

UNIVERSIDAD DE CARABOBO NÚCLEO ARAGUA, MARACAY, VENEZUELA  
INSTITUTO DE ALTOS ESTUDIOS DE SALUD PÚBLICA “DR. ARNOLDO GABALDÓN”  
MSDS, MARACAY, VENEZUELA  
INSTITUTO INVESTIGACIONES VETERINARIAS, MARACAY, VENEZUELA

## Amibas de vida libre potencialmente patógenas en aguas del parque “Las Cocuizas”, Maracay, Venezuela

Dra. Irma Ávila,<sup>1</sup> Dra. Magda Rodríguez de G,<sup>2</sup> Dra. Dilia Infante,<sup>3</sup> Dra. Vilma Llovera,<sup>4</sup> Téc. Olga Álvarez<sup>5</sup> y Lic. Marlene Briceño<sup>6</sup>

### RESUMEN

Se determinó la presencia de amibas de vida libre, y la calidad microbiológica de las aguas para la recreación del parque “Las Cocuizas” en Maracay, Venezuela, en 30 muestras de agua captadas en diferentes lugares dentro del parque. Se investigó la presencia de amibas de vida libre y otros parásitos mediante exámenes directo y por coloración. También se determinaron los recuentos de aerobios mesófilos, coliformes totales y fecales. Se observó la presencia de formas parasitarias en 15 del total de las 30 muestras; en 8 se visualizaron formas compatibles con *Naegleria fowleri* y en las 7 restantes otros parásitos. Del total de las muestras 37,0 % reveló un número más probable de coliformes fecales superior a 200/100 mL<sup>-1</sup> y 33,3 % mostró contaminación fecal activa con *Escherichia coli*. Se evidenció que existe riesgo de contaminación por diversos microorganismos patógenos transmitidos por el agua y esto puede ser peligroso para los usuarios del parque.

**Palabras clave:** Amibas de vida libre, parásitos, *Escherichia coli*, calidad microbiológica del agua para la recreación, agua termal.

Las amibas de vida libre (AVL) son protozoarios que se encuentran en todo tipo de ambiente en aguas de estanques, ríos, arroyos, lagos, piscinas, sistemas de tratamiento de agua residual, corrientes subterráneas e incluso agua de tuberías y envasada,<sup>1-3</sup> así como también, en soluciones acuosas para lentes de contacto<sup>4</sup> y el aire.<sup>1,2,5</sup> Son de distribución cosmopolita y como organismos oportunistas algunos son invasivos capaces de producir infecciones en el sistema nervioso central (SNC), como son la meningoencefalitis amebiana primaria (MAP), ence-

falitis amebiana granulomatosa, keratitis amebiana ocular.<sup>1-4</sup>

Por su capacidad de sobrevivir en vida libre y también como endoparásitos ha sido propuesto el término *anfizoicas*, esto es, las temperaturas elevadas favorecen su proliferación, por lo que se les encuentra con frecuencia en aguas termales naturales y en aguas contaminadas térmicamente por descargas industriales.<sup>1,6</sup> Las AVL son capaces de sobrevivir a temperaturas extremas desde menos de 4 °C hasta más de 45 °C y el enquistamiento es la manera como las amibas responden a las

<sup>1</sup> Especialista en Microbiología. Universidad de Carabobo Núcleo Aragua, Maracay, Venezuela.

<sup>2</sup> Especialista en Parasitología. Especialista en Malariología y Saneamiento Ambiental. Instituto de Altos Estudios de Salud Pública “Dr. Arnoldo Gabaldón” MSDS, Maracay, Venezuela.

<sup>3</sup> Especialista en Bacteriología. Instituto Investigaciones Veterinarias, Maracay, Venezuela.

<sup>4</sup> Máster en Ciencias en Bacteriología y Micología. Universidad de Carabobo Núcleo Aragua, Maracay, Venezuela.

<sup>5</sup> Técnico de Laboratorio. Instituto de Altos Estudios de Salud Pública “Dr. Arnoldo Gabaldón” MSDS, Maracay, Venezuela.

<sup>6</sup> Licenciada en Alimentos. Universidad de Carabobo Núcleo Aragua, Maracay, Venezuela.

variaciones ambientales que amenazan su existencia.<sup>1,2,6</sup>

Las infecciones humanas por AVL son ocasionadas por los géneros: *Naegleriae*, *Acanthamoeba* y *Balamuthia*. Dentro de estos *Naegleria* tiene un estadio de trofozoíto que le permite alimentarse y reproducirse, una fase quística como forma de resistencia y presenta además un estadio flagelar temporal. *Naegleria fowleri* se considera la especie más virulenta, su fase invasiva es el trofozoíto y la infección se adquiere por aspiración nasal (instilación) de aguas contaminadas. Es posible que las otras formas puedan penetrar por esa vía.<sup>1,6</sup>

En relación con el huésped, existen algunos factores que parecen determinar la infección, como la temperatura corporal, dosis infectiva, virulencia de la amiba, respuesta inmune al nivel de mucosas, así como, la presencia de alguna deficiencia inmunológica.<sup>1,2,4,6</sup>

Las infecciones por AVL han sido descritas desde 1840 en diferentes partes del mundo.<sup>1,2</sup> En el Hospital Central de Maracay, Estado Aragua, Venezuela se diagnosticó un caso fatal de meningoencefalitis amebiana primaria causado por *Naegleria fowleri*, en un niño de 11 años con antecedente de bañarse en aguas termales del Parque “Las Cocuizas,” ubicado en la zona norte de esa ciudad. La ocurrencia de este caso motivó la presente investigación, cuyos objetivos fueron corroborar la presencia de AVL, anfizoicas, potencialmente patógenas y caracterizar la calidad microbiológica de las aguas recreacionales del mencionado parque.

## MÉTODOS

### RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Se realizó la captación de las muestras de agua de acuerdo con las guías de OMS/OPS,<sup>7</sup> en 9 sitios, practicando 6 muestreos en el transcurso de 5 semanas en los meses de julio y agosto de 2001; se procesaron un total de 30 muestras de agua en los cauces que atraviesan el Parque “Las Cocuizas”, ubicado en El Castaño, zona Norte de Maracay, Estado Aragua, Venezuela. Dichas muestras provenían de sitios que fueron identi-

cados de la forma siguiente: Pozo Agua tibia después del Puente El Castaño, Pozo 1- Las Cocuizas, Pozo 2- Las Cocuizas, Pozo 3- Las Cocuizas, Unión Agua fría y Agua termal, Cascada –Las Cocuizas, Pozo primera regresiva, Agua sector Curucuruma y Agua del sumidero industrial.

El agua fue captada en frascos estériles de 500 mL que fueron transportados a temperatura ambiente al Laboratorio de Bromatología Regional –Corposalud Aragua y al Laboratorio de Parasitología del Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldón” (IAESP) para ser procesadas.

### ANÁLISIS PARASITOLÓGICO

De cada una de las 30 muestras de agua captadas, se tomaron varias veces volúmenes de 40 a 50 mL, se centrifugaron a 60 g durante 1 a 3 min; luego se descartó el sobrenadante y los sedimentos obtenidos fueron utilizados como muestra para el análisis parasitológico,<sup>1</sup> a partir del cual se prepararon los frotis o extendidos. Seguidamente se realizaron diversas observaciones utilizando los métodos directo (fresco), coloraciones de hematoxilina férrica (Heidenhain) y giemsa modificada.<sup>8</sup> También se hicieron mediciones micromorfométricas de las estructuras y formas parasitarias detectadas.

### ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO

A 27 muestras se les determinó carga bacteriana mediante cuantificación de aerobios mesófilos.<sup>9</sup> También, se les practicó la técnica del NMP de organismos coliformes totales y fecales,<sup>10</sup> siguiendo la normativa venezolana para aguas del tipo 4: destinadas a balnearios, deportes acuáticos, pesca deportiva, comercial y de subsistencia.<sup>11</sup> Adicionalmente se determinó NMP de *Escherichia coli* y se realizó su identificación mediante pruebas bioquímicas.<sup>10</sup>

## RESULTADOS

En 15 de las 30 muestras de agua recolectadas en los diferentes puntos del curso de agua del

parque se encontraron parásitos; en 8 de estas 15 muestras, se detectaron formas parasitarias compatibles con AVL del género *Naegleria* sp., y en las 7 restantes fueron encontrados otros parásitos, de los géneros *Blastocystis* sp, *Isospora* sp y *Trichuris* sp., entre otros; los quistes y formas parasitarias de estos últimos son detectadas frecuentemente en muestras que provienen del tracto gastrointestinal humano o animal (tabla 1).

**TABLA 1.** Parásitos identificados en las muestras de agua. Parque "Las Cocuizas", Maracay, 2001

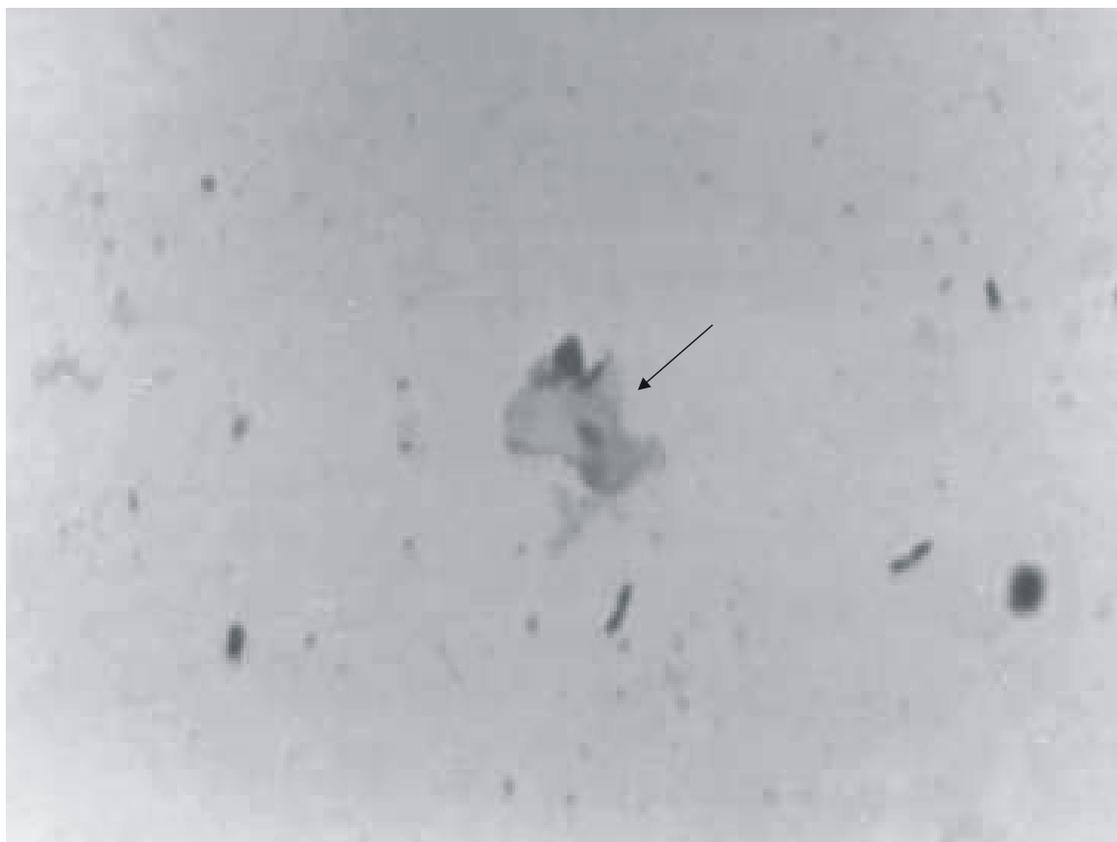
Parásitos	Número de muestras N	Porcentaje (%)
<i>Naegleria fowleri</i>	8	(53,33)
<i>Blastocystis hominis</i>	2	(13,33)
<i>Isospora belli</i>	1	(6,67)
<i>Trichuris trichiura</i>	1	(6,67)
<i>Paramecium</i> sp.	1	(6,67)
Flagelados	1	(6,67)
Otros	1	(6,67)
Total	15	(100)

Las AVL compatibles con *Naegleria fowleri* fueron identificadas en las muestras captadas de las aguas tibias (24-29 °C) en su mayoría, sin embargo, en una muestra del agua proveniente de la cascada, que es fría (19-23 °C), también fueron observadas (figs. 1 y 2) (tabla 2).

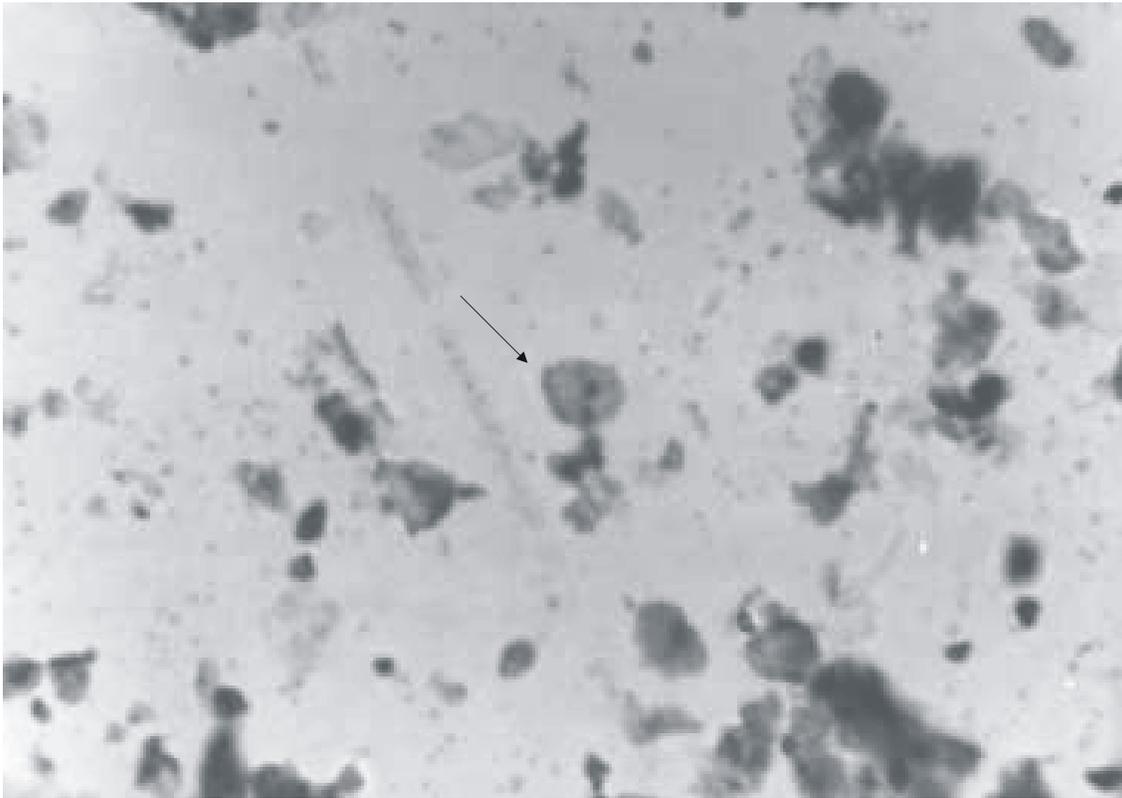
**TABLA 2.** Frecuencia de amibas de vida libre por sitios de captación de agua. Parque "Las Cocuizas". 2001

Sitios de captación de muestra	Temperatura del agua	Organismos compatibles con <i>Naegleria fowleri</i> (n)
Cascada	Fría*	1
Unión agua fría con agua termal	Fría	0
Pozo N° 1	Tibia**	2
Pozo N°2	Tibia	2
Pozo N°3	Tibia	1
Agua tibia después al puente	Tibia	1
Sumidero industrial	Tibia	1
Agua sector Curucuruma	Fría	0
Agua primera regresiva	Fría	0

Temperatura del agua: \* 19-23 °C, \*\* 24 -29 °C



**Fig. 1.** La flecha señala el trofozoito de *Naegleria* sp.



**Fig. 2.** La flecha señala el quiste de *Naegleria sp*

En relación con los análisis bacteriológicos se obtuvo una carga variable de aerobios mesófilos con rango entre  $4,2 \times 10^1$  y  $9,7 \times 10^4$  UFC/mL. De las muestras, 26,6 % presentó un NMP de coliformes totales entre 300 y 1 600/mL y 37,0 % reveló valores de NMP de coliformes fecales superior al valor establecido en la normativa. En 33,3 % se demostró contaminación fecal activa por la presencia de un NMP de *E. coli* mayor que 100. Dentro de las muestras que evidenciaron esta última característica 3 coincidieron con la presencia de formas de AVL.

## DISCUSIÓN

Se evidenció la presencia de trofozoítos y quistes compatibles con AVL del género *Naegleria* en las aguas recreacionales del Parque “Las Cocuizas” en Maracay, lo cual constituye una peligrosa fuente de infección para las personas que

las utilicen en actividades de natación. *N. fowleri*, *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* sp. se encuentran entre los patógenos potenciales que causan infección asociada a aguas recreacionales típicamente calientes en EE. UU.,<sup>12</sup> así como, en otras partes del mundo.<sup>1-3,5</sup>

Al respecto es interesante destacar, el trabajo de *Cabanes y otros*, quienes propusieron modelos para determinar la probabilidad de muerte por MAP, en función del número de amibas tipo *N. fowleri* inhaladas. Basados en este trabajo, las autoridades francesas establecieron un nivel máximo de 100 *N. fowleri* por litro de agua, que no deben exceder los cursos de agua donde la exposición humana es posible.<sup>2</sup>

En este sentido, en EE.UU., se lleva a cabo la vigilancia de las aguas recreacionales desde 1978 y se han reportado casos de MAP por *N. fowleri* en 1989, 1990, 1991, 1994, 1995 y 1998.<sup>12</sup> Desde 1999 al 2000 se reportaron 59 brotes de enfermedades transmitidas por el agua, de los cuales 36

ocurrieron en aguas para uso recreacional y de estos, 4 fueron causados por *N. fowleri*, todos con desenlace fatal.<sup>13</sup> Asimismo, desde enero de 2001 hasta diciembre de 2002 se reportaron 65 brotes de enfermedades transmitidas por el agua en 23 estados, 18 de estos asociados a uso de aguas recreacionales; de estos últimos 8 fueron casos de MAP causados por *N. fowleri*, todos mortales, 7 asociados a nadar en lagos y 1 en río.<sup>14</sup>

En esta investigación la presencia de AVL compatibles con *Naegleria fowleri*, fue mayor en las aguas tibias que en las frías, lo cual coincide con lo descrito por algunos investigadores<sup>1,6</sup> y difiere de lo señalado por otras investigaciones donde han sido aisladas de aguas frías.<sup>15-18</sup>

En las aguas analizadas del parque “Las Cocuizas” también se detectó la presencia *E. coli*, en cantidades que superan lo establecido por las normas para aguas recreacionales venezolanas, lo cual es muy interesante debido a lo referido por Zaman (1979), en relación con la necesidad de *E. coli* como factor para el crecimiento y proliferación de las AVL.<sup>19</sup> También, se ha reportado que *Pseudomonas* y *Legionella pneumophila* pueden servir de nutriente para las AVL<sup>20</sup> y, ha podido identificarse *L. pneumophila* en lisados de *Naegleria* aislados de aguas de un río.<sup>21</sup>

En cuanto a la presencia de los otros géneros de parásitos identificados, podrían ser producto de las escorrentías de las lluvias, de aguas servidas del sumidero industrial que se vierten al parque o proveniente de los usuarios de las aguas del parque. En EE.UU. desde 1991 el sistema de vigilancia ha reportado a *Cryptosporidium* spp. como el agente causal de la mayoría de los brotes de enfermedades transmitidas por aguas recreacionales,<sup>12</sup> parásito que no fue encontrado en este estudio.

Sin embargo, *Blastocystis* sp., que fue el principal género identificado en las aguas captadas del parque; tiene una especie *B. hominis*, que se diagnostica con frecuencia (13,7 %) en individuos de todas las edades en la ciudad de Maracay,<sup>22</sup> que puede causar síntomas clínicos que ameriten tratamiento médico.

En cuanto a la calidad microbiológica de las aguas del parque, el NMP de coliformes totales está por encima de lo establecido en la normativa venezolana para esta agua, Lee y otros<sup>13</sup> refieren que en un brote de infección bacteriana transmitido

por agua de uso recreacional, el NMP de coliformes no superaba lo establecido por la *Environmental Protection Agency* (EPA) de EE.UU. En cambio, en un brote de criptosporidiosis que se presentó junto con shigelosis en la fuente que era agua con recirculación, el NMP de coliformes totales superaba el límite de la norma y el NMP de *E. coli* se encontró dentro de lo establecido (< 126). En este sentido, la interpretación de la normativa establecida para *E. coli* es controversial en diferentes países. Así, la OMS señala que no debe exceder de 1 000 *E. coli* (UFC) 100 mL<sup>-1</sup>.

Es bien conocido que posterior al período de lluvias, en las aguas de uso recreacional que reciben estas descargas se incrementa el riesgo de infección para los usuarios. Los coliformes totales y fecales son capaces de multiplicarse en los suelos que luego escurren hacia esas aguas también y, es posible, que los mismos usuarios arrastren o resuspendan todo ese sedimento al entrar y salir del agua.<sup>23</sup> Es probable que una situación similar ocurra en las aguas del parque estudiadas.

En conclusión, se observó la presencia de AVL tipo *Naegleria fowleri* y una contaminación fecal elevada en las muestras de aguas estudiadas del parque “Las Cocuizas”; esto evidencia que existe un riesgo de contaminación por diversos microorganismos patógenos transmitidos mediante el agua; que puede resultar peligroso para los usuarios del parque; riesgo de salud pública, y debe ser considerado por las autoridades de salud estatales.

En consecuencia, es pertinente el muestreo periódico de las aguas del parque para tener un registro de su calidad y, a la vez, emprender una campaña de concienciación de los usuarios, acerca del riesgo del uso recreacional de esta agua, para evitar que aumente la contaminación provocada por ellos o se presenten nuevos casos de infección humana por AVL.

#### **Potentially pathogenic free-living amoebae present in “Las Cocuizas” park waters, Maracay, Venezuela**

#### **SUMMARY**

The objective of this study was to determine the presence of free-living amoebae and the microbiological quality of the recreational waters of Cocuizas Park in Maracay, Venezuela. Thirty samples taken from different park sites were analyzed.

The presence of free-living amoebae and other parasitic was detected by fresh mounts and specific parasitic stain slides. Mesophilic aerobic bacteria and total faecal Coliforms were also determined. Parasitic forms were observed in 15 of the 30 samples that were analyzed. Forms compatible with *Naegleria fowleri* were seen in eight of the samples; other parasites were observed in the remaining seven samples. 37 % of the samples revealed faecal coliforms above 200/100 mL<sup>-1</sup> and 33,3 % showed an active *Escherichia coli* faecal contamination. These results show risk of human infection by several water-borne pathogenic microorganisms, which could be dangerous for users of the park.

**Key words:** Free-Living Amoebae, Parasite, *Escherichia coli*, microbiological quality of recreational water, thermal waters.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gallegos E. Amibas de vida libre potencialmente patógenas en cuerpos de agua de uso recreativo en el estado de San Luis de Potosí. México D.F.:Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México; 1997. [Tesis Doctoral].
- Cabanes P, Wallet F, Pringuez E, Pernin P. Assessing the risk of primary amoebic meningoencephalitis from swimming in the presence of environmental *N. fowleri*. Appl Environ Microbiol 2001;67(7):2927-31.
- Joklik W, Wilett H, Amos B, Wilfert C. Zinsser Microbiologia. 20 ed. Editorial Argentina:Médica Panamericana; 2000.
- U.S Food & Administration. Center for Food Safety & Applied Nutrition. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. January, 2003. Fecha de acceso: 2 de noviembre de 2004. Disponible en <http://www.cfsan.fda.gov/cgi-bin>
- Ockert G. Review Article: Ocurrence, parasitism and pathogenic potency of free living amoeba. Appl Parasitol 1993;34(2):77-88.
- Kasprzak W, Mazur T, Cerva L. *N. fowleri* in thermally polluted waters. Folia Parasitol (Praha) 1982;29(3):211-8.
- Organización Mundial de la Salud/Organización Panamericana de la Salud (OMS/OPS). Guías para la calidad del agua potable. Publicación No. 481, 1985;1:1-40.
- Rodríguez M. Parásitos intestinales. Métodos de Diagnóstico. Venezuela:Escuela de Malariaología y Saneamiento Ambiental "Dr. Arnoldo Gabaldon", Maracay; 2000.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Método para recuento de microorganismos aerobios en placas de Petri - COVENIN # 902-87. Caracas: Ministerio de Fomento; 1987.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Alimentos. Determinación del Número Más Probable (NMP) de Coliformes, Coliformes Fecales y *Escherichia coli*. COVENIN # 1104-84. Caracas:Ministerio de Fomento; 1984.
- Gaceta Oficial de la República de Venezuela. N° 5.021 Extraordinario. Decreto N° 883. Fecha octubre 11- 1995.
- Barwick R, Levy D, Craun G, Beach M, Calderon R. Surveillance for water-borne disease outbreaks associated with recreational water-United States, 1997-1998. In: CDC Surveillance Summaries, May 26, 2000. MMWR 2000;49(N°SS4):1-32.
- Lee S, Levy D, Craun G, Rebecca M, Calderon R. Surveillance for water-borne disease outbreaks associated with recreational water-United States, 1999-2000. In: CDC Surveillance Summaries, Nov 22, 2002. MMWR 2002;51(N°SS8):1-28.
- Yoder J, Blackburne B, Graun G, Hill V, Levy D, Chen N, et al. Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with recreational water-United States, 2001-2002. In: CDC Surveillance Summaries, Oct 22, 2004. MMWR 2004;53(N°SS8):1-22.
- Masoun N, Saoud A, Nashed N, Yousef F. Fresh water amoebae from four aquatic sites in Egypt. J Egypt Soc Parasitol 1991;21(1):15-22.
- Rivera F, Ramírez P, Vilaclara G, Robles E, Medina F. A survey of pathogenic and free-living amoebae inhabiting swimming pool water in México City. Environ Res 1983;32(1):205-11.
- Sheroy S, Wilson G, Preshant H, Vidyakshmi K, Dhanashree B, Bharath. Primary meningoencephalitis by *N. fowleri*: First reported case from Mangalona south India. J Clin Microbiol 2002;40(1):309-10.
- Muñoz V, Reyes H, Todre P, Cárcamo C, Gottlieb G. Isolation of free living amoebae from public swimming pool in Santiago, Chile. Parasitol Latinoam 2003; 58(3-4):106-11.
- Zaman V. Atlas de Parasitología Clínica. Medicina Panamericana. Madrid:Editorial S.A.; 1979. p. 26-33.
- Michel R, Burghardt H, Bergmann H. *Acanthamoeba*, naturally intracellularly infected with *Pseudomonas aeruginosa*, after their isolation from a microbiologically contaminated drinking water system in a hospital. Zentralbl Hyg Umweltmed 1995;196(6):532-44.
- Harf C, Montiel H. Interactions between free-living amoebae and *Legionella* in the environment. Water Sci Technol 1988;(20):235-9.
- Fernández I, Poleo C. *Blastocystis hominis* y su relación con trastornos gastrointestinales. Maracay:Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Núcleo Aragua; 1989.
- World Organization Health (WHO). Guidelines for safe recreational water environments. Faecal pollution and water quality; 2003. p. 53-4. Disponible en: [http://www.Who.int/entity/water\\_sanitation\\_health/bathing/srwc/-chap 4.pdf](http://www.Who.int/entity/water_sanitation_health/bathing/srwc/-chap 4.pdf).

Recibido: 15 de marzo de 2005. Aprobado: 8 de febrero de 2006.  
 Dra. Vilma Llovera. Universidad de Carabobo Núcleo Aragua,  
 Maracay, Venezuela. Correo electrónico: Vilmj15@yahoo.com