ARTÍCULO ORIGINAL

Acanthamoeba spp. y Naegleria spp. aisladas del Río Pamplonita, zona metropolitana de Cúcuta, Colombia

Acanthamoeba spp. and Naegleria spp. isolated from Pamplonita river, metropolitan area of Cucuta, Colombia

Victor Andrés Duque Nossa, Vladimir Alejandro Gelvis Corzo, Yesmit Karina Ríos Ramírez

Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Santander UDES. Cúcuta, Colombia.

RESUMEN

Introducción: Acanthamoeba y Naegleria son géneros de amebas de vida libre resistentes a cambios extremos de temperatura y pH, aislados de diversos ambientes (suelo, aire y agua). Debido a la cantidad de habitantes que se benefician de las aguas del Río Pamplonita, al desconocimiento de su presencia en la región y al aumento de enfermedades relacionadas con el consumo de agua, se considera necesario realizar estudios sobre la distribución de estos microorganismos.

Objetivo: Identificar *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. en aguas del curso principal del río Pamplonita de la zona metropolitana de Cúcuta, Colombia.

Métodos: La búsqueda de las amebas de interés se realizó mediante examen directo y cultivo a 28, 37 y 42 °C en agar no nutritivo a partir de 21 muestras de agua de siete sectores del río Pamplonita. Adicionalmente, se midió pH y temperatura *in situ* y se determinó la carga de coliformes.

Resultados: Se encontró que 76,2 % de las muestras fueron positivas para alguna de las amebas. La *Acanthamoeba* fue la que se aisló con mayor frecuencia. El 28,6 % de los cultivos incubados a 42 °C fueron positivos principalmente para *Naegleria* spp., lo que indica que estos aislados termotolerantes podrían tener potencial patógeno. **Conclusiones:** *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. son frecuentes en aguas del Río Pamplonita en áreas de importante intervención humana. El hallazgo de amebas termotolerantes alerta sobre el riesgo de salud para la población que se encuentra expuesta a esta fuente hídrica.

Palabras clave: *Acanthamoeba*; *Naegleria*; amebas de vida libre; protozoo; ambiente; agua.

ABSTRACT

Introduction: Acanthamoeba and Naegleria are genus of free-living amoeba (AVL) resistant to extreme changes in temperature and pH, isolated from different environments (soil, air and water). Due to the number of inhabitants that benefit from the waters of Pamplonita River, the lack of knowledge about its presence in the region and the increase of diseases related to water consumption, it is necessary to carry out studies on its distribution.

Objective: To identify *Acanthamoeba* spp and *Naegleria* spp in the water of the main course of Pamplonita River, in the metropolitan area of Cúcuta, Colombia.

Methods: The search for the amoebas of interest was performed by direct examination and culture at 28, 37 and 42 °C on non-nutritive agar from 21 water samples from seven sectors of Pamplonita River. Additionally, pH and temperature were measured *in situ* and the coliforms' load was also determined.

Results: It was found that 76.2 % of the samples were positive for some of the amoebas, with *Acanthamoeba* being the most frequently isolated. 28.6 % of the cultures incubated at 42 °C were positive mainly for *Naegleria* spp, indicating that these thermotolerant isolates could have pathogen potential.

Conclusions: Acanthamoeba spp and Naegleria spp are frequent in waters of Pamplonita River which are areas of important human intervention. The finding of thermotolerant amoebas warns about the health risk for the population that is exposed to this water source.

Keywords: *Acanthamoeba*; *Naegleria*; free-life amoebae; protozoa; environment; water.

INTRODUCCIÓN

La cuenca del Río Pamplonita pertenece a la Gran Cuenca del Catatumbo y vierte sus aguas al lago de Maracaibo en la República Bolivariana de Venezuela. Dentro de la cuenca hidrográfica se encuentran las áreas territoriales de los municipios de Pamplona, Pamplonita, Bochalema, Chinácota, Herrán, Ragonvalia, Los Patios, Cúcuta, Villa del Rosario y Puerto Santander, lo que corresponde a casi el 65 % de la población del departamento de Norte de Santander, concentrada en un área de 2 213 km².¹

La importancia a nivel social y económico del río se debe a que sus aguas son la principal fuente de abastecimiento para los municipios de Pamplona, Pamplonita, Los Patios y Cúcuta. Su curso superficial está expuesto a una amplia gama de factores que incluyen la descarga de aguas residuales derivadas de actividades antropogénicas de tipo doméstico, agrícola, minero e industrial, provenientes de los municipios de la zona de influencia directa y que podrían alterar su calidad biológica. En estas condiciones el uso de las aguas superficiales del Río Pamplonita, implica un riesgo de transmisión de enfermedades dada la naturaleza de los diversos agentes que le afectan.²

En las aguas superficiales se puede encontrar una amplia gama de microorganismos como virus, bacterias y protozoos propios del ecosistema que intervienen en el desarrollo de ciclos biológicos y otros provenientes de fuentes de contaminación humana y de animales que se pueden diseminar fácilmente en el ambiente, lo que afecta a la población que entre en contacto con esta fuente, al causar cuadros disentéricos, diarrea y gastroenteritis de intensidad variable que pueden llegar a ser fatales.³

En este grupo de microorganismos, es posible encontrar amebas de vida libre (AVL), las cuales, si bien son un grupo bastante grande de protozoarios con diversas características morfológicas, solo los géneros *Acanthamoeba*, *Balamuthia*, *Naegleria*, *Vermamoeba* y *Sappinia* tienen potencial patogénico, que causan desde encefalitis hasta afecciones oculares y cutáneas tanto en individuos en estado de inmunosupresión como en inmunocompetentes. Sin embargo, el número de casos informados por infecciones de este tipo no son muy altos debido en parte al desconocimiento de la morfología de estos protozoos, pasándolos por alto a la hora del diagnóstico o porque las manifestaciones clínicas son atribuidas a otro tipo de patógenos que pueden estar ocasionando el mismo cuadro en el individuo infectado.⁴

En su ambiente natural, las AVL son parte esencial de las comunidades microbianas debido a que regulan las poblaciones bacterianas al alimentarse de ellas y contribuyen al reciclaje de nutrientes; pero también pueden servir como hospederos, vehículos y reservorios de bacterias patógenas y otros microorganismos como hongos y virus.⁵

Las AVL pueden sobrevivir a condiciones hostiles, debido en parte a su habilidad de cambiar de trofozoito móvil a quiste inmóvil de acuerdo con las condiciones del ambiente en el que se encuentra; es así como en fase de trofozoito, se alimentan activamente de otros microorganismos como bacterias y durante periodos de inanición, hipoxia y cambios de temperatura extrema, se ve obligado a transformarse en quiste que le permite sobrevivir incluso a procesos de tratamiento de agua.⁶

En Colombia se han hecho pocos estudios relacionados con la presencia de AVL en agua, haciendo especialmente énfasis en el género *Acanthamoeba*.⁷⁻¹¹ En Norte de Santander y Cúcuta a pesar de haber diversos estudios enfocados en el río Pamplonita, no hay investigaciones que muestren el impacto y distribución de estos protozoarios en su ecosistema, ni mucho menos se le ha dado relevancia a la población bacteriana que puede usar a esas amebas como reservorios, más allá de los estudios de calidad microbiológica del agua que involucran coliformes totales y fecales.¹²

Esta habilidad que tienen las AVL para tolerar cambios extremos de factores en el ambiente, las hacen posibles reservorios para bacterias, así como también avalan su propio potencial patógeno. Estas dos condiciones muestran la necesidad de realizar estudios sobre su distribución en ecosistemas. Por tal motivo, el objetivo principal de esta investigación fue identificar *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. en aguas del curso principal del río Pamplonita de la zona metropolitana de Cúcuta, Colombia, para describir su distribución y el posible impacto en la población.

MÉTODOS

Diseño del estudio. El estudio fue de tipo descriptivo, de corte transversal debido a que se centró en demostrar la presencia de *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. en aguas del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Población y muestra. Curso principal del Río Pamplonita. Para seleccionar los puntos de muestreo, se tuvo en cuenta algunas zonas de interés ambiental ubicadas en el área metropolitana de Cúcuta, capital del departamento Norte de Santander, al Noreste de Colombia. Para esta selección se tomaron en cuenta también puntos de muestreo de interés establecidos por CORPONOR, entidad ambiental regional pertinente. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: actividad humana y recreativa, cercanías al suministro de agua para acueductos municipales y zonas de descarga de aguas residuales tanto industriales como domésticas. Se decidió excluir muestras con residuos

sólidos y partículas orgánicas visibles que pudieran interferir con el procesamiento posterior, al igual que muestras provenientes de áreas externas a las zonas delimitadas. Los siete sectores elegidos se relacionan en la tabla 1.

Nombre Descripción Coordenadas del punto 7°44'50.6"N La Garita Vegetación baja, utilizado como balneario 72°32'43.0"W Vegetación alta y baja aislado de la civilización 7°48'48.1"N Bocatoma (Poca influencia humana directa) 72°31'27.0"W Vegetación alta, cercano a zona con cascadas, 7°52'06.3"N San Rafael ubicado frente al puente de San Rafael 72°30'03.4"W 7°53'51.6"N Vegetación muy alta, ubicado junto al puente de San Luis 72°29'03.3"W Escasa vegetación cerca al sector se encuentra García 7°55'35.1"N industrias manufactureras, ubicado bajo el puente Herreros 72°29'03.0"W García Herreros Cercano al sector de la cárcel modelo, vegetación 7°56'43.0"N Cárcel muy alta. Cerca a este punto desemboca el Canal 72°29'11.5"W Bogotá Vegetación muy alta, junto a la carretera que

Tabla 1. Sectores de muestreo del Río Pamplonita

Recolección y análisis físico-químico *in situ*. Entre julio y diciembre de 2016, se realizaron tres muestreos bimestrales en cada uno de los puntos seleccionados a lo largo de la cuenca del Río Pamplonita. Para cada punto de muestreo se recolectó 1 L de agua en botellas estériles, las cuales fueron transportadas inmediatamente al laboratorio de microbiología de la Universidad de Santander campus Cúcuta para su respectivo análisis. Al momento de la recolección, se registró temperatura del agua y pH con el equipo Starter 300 (OHaus®, USA)

lleva a la vereda El Cerrito. En el sector hav

actividad de empresas manufactureras

Recuento de colifomes totales. Para la determinación de coliformes en cada una de los puntos, se usaron placas Petrifilm[™] (3M Microbiology, USA), inoculadas con 1 mL de agua de cada muestra siguiendo instrucciones del fabricante. Cada placa fue incubada 24 h a 37 °C para el posterior recuento de colonias.¹³

Identificación y aislamiento de amebas de vida libre. Cada muestra de agua se filtró en un sistema al vacío con membranas de nitrocelulosa con un tamaño de poro de 0,45 μm. Las membranas se enjuagaron con 10 mL de PBS (*buffer* salino fosfato) pH 7,2, se homogenizaron en vortex por 5 min y se centrifugarán a 3 500 rpm por 10 min. El pellet se resuspendió en aproximadamente 2 mL de solución de Page. Se usaron 50 μL para la realización de examen directo en búsqueda de AVL al microscopio óptico en objetivo de 10X y 40X, 50 μL para la realización de coloración de field modificado y 200 μL/plato para ser inoculados en agar no nutritivo con *Escherichia coli* ATCC 25922. En total se sembraron seis platos por muestra, los cuales fueron incubados a tres temperaturas diferentes: dos platos a temperatura ambiente (± 28 °C), dos platos a 37 °C y dos platos a 42 °C; que se observaron diariamente por microscopia de luz en búsqueda de crecimiento amebiano y determinar termotolerancia. Se usaron dos platos de agar no nutritivo inoculados con PBS estéril como control negativo. La identificación

El Cerrito

7°57'37.3"N

72°28'27.9"W

de *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. se basó en la morfología mediante clave taxonómica de Page.¹⁴ Los cultivos fueron vigilados durante 15 días, tiempo después del cual fueron descartados en caso de no presentar crecimiento.

Análisis de resultados. Para la organización y análisis de los datos obtenidos se empleó Microsoft Excel® y el Software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., USA) para graficar e informar frecuencias de los aislados usando estadística descriptiva.

RESULTADOS

5±0,0

28,7±0,58

pН

To (oc)

5±0,0

30±0.0

Se realizaron mediciones *in situ* del pH y temperatura en cada uno de los puntos de muestreo en los tres tiempos de recolección establecidos. Los valores que corresponden a la media de tres muestreos, se relacionan en la <u>tabla 2</u>.

Con respecto a la cantidad de coliformes presentes en el agua de los siete sectores, la carga microbiana fue incontable en la mayoría de los puntos analizados y solamente estuvo dentro de los rangos contables en los puntos de La Garita y Bocatoma durante el primer muestreo, con 150 y 90 UFC/mL, respectivamente.

Puntos de muestreo Parámetros físico-Sector Sector Sector Sector Sector García Sector Sector -químicos Bocatoma San Rafael San Luis El Cerrito La Garita Herreros Cárcel

5±0,0

29,7±0,58

5,3±0,57

29,7±0,58

5±0,0

29,3±0,58

Tabla 2. Parámetros físico-químicos analizados en siete puntos del Río Pamplonita

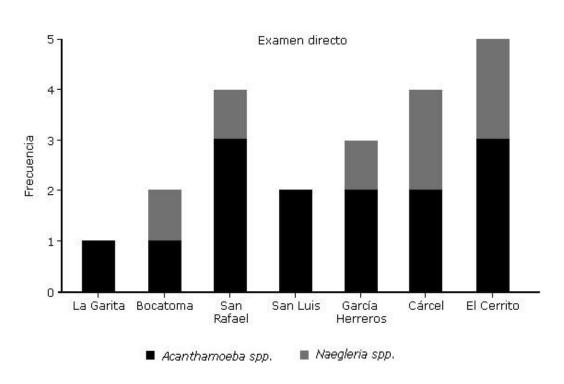


Fig. Presencia de formas evolutivas de *Acanthamoeba spp.* y *Naegleria spp.* en cada sector muestreado.

6,7±0,57

27,7±3,06

6,7±0,57

27,7±3,0

A partir del total de muestras, fue posible encontrar al examen directo formas evolutivas de AVL de interés en la totalidad de los puntos en al menos una de las tres recolecciones. *Acanthamoeba* spp. se obtuvo en los sedimentos de todas las muestras y fue la única que se evidenció en los sectores La Garita y San Luis. *Naegleria* spp. se identificó en cinco de los sectores en al menos uno de los muestreos (Fig.).

El 76,2 % de las muestras fueron positivas para alguna de las dos amebas de interés, siendo *Acanthamoeba* spp. el organismo prevalente en todos los muestreos en un 42,9 %; mientras que *Naegleria* spp. se encontró en un 9,5 % de los análisis en fresco y ambos géneros se hallaron en el 23,8 % de los casos (tabla 3). Cabe anotar que de las catorce muestras que resultaron positivas para *Acanthamoeba* spp, se hallaron trofozoitos con acanthapodios en once de ellas y quistes en solamente tres de las observaciones. Por su parte, *Naegleria* spp. se halló unicamente en estadío quístico en todas las muestras que evidenciaron su presencia.

Examen directo	No.	%
Acanthamoeba spp.	9	42,9
Naegleria spp.	2	9,52
Acanthamoeba spp./Naegleria spp.	5	23,8
Negativo	5	23,8
Total	21	100

Tabla 3. Frecuencia de *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. al examen directo

Con respecto a los cultivos derivados de los sedimentos de las muestras recolectadas, fue posible evidenciar crecimiento de amebas en todas las temperaturas. Aquellos aislados obtenidos a 28 °C, pertenecieron únicamente a formas de *Acanthamoeba* spp. en su mayoría (57,1 %); mientras que dos aislados de *Naegleria* spp. se obtuvieron de los sectores San Rafael y El Cerrito (9,52 %) y uno en donde se presentaron las dos amebas a la vez (4,76 %) correspondiente al punto Cárcel. No se obtuvo crecimiento de ninguna de estas amebas a esta temperatura en el 28,57 % de los cultivos (tabla 4).

Tabla 4. Acanthamoeba spp. y Na	egleria spp. aisladas de cultivos
a tempera+tura ar	nbiente (28 °C)

Punto de	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	
muestreo	Temperatura ambiente (28°C)			
La Garita	Ausencia	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	
Bocatoma	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	Ausencia	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	
San Rafael	Ausencia	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	
San Luis	Quiste de Acanthamoeba spp.	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	
García Herreros	Quiste de Acanthamoeba spp.	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	
Cárcel	Ausencia	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.; Trofozoito de <i>Acanthamoeba</i> spp	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	
El Cerrito	Ausencia	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Ausencia	

En la <u>tabla 5</u> se pueden apreciar las observaciones derivadas de los cultivos incubados a 37 °C. El 52,38 % de los cultivos fueron negativos y *Naegleria* spp. se obtuvo en 28,57 %, siendo la ameba predominante en esta temperatura. Por su parte, la frecuencia de *Acanthamoeba* spp. fue tres veces inferior en contraste a los cultivos incubados a 28 °C. En este caso, 47,61 % de los cultivos resultaron positivos para los géneros de amebas de interés.

El número de cultivos positivos para AVL libre a 42 °C fue de 28,56 %, y ambos géneros se encontraron en igual proporción (tabla 6). El crecimiento de ambos géneros disminuyó considerablemente en comparación con lo registrado en los aislados de las otras temperaturas empleadas en el estudio.

Tabla 5. Acanthamoeba spp. y Naegleria spp. aisladas de cultivos a 37 °C

Punto de	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	
muestreo	Temperatura ambiente (37 °C)			
La Garita	Ausencia	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Ausencia	
Bocatoma	Ausencia	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Ausencia	
San Rafael	Ausencia	Quiste de <i>Acanthamoeba</i> spp.; Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	
San Luis	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	Ausencia	
García Herreros	Ausencia	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Ausencia	
Cárcel	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Ausencia	
El Cerrito	Ausencia	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Ausencia	

Tabla 6. Acanthamoeba spp. y Naegleria spp. aisladas de cultivos a 42 °C

Punto de	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	
muestreo	Temperatura ambiente (42 °C)			
La Garita	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
Bocatoma	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
San Rafael	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
San Luis	Ausencia	Trofozoito de Acanthamoeba spp.	Quistes y trofozoitos de <i>Acanthamoeba</i> sp.	
García Herreros	Ausencia	Ausencia	Ausencia	
Cárcel	Quiste de <i>Acanthamoeba</i> spp; Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.; trofozoito de <i>Acanthamoeba</i> spp.	Ausencia	
El Cerrito	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Quiste de <i>Naegleria</i> spp.	Ausencia	

DISCUSIÓN

Las AVL son protozoos de distribución mundial, recuperadas de diversos ambientes naturales tales como suelos y agua; así como ambientes adecuados por el hombre, en donde pueden sobrevivir a condiciones hostiles e incluso servir como rutas de transmisión y diseminación de patógenos potenciales para humanos y animales. Están implicadas en el desarrollo de infecciones tanto en humanos, como en animales; especialmente en épocas de sequía, a causa del uso de fuentes de agua contaminadas para fines recreativos.^{6,15}

En el presente estudio se pudo evidenciar la presencia de *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. en sectores de importante influencia humana del río Pamplonita que recorre el área metropolitana de la Ciudad de Cúcuta, Colombia. Estos resultados podrían considerarse como el primer informe de su hallazgo en la cuenca del río el cual es la principal fuente hídrica de la ciudad.

Alzate y la Corporación Autónoma Regional de la Frontera Nororiental informaron una serie de factores en torno al conflicto socioambiental de la región que derivan en el mal uso del recurso hídrico como, por ejemplo, la captación ilegal de aguas a lo largo del curso del río, la tala indiscriminada de bosques aledaños, el vertimiento de lixiviados y contaminación con uso de químicos y otros residuos de origen agroindustrial. ^{1,2} La amplia descarga de desechos, provee una amplia fuente de materiales orgánicos y de bacterias como coliformes que pueden servir de alimento a protozoos. En este caso en particular, se pudo observar que en el 90 % de las muestras analizadas la cantidad de coliformes fue tan elevada, que superó la capacidad de detección y conteo permitido por el método utilizado. ¹³ Estos resultados son similares a los obtenidos por *Ettinger* y otros y *Ávila* y otros, quienes informaron contaminación de moderada a elevada con coliformes en presencia de AVL, en especial las del genero *Naegleria*. ^{16,17}

En esta investigación se pudo observar que ni el pH, ni la temperatura fueron factores restrictivos para la presencia de *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. en los sectores seleccionados para el muestro, lo que coincide con *Ettinger* y otros y *Tsvetkova* y otros.^{17,18} Se pudo observar que los registros de pH más altos se presentaron en los puntos Cárcel y El Cerrito, posiblemente debido a las características de desechos que van a parar a sus aguas. Estos datos permitirían inferir que el incremento del pH en el curso del río podría estar favoreciendo la presencia de especies del género Naegleria por encima de otras AVL especialmente en las zonas donde la intervención humana se hace más evidente; mientras que, en ambientes ácidos, especies de *Acanthamoeba* parecen proliferar.

Como ya se mencionó en el apartado anterior, al realizar examen directo el 76,2 % de las muestras fueron positivas para alguna de las dos amebas de interés, siendo *Acanthamoeba* spp. el organismo prevalente en todos los muestreos en el 42,9 %; mientras que *Naegleria* spp. se encontró en el 9,5 % de los análisis en fresco y ambos géneros se hallaron en el 23,8 % de los casos. Esto difiere de lo informado en otro estudio realizado en Colombia por *Carbal* y otros en 2016, en el cual 55,5 % de las identificaciones por examen directo mostraron presencia de AVL y la ameba más prevalente fue *Naegleria* spp. con una frecuencia de 44 %.¹¹

Con respecto a los resultados obtenidos en los cultivos, son de interés especial aquellos aislados que lograron crecer y mantenerse a 37 °C y 42 °C. En el presente estudio se lograron obtener porcentajes importantes de amebas creciendo a estas temperaturas (47,61 % y 28,56 %, respectivamente). Previamente, se ha informado la capacidad de *Naegleria fowleri* de resistir temperaturas por encima de 45 °C y algunas cepas de

Acanthamoeba a 42 °C; mientras que cepas no patógenas se creen que son incapaces de crecer a temperaturas superiores a los 37 °C.^{18,19} Los resultados aquí registrados, son consistentes con lo encontrado por *Khan* y *Tareen* en 2003, *Górrnik* y otros en el 2004 y a lo hallado por *Gianinazzi* y su equipo en 2009.¹⁹⁻²¹

Acanthamoeba spp. y Naegleria spp. son frecuentes en aguas del río Pamplonita en áreas de importante intervención humana. El hallazgo de amebas termotolerantes alerta sobre el riesgo de salud para la población que se encuentra expuesta a esta fuente hídrica. Esta observación se realiza porque además de ser organismos que podrían tener potencial patógeno per se, también podrían estar actuando como reservorio protector de otros microorganismos perjudiciales como bacterias, hongos, virus y otros protozoos.²² Teniendo en cuenta lo anterior, es necesario establecer medidas de seguimiento a las poblaciones amebianas que proliferan en los puntos del río a partir de los cuales se logró obtener cepas termotolerantes con la finalidad de generar estrategias de prevención de infecciones humanas y animales que se benefician de las aguas del Pamplonita.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado con recursos de Convocatoria Interna Focalizada de Proyectos de Investigación y Desarrollo Tecnológico, 2015 de la Universidad de Santander.

Conflicto de intereses

Los autores del presente artículo declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Alzate VD. Plan de ordenación y manejo de la cuenca hidrográfica del río Pamplonita [Internet]. 2013 [citado 10 Mayo 2017]. Disponible en: http://repositorio.gestiondelriesgo.gov.co/bitstream/20.500.11762/22602/1/37-POMCH Pamplonita ajustado.pdf
- 2. Corporación Autónoma Regional de la Frontera Nororiental C. Marco conceptual y metodológico del plan de ordenación y manejo de la cuenca del río Pamplonita [Internet]. CORPONOR. 2014 [citado 10 Mayo de 2017]. Disponible en: http://corponor.gov.co/publica recursos/pomca/TOMO I MARCO CONCEPTUAL Y METODOLOGICO.pdf
- 3. Aurazo de Zumaeta M. Tratamiento de agua para consumo humano. Plantas de filtración rápida Manual. En: Aurazo de Zumaeta M. Aspectos biológicos de la calidad del agua. Lima: CEPIS/OPS; 2004.
- 4. Yousuf F, Siddiqui R, Subhani F, Khan N. Status of free-living amoebae (*Acanthamoeba* spp., *Naegleria fowleri, Balamuthia mandrillaris*) in drinking water supplies in Karachi, Pakistan. Journal of Water and Health. 2013;11(2):371.

- 5. Thomas V, McDonnell G, Denyer S, Maillard J. Free-living amoebae and their intracellular pathogenic microorganisms: risks for water quality. FEMS Microbiology Reviews. 2010;34(3):231-59.
- 6. Cateau E, Delafont V, Hechard Y, Rodier M. Free-living amoebae: what part do they play in healthcare-associated infections? Journal of Hospital Infection. 2014;87(3):131-40.
- 7. Vélez VM, Zapata SA, Ortiz MD, Trujillo HM, Restrepo GA, Garcés SC. Reporte de caso y revisión de la literatura de caso de paciente con meningoencefalitis por amebas de vida libre. Infectio. 2013;17(3):153-9.
- 8. Nicholls S, Duque S, Arévalo A, Saravia, Guio S, Leal Y, Camacho I. Presentación de un caso de Meningoencefalitis Amebiana Primaria (MAP). XI Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical Instituto Nacional de Salud; 2003. p. 65.
- 9. Rodríguez, F, Marinkelle, CJ, Osorio, M.Primer hallazgo en Colombia de amibas de vida libre en mucosa nasal humana. Biomédica. 1991;1:73-4.
- 10. Muñoz Zapata X, Quintero Ruíz G. Determinación de Acanthamoeba spp. en piscinas públicas del municipio de Chinchiná Caldas. 2014 [citado 01 Jun 2017]. Disponible en: http://repositorio.ucm.edu.co:8080/jspui/handle/10839/953
- 11. Carbal Reyes L, Foen Alarcón L, Morales-Aleans M, Orozco-Ugarriza M. Amebas de Vida Libre aisladas en aguas superficiales del municipio de Turbaco, Bolívar-Colombia. Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2016 Abr [citado 01 Jun 2017];68(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci arttext&pid=S0375-07602016000100006&lng=es
- 12. Corporación Autónoma Regional de la Frontera Nororiental-CORPONOR. Análisis Río Pamplonita 2012 [En Línea] [citado 01 Jun 2017]. Disponible en: http://www.corponor.gov.co/control calidad/2014/ANALISIS RIO PAMPLONITA.pdf
- 13. 3M Microbiology, Placas Petrifilm™ para el Recuento de Coliformes. Guía de interpretación [en Línea] 2006 [citado 20 Abril 2017]. Disponible en: http://multimedia.3m.com/mws/media/4449430/petrifilm-coliform-count-plate-interpretation-quide-spanish.pdf
- 14. Page FC. A new key to freshwater and soil gymnamoebae. Ambleside, United Kingdom: Freshwater Biological Association; 1988.
- 15. Trabelsi H, Dendana F, Sellami A, Sellami H, Cheikhrouhou F, Neji S, et al. Pathogenic free-living amoebae: Epidemiology and clinical review. Pathologie Biologie. 2012;60(6):399-405.
- 16. Ávila I, Rodriguez M, Infante D. Amibas de vida libre potencialmente patógenas en aguas del parque "Las Cocuizas", Maracay, Venezuela. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2006;58(1):19-24.
- 17. Ettinger M, Webb S, Harris S, McIninch SC. Garman G, Brown B. Distribution of free-living amoebae in James River, Virginia, USA. Parasitology Research. 2002;89(1):6-15.
- 18. Tsvetkova N, Schild M, Panaiotov S, Kurdova-Mintcheva R, Gottstein B, Walochnik J, et al. The identification of free-living environmental isolates of amoebae from Bulgaria. Parasitol Res. 2004;92(5):405-13.

Revista Cubana de Medicina Tropical. 2018;70(3)

- 19. Khan NA, Tareen NK. Genotypic, phenotypic, biochemical, physiological and pathogenicity-based categorization of Acanthamoeba strains. Folia Parasitol (Praha). 2003;50:97-104.
- 20. Górnik K, Kuźna-Grygiel W. Presence of virulent strains of amphizoic amoebae in swimming pools of the city of Szczecin. Ann Agric Environ Med. 2004;11(2):233-6.
- 21. Gianinazzi C, Schild M, Wüthrich F, Ben Nouir N, Füchslin HP, Schürch N, Gottstein B, Müller N. Screening Swiss water bodies for potentially pathogenic free-living amoebae. Res Microbiol. 2009;160(6):367-74.
- 22. Scheid P. Relevance of free-living amoebae as hosts for phylogenetically diverse microorganisms. Parasitology Research. 2014;113(7):2407-14.

Recibido: 2 de junio de 2017. Aprobado: 7 de julio de 2018.

Yesmit Karina Ríos Ramírez. Avenida 4 Esquina Calle 10 Norte Urb el Bosque, Universidad de Santander UDES - Campus Universitario Cúcuta, Colombia. Correo electrónico: ye.rios@mail.udes.edu.co, karinariosr@live.com