreativo	No. de piscinas	No. de muestras	Promedio cloro	Desviación Estándar	Promedio pH	Desviación Estándar	Promedio T ^o agua	Desviación Estándar
Guatemala	Centro 1	3	9	2.00	0.12	7.56	0.01	25.50	0.07
	Centro 2	2	6	1.00	0.15	7.80	0.09	25.70	0.34
	Centro 3	2	6	2.25	0.10	7.50	0.14	25.90	0.06
	Centro 4	2	6	2.50	0.14	7.63	0.01	25.90	0.09
Escuintla	Centro 5	3	9	2.10	0.15	7.56	0.01	26.00	0.06
	Centro 6	2	6	2.50	0.08	7.55	0.01	29.90	0.06
	Centro 7	2	6	2.00	0.10	6.65	0.01	30.00	0.09
	Centro 8	3	9	2.00	0.07	6.60	0.11	30.00	0.11
	Centro 9	3	9	2.30	0.13	6.83	0.02	30.00	0.12

Del muestreo realizado durante la época de invierno nuevamente se midieron las concentraciones de cloro, pH y temperatura, reportándose nuevamente en el centro 2 un rango de cloro bajo (1.00) y un promedio de pH básico (7.90). No se identificaron AVL en ninguna de las piscinas (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de las muestras analizadas obtenidas de los centros recreativos de los departamentos de Guatemala y Escuintla, recolectadas en el invierno del 2013 para presencia de AVL.

Departamento	Centro recreativo	No. de piscinas	No. de muestras	Promedio cloro	Desviación Estándar	Promedio pH	Desviación Estándar	Promedio T ⁰ agua	Desviación Estándar
Guatemala	Centro 1	3	9	2.30	0.09	7.53	0.01	25.00	0.05
	Centro 2	2	6	1.00	0.06	7.90	0.06	23.00	0.89
	Centro 3	2	6	1.50	0.09	7.20	0.09	23.00	0.63
	Centro 4	2	6	1.50	0.09	7.50	0.08	23.00	0.63
Escuintla	Centro 5	3	9	2.10	0.08	7.56	0.07	23.50	0.73
	Centro 6	2	6	1.75	0.01	6.65	0.37	26.00	0.63
	Centro 7	2	6	2.50	0.08	6.80	0.06	27.80	0.98
	Centro 8	3	9	2.10	0.09	6.70	0.09	28.20	0.71
	Centro 9	3	9	2.50	0.09	6.60	0.07	28.20	0.71

El tercer muestreo realizado durante los meses de Marzo y Abril del año 2014, se identificaron AVL en el centro de recreación No. 2 con la medición de las concentraciones de cloro, pH y temperatura se evidenció los factores que posiblemente contribuyeron a la presencia de AVL (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de las muestras analizadas obtenidas de los centros recreativos de los departamentos de Guatemala y Escuintla, recolectadas en el verano del 2014 para presencia de AVL

Departamento	Centro recreativo	No. de piscinas	No. de muestras	Promedio cloro	Desviación Estándar	Promedio pH	Desviación Estándar	Promedio T ⁰ agua	Desviación Estándar
Guatemala	Centro 1	3	9	1.66	0.01	7.43	0.11	26.60	0.12
	Centro 2	2	6	1.00	0.10	8.50	0.75	26.60	0.13
	Centro 3	2	6	1.75	0.05	7.40	0.24	26.60	0.17
	Centro 4	2	6	1.75	0.05	7.55	0.14	26.60	0.27
Escuintla	Centro 5	3	9	2.10	0.10	7.56	0.08	26.80	0.84
	Centro 6	2	6	1.75	0.05	7.40	0.07	28.90	0.91
	Centro 7	2	6	2.50	0.14	6.65	0.06	29.30	0.86
	Centro 8	3	9	2.50	0.10	6.60	0.11	29.80	0.66
	Centro 9	3	9	1.72	0.07	6.70	0.17	29.80	0.17

B. Porcentajes de muestras positivas y negativas

De un total de 198 muestras analizadas provenientes de 22 piscinas de 9 centros turísticos, el 1.01 % (2 muestras) resultaron positivas para *Acantamoeba* spp. durante el muestreo realizado en la época de verano 2014. Mientras que el 99% (196 muestras) no se encontró ningún género de AVL.

IX. DISCUSIÓN

En este estudio se observó que la temperatura fue un factor que no presentó condiciones favorables para el desarrollo de las AVL, ya que la mayoría de las piscinas presentaron temperaturas menores a 30⁰C durante los tres muestreos. Lo anterior ha sido indicado en estudios realizados previamente, ya que se ha encontrado que para el desarrollo de las AVL se necesitan temperaturas entre 30⁰C a 40⁰C (Gonzalez, Gould, Dickinson, Martínez & Visvesvara, 1980).

Por otra parte, se demostró que el pH de las piscinas evaluadas no mostró diferencias notables durante el invierno y el verano, ya que la mayoría de ellas presentaron valores cercanos al pH neutro. Lo anterior podría representar un factor negativo para el desarrollo de las AVL, puesto el pH se debe mantener en concentraciones alcalinas (pH mayor de 7.5) para favorecer el crecimiento de las mismas (John & Macutchen, 1993).

Asimismo, se observó que la mayoría de las piscinas evaluadas utilizaron el método de cloración como tratamiento del agua, con una concentración promedio de 1.85 ppm. Es importante recalcar que existe una relación directa entre la concentración de cloro y el pH, ya que un aumento de pH disminuye sustancialmente la actividad biocida del cloro y una disminución de pH aumenta esa actividad en la misma proporción (John & Macutchen, 1993), por lo que dichas piscinas al poseer una concentración elevada de cloro y un pH neutro pueden impedir el desarrollo de AVL.

En general, la combinación de factores como la temperatura menor a 30⁰C, el pH neutro y concentraciones de cloro elevadas pudieron influir en que las AVL no se desarrollaron fácilmente en la mayoría de piscinas evaluadas (Gonzalez, Gould, Dickinson, Martínez & Visvesvara, 1980).

A pesar de que se lograron identificar AVL en un centro turístico de los 9 centros estudiados, se observa que de acuerdo a los resultados obtenidos, los factores evaluados

(temperatura, pH y cloro) en las distintas piscinas de los centros recreativos indican una tendencia a no favorecer el crecimiento de las AVL.

Por el contrario, la única piscina del centro turístico que resulto positivo para presencia de AVL, presentó una concentración media de pH de 8.50 (alcalino) y una concentración media de cloro de 1.00 ppm, lo cual indicó que la actividad biocida del cloro se encontraba disminuida, por lo que se aumentaron las probabilidades de que las AVL se desarrollaran favorablemente. Respecto al agente identificado en dicha piscina (*Acanthamoeba* spp. en su forma quística) que se encontró en superficie y la parte media, se puede decir que en dichos sitios presentaron mayor exposición al aire, lo que favorece la formación de biofilms de microorganismos alrededor de la pared de las piscinas, las cuales son fuente de alimento de las AVL (Vesaluoma, Kalso, Jokipii, Warhurst, Ponka & Tervo, 1995).

Aunque se observa que el aislamiento de AVL fue únicamente en un centro turístico y que éste presentaba las concentraciones de pH más alcalinos y concentraciones menores de cloro, es necesario que se realicen estudios para la medición de la disponibilidad de nutrientes (presencia de materia orgánica en los reservorios de agua) y la falta de competencia por otros organismos, puesto que estos son factores indirectos que pueden influir en el crecimiento de las AVL.

La importancia epidemiológica de las piscinas como fuente no natural de *Acanthamoeba*, consiste en el riesgo potencial de actuar como vehículos para su transmisión al hombre. Si se considera que dicho microorganismo pueden ser patógeno para el hombre, se recomienda una limpieza profunda, eficaz y planificada, para así evitar la acumulación de materia orgánica en las superficies y alrededor de éstas, con el objetivo de minimizar la presencia de amebas de vida libre.

Si bien la eliminación de *Acanthamoeba* spp. en aguas recreacionales resulta muy difícil por tratarse de un microorganismo ubicuo y sumamente resistente a los desinfectantes utilizados comúnmente en el tratamiento de las aguas, se considera oportuno

informar a las personas en riesgo de los departamentos de Guatemala y Escuintla, de los peligros que representa la exposición a aguas potencialmente contaminadas.

X. CONCLUSIONES

1. Se identificaron quistes de *Acanthameba* spp. en el centro recreativo No. 2.
2. El porcentaje de frecuencia de los quistes de *Acanthameba* spp encontrados fue de 1.01%

XI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios para la medición de la disponibilidad de nutrientes (presencia de materia orgánica en los reservorios de agua) y la falta de competencia por otros organismos, para poder conocer la relación de que estas puedan influir en el crecimiento de las AVL
- Efectuar una limpieza profunda, eficaz y planificada de las piscinas, para así evitar la acumulación de materia orgánica en las superficies y alrededor de éstas, con el objetivo de minimizar la presencia de las mismas.
- Sugerir a los diferentes centros de estudio e investigación, la realización de trabajos similares al presente a fin de determinar, el género y la especie de las amebas de vida libre (AVL) que se encuentren en piscinas de centros recreativos.
- Por parte de las autoridades del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social se sugiere elaborar un programa de control eficaz para la detección de amebas de vida libre y difundir entre la población, las medidas de prevención en caso de adquirir alguna patología provocada por amebas de vida libre..

XII. REFERENCIAS

- Aitken, D., Hay, J., Kinnear, F., Kirkness, C., Lee, W., & Seal, V. (1996) Amebic queratitis in a wearer of disposable contact lenses due to a mixed *Vahlkampfia* and *Hartmannella* infection. *Ophthalmology*, 103(3), 485-494.
- Alfredo, C. (2000). *Técnicas de diagnóstico parasitológico*. San José: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Anderson, K., Jamieson, A., Jadin, J., & Willaert, E. (1973). Primary amoebic meningoencephalitis. *The Journal of Infectious Diseases*, 143(3), 193-199.
- Arboleda, J., y Valencia, M. (2001). *Teoría, diseño y control de los procesos de clarificación del agua*. Lima: Organización Panamericana de la Salud.
- Ballesteros, A., Ruiz, F., Rubio, S., & Pérez, D. (2007). Determination of bisphenols A and F and their diglycidyl ethers in wastewater and river water by coacervative extraction liquid chromatography-fluorimetry. *Analytica Chemical Acta*, 603(1), 51-59.
- Barker, J., & Brown, M. (1994). Trojan horses of the microbial world: protozoa and the survival of bacterial pathogens in the environment. *Microbiology*, 140, 1253-1259.
- Becerril, M., y Romero, R. (2008). *Parasitología médica, de las moléculas a la enfermedad*. Monterrey: McGraw-Hill interamericana S.A.
- Beltran, E., y Uyema, N. (1997). Amebas de vida libre en muestras de agua de piscinas del departamento de Lima. *Perú Medica Salud Pública*, 14(1), 29-33.
- Bonilla, P., Esparza, A., Hernández, D., Rojas, S., Rodríguez, M., Ramírez, E., Campos, R., Jarillo, A., Álvarez, L., García, P., González, F., & Félix, S. (1986). Free living

- amoebae isolated from air and dust samples from homes of asthmatic children in Mexico City (pp. 109-116). In J. Libbey (Ed), *IXth International Meeting on the Biology and Pathogenicity*. París: Eurotext.
- Bonilla, P., Ramirez, E., Ortiz, R., Calderón, A., Gallegos, E., & Hernández, D. (1993). Occurrence of pathogenic and free living amoebae in aquatic systems of the Huasteca Potosina, Mexico (pp. 37-44). In M. Munawar, S. Lawrence, & D. Malley. (Eds), *Aquatic Ecosystems of México*. Amsterdam: Backhuys Publishers.
- Bonilla, P. (1999). *Heterogeneidad de las amebas de vida libre con potenciales patógenos aislados de la atmósfera de la Ciudad de México*. (Tesis Doctoral) Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Bottone, E. (1993). Free living Amoebas of the genera *Acanthamoeba* and *Naegleria*: an overview and basic microbiologic correlates. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, 60, 260-270.
- Brieland, J., Fantone, J., Remick, D., Gendre, M., McClain, M., & Engleberg, N. (1997). The role of *Legionella pneumophila* infected *Hartmannella vermiformis* as an infectious particel in a murine model of legionnaire's disease. *Infection Immunology*, 65, 530-533.
- Castillo, M., Cerna, M., Portillo, A., Rosales, R., Santos, R., & Torres, E. (2007). *Amebas de vida libre en pozos, piscinas y lagos del Salvador*. *Crea ciencia*, 11, 1818-202x.
- Castro, C., y Guerrero, B. (2001). *Técnicas de diagnóstico parasitológico*. San José: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Chinchilla Aguilar Ernesto. (1961). *Historia y Tradiciones de la Ciudad de Amatitlán*. Guatemala: Editorial del Ministerio de Educación Pública.

- Costamagna, S. (2005). *Parasitosis regionales*. Buenos aires: Editorial Edi UNS.
- Deligiorgis, A., Xekoukoulotakis, P., Diamadopoulos, E., & Mantzavinos, D. (2008). Electrochemical oxidation of table olive processing wastewater over boron-doped diamond electrodes. *Water Research*, *12*(3), 1229-1237.
- Dunand, V., Hammer, S., Rossi, R., Poulin, M., Mary, A., Doweiko, J., DeGirolami, P., Coakley, E., Piessens, E., & Wanke, C. (2000). Parasitic sinusitis and otitis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clinical Infectious Diseases*, *25*(2), 267-272.
- Fair, G., Geyer, J., & Okun, D. (1998). *Water and wastewater engineering*. New York: John Wiley & Sons Inc.
- Fernández, C. (1964). *Estudio sanitario de las piscinas*. (Tesis Doctoral) Facultad de Medicina, Universidad de Madrid, España.
- Ferrante, A. (1991). Free living amoebae: pathogenicity and immunity. *Parasite Immunology*, *13*, 31-47.
- Fenchel, T. (1987). *E. coli of protozoa, the biology of free living phagotrophic protists*. New York: Springer-Verlag.
- Gonzales, M., Gould, E., Dickinson, G., Martinez, J., & Visvesvara, S. (1980). Acquired immunodeficiency syndrome associate with *Acanthamoeba* infection and other opportunistic organisms. *Pathology Laboratories Medicine*, *2*(5), 20–21.
- Gordon, S., Steinberg, P., DuPuis, M., Kozarsky, P., Nickerson, F. & Visvesvara, S. (1992). Culture isolation of *Acanthamoeba* species and *Leptomyxid* amoebae from patients with amebic meningoencephalitis, including two patientes with acquired immune deficiency syndrome. *Clinical Infections Diseases*, *15*(6), 1024-1030.

- Gutierrez, Y. (2000). *Diagnostic pathology of parasitic infections with clinical correlations*. New York: Oxford University Press.
- Healy, G., Rodgers, M., & Mulqueen, J. (2006). Performance of a stratified sand filter in removal of chemical oxygen demand, total suspended solids and ammonia nitrogen from high-strength wastewater. *Journal Environment Management*, 83, 409-415.
- Helton, J., Jennifer D., Mark, D., & Clifton, R. (2002). Cutaneous *Acanthamoeba* infection associated with leukocytoclastic vasculitis in an acquired immune deficiency syndrome patient. *The American Journal of Dermatopathology*, 15(2), 146-149.
- Huang, H., Ferrante, A., & Carter, R. (1999). Serum antibodies to *Balamuthia mandrillaris*, a freeliving Amoebae recently demonstrated to cause granulomatosis amoebic encephalitis. *Infection Disease*, 12(3), 1305-1308.
- John, T., & McCutchen, C. (1993). *Opportunistically pathogenic free living amoebae*. San Diego: Academic Press.
- Jonckheere, J., & Voorde, H. (1997). The distribution of *Naegleria fowleri* in man-made termal water. *Medical Central* 26(1), 10-15.
- Kernoham, W., Magath, B., & Schloss, T. (1960). Granuloma of brain probably due to *Endolimax*, *Iodamoeba butschlii*. *Archives Pathology*, 70, 576-580.
- Koopp, J., & McKee, H. (1998). *Methods for chemical analysis of water and wasted*. Springfield: Academic Press.
- Kyle, D., & Gayle, P. (1986). Seasonal distribution of thermo tolerant free living amoebae I Willard's Pond. *Journal Protozoology*, 33, 422-434.

- Lares, F., & Marcel, F. (2001). Free living amoebae infections in Mexico (pp. 13-18). In J. Libbey (Ed), *IXth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae*. París: Eurotext.
- Lavande, V., & Marcel, F. (1980). A case of primary amoebic meningoencephalitis in a Nigerian farmer. *Europe Publishing Medicine Central*, 29, 21-25.
- Marciano, F., & Cabral, G. (2003). The increasing importance of *Acanthamoeba* infections. *Journal Eukaryote Microbiology*, 47, 29-36.
- Gertiser, M., Visciarelli, E., Basabe, N., Perez, M., & Costamagna, S. (2010). *Acanthamoeba* spp. en piscinas cubiertas de la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Bufind*, 1, 10-12.
- Martínez, P., Ma, P., Vivesvara, S., Martínez, J., Theodore, H., Dagget, M., & Saeywer, K. (1985). *Naegleria* and *Acanthamoeba* infections. *Rewiew Infection Disease*, 12(3), 490–513.
- Moura, H. (1980). *Amebas de vida libre en piscinas: aislamiento y identificación*. Río de Janeiro: Fundación Oswaldo Cruz.
- Mosquera, J. (1992). Las ventajas de bromados para la desinfección de piscinas y spas. *Piscinas Microbiológicas*, 7(2), 78–81.
- Municipalidad de Amatitlán, Guatemala (2007). Oficina de relaciones públicas, Plan Operativo Anual. Guatemala.
- Municipalidad de Escuintla (2008). Oficina de relaciones públicas, Plan Operativo Anual. Guatemala.

- Municipalidad de Masagua, Escuintla (2008). Oficina de relaciones públicas, Plan Operativo Anual. Guatemala.
- Municipalidad de Guatemala (2010). Oficina de relaciones públicas, Plan Operativo Anual. Guatemala.
- Munson, D. (2001). Incidence of cyst forming amoebae in Bermuda inshore water relative to distance from point source sewage effluent (pp. 93-96). In J. Libbey (Ed), *IXth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae*. París: Eurotext.
- Muñoz, V., Reyes, H., Toche, P., Cárcamo, C., y Gottlier, B. (2003). Aislamiento de amebas de vida libre en piscinas públicas de Santiago de Chile. *Parasitología Latinoamericana*, 2, 106–111.
- Page, W. (1976). An illustrated key to freshwater and solid amoebae, with notes on cultivation and ecology. *Freshwater Biological Association*, 1, 153-155.
- Page, F. (1988). A new key to freshwater and soil *Gymnamoebae*. *Freshwater Biological Association*, 34, 120-122.
- Pernin, P., & Pelandakis, M. (2001). About some aspects of the ecology and biodiversity of the *Naegleria* amoeba. *Science Eurotext*, 10(2), 81-85.
- Ramírez, E. (1995). Epidemiología de las amebas en México. *Revista de Información Científica y Tecnología*, 17, 15-17.
- Rivera, F., Garcia, G., Lugo, A., Zierold, E., Islas, J., Ramirez, E., & Bonilla, P. (1985). Amoebae in a waste stabilization pond system in México. *Water, Air and Soil Pollution*, 11(3), 185-198.

- Rivera, F., Lares, F., Ramirez, E., Bonilla, P., Rodriguez, S., & Labastida, A. (1991). Pathogenic *Acanthamoeba* isolated during an atmospheric survey in México City. *Infection Disease*, 13 (1), 388-389.
- Scaglia, M. (1997). Human pathology caused by free-living amoebae. *Europe Public Medical Central*, 33(44), 551-566.
- Valenzuela, M. (1968). *Compendio de hidrología médica*. Madrid: Editorial Científico-Médica.
- Vesaluoma, M., Kalso, S., Jokipii, L., Warhurst, D., Ponka, A., & Tervo, T. (1995). Microbiological quality in Finnish publicswimming pools and whirlpools with special reference to free living amoebae: a risk factor for contact lens wearers. *Ophthalmologic Disease*, 79, 178-81.
- Visvesvara G. (1990). *Balamuthia mandrillaris* agent of amoebic meningoencephalitis in humans and others animals. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 40(4), 504-514.

Susan Andrea López Jiménez

Autora

Marcela Arcely Gómez Santos

Autora

Allan Bernardo Vásquez Zavala

Autor

Samuel Mazariegos Rodríguez

Autor

Lic. Martin Néstor Fernando Gil Carrera

Asesor

Lic. Osbeth Morales

Revisor

M. Sc. Alba Marina Valdés de García

Directora

Escuela Química Biológica

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia