
Identificación de *Naegleria* spp. y *Acanthamoeba* spp. en agua de fuentes de Ciudad Juárez, Chihuahua.

Claudia-Carolina Hernández-Peña^{1*}, Gabriela Saénz-Montoya¹, Sergio Alvarado-Soto², Jorge-Deciderio Carrillo-Méndez², Marisela-Yadira Soto-Padilla², Alejandro Otero-Ruiz³, Luis-Fernando Lares-Jiménez³

¹Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Cd. Juárez, Chihuahua.

²Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, Instituto de Ingeniería y Tecnología, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Cd. Juárez, Chihuahua.

³Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora.

Artículo recibido 18 de noviembre de 2019 y aceptado el 11 de diciembre de 2019

Identification of Naegleria spp. and Acanthamoeba spp. from fountain water in Ciudad Juárez, Chihuahua.

Abstract

Free-living amoebae (AVL) are cosmopolitan protozoa capable of establishing serious parasitic infections of various kinds in humans and animals. The *Acanthamoeba* and *Naegleria* genera have gained greater relevance since they have species that can behave as pathogenic and opportunistic parasites. Ciudad Juárez has 84 artificial fountains scattered throughout the city, of which there is no control of its water quality, and may be a focus of AVL proliferation of these genera. The objective of the study was to demonstrate the presence of *Acanthamoeba* spp. and *Naegleria* spp. in water from artificial fountains. Three fountains were selected, that were sampled in the months of July and October 2019. Samples were processed by the centrifugation method and incubated at 37 °C for 5 days. The isolates were tested at 3, 20, 37 and 45 °C for temperature tolerance. Likewise, PCR was performed to identify the genus *Acanthamoeba*, and the positive strains were tested for salinity tolerance. *Acanthamoeba* negative strains were tested for flagellar transformation, and positive strains underwent PCR testing to identify the genus *Naegleria*. A total of 13 isolates were obtained, of which four were positive for *Acanthamoeba* spp. From the *Acanthamoeba* spp. identified, the M1P2-C strain had the characteristic of growing up to 3.5% NaCl and 37 °C; while the M1P1-B, M2P1-B and M2P2-B strains did not grow in the presence of NaCl, but grew at 20 and 37 °C. Highlighting the M2P2-B strain that grew at 45 °C. Two isolates were identified as *Naegleria* spp. The M2P2-A and M2P2-A strains, had the ability to grow at temperatures of 20 and 37 °C, where the first one also grew at 45 °C. In the present study, it was identified that amoebae of the *Acanthamoeba* and *Naegleria* genera are present in the waters of artificial fountains in Ciudad Juárez.

Key words: *Naegleria*, *Acanthamoeba*, fountain water, free-living amoebae, water pollution, Ciudad Juárez, Chihuahua.

Resumen

Las amibas de vida libre (AVL), son protozoarios cosmopolitas capaces de establecer infecciones parasitarias graves de cursos diversos en el ser humano y en los animales. Los géneros *Acanthamoeba* y *Naegleria* han cobrado principal relevancia ya que tienen especies que se comportan como parásitos patógenos y oportunistas. Ciudad Juárez cuenta con 84 fuentes artificiales dispersas por la ciudad, de las cuales no se lleva

*Autor de correspondencia

Email: carolina.hernandez@uacj.mx
ISSN 2594-0384 (Electrónica)

un control de su calidad de agua, y pueden ser un foco de proliferación de AVL de estos géneros. El objetivo del estudio fue demostrar la presencia de *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. en agua de fuentes artificiales. Se seleccionaron tres fuentes, las cuales se muestrearon en el mes de julio y octubre de 2019, las cuales fueron procesadas por el método de centrifugación y se incubaron a 37°C por 5 días, para realizar los aislados. A las cepas aisladas se les realizó la prueba de temperatura a 3, 20, 37 y 45 °C. Asimismo, se les realizó la prueba de PCR para identificación del género *Acanthamoeba* spp. y las pruebas positivas se les realizó la prueba de tolerancia a la salinidad. A las cepas negativas para *Acanthamoeba*, se les realizó la prueba de transformación flagelar, y las cepas positivas se les hizo un PCR para confirmar el género *Naegleria* spp. Se realizaron 13 aislados en total, de los cuales cuatro resultaron positivos para *Acanthamoeba* spp., de las *Acanthamoebas* spp. identificadas se observó que la cepa M1P2-C tenía la característica de crecer hasta 3.5% de NaCl y 37°C; mientras que las cepas M1P1-B, M2P1-B y M2P2-B no crecieron en presencia de NaCl, pero crecieron a 20 y 37°C, destacando la cepa M2P2-B que creció a 45°C. Asimismo, se identificaron dos aislados *Naegleria* spp., las cepas M2P2-A y M2P2-A, quienes tuvieron la capacidad de crecer a temperaturas de 20 y 37 °C, donde la primera, también creció a 45°C. En el presente estudio se identificaron que amibas del género *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. se encuentran presentes en las aguas de fuentes artificiales de Ciudad Juárez.

Palabras claves: *Naegleria*, *Acanthamoeba*, agua de fuentes, amibas de vida libre, contaminación del agua, Ciudad Juárez, Chihuahua.

Introducción

Las amibas de vida libre (AVL), son microorganismos cosmopolitas, que viven en ambientes húmedos como el suelo o agua y se han encontrado además en el aire, ya que de esta forma se dispersan en el medio ambiente (Gallegos-Neyra et al., 2014), estos protozoarios son capaces de establecer infecciones parasitarias graves de cursos diversos en el ser humano y en los animales (Visvesvara, Moura y Schuster, 2007). Los géneros *Acanthamoeba* y *Naegleria* se conocen como microorganismos anfibios debido a que tienen la capacidad de existir como organismos de vida libre y como parásitos patógenos y oportunistas (Castrillón y Orozco, 2013; Lares-Jiménez y Lares-Villa, 2009). Debido a la importancia de sus patologías y la dificultad para establecer un diagnóstico y tratamiento adecuado (Oddo, 2006); *Naegleria fowleri*, agente causal de la meningoencefalitis amibiana primaria (MAP) (Marciano-Cabral, 1988), y *Acanthamoeba* spp. causales de graves enfermedades que involucran la córnea y amenazan la vista, como la queratitis por *Acanthamoeba* (QA) y enfermedades del sistema nervioso central como la encefalitis amibiana granulomatosa (EAG) que afecta principalmente a individuos inmunocomprometidos, a diferencia de la QA que afecta a individuos con un estado inmunológico normal, además de infecciones como

sinusitis diseminada y úlceras en la piel (Khan, 2006). Se sabe que las AVL se encuentran en contacto constante con los humanos, lo cual se ha reportado en evaluaciones inmunológicas donde la población presenta anticuerpos específicos a géneros como el de *Acanthamoeba* y *Naegleria* (Cabrero-Martínez et al., 2018; Marciano-Cabral y Cabral, 2007; Chappell et al., 2001).

Ciudad Juárez es una ciudad fronteriza en el norte de México, la cual colinda con El Paso, Texas en Estados Unidos. Cuenta con 84 fuentes en la localidad, y no presentan un monitoreo en la calidad de agua y limpieza, ya que actualmente en México no existe una legislación que regule el saneamiento de estos cuerpos de agua artificiales, los cuales pueden ser un punto de proliferación para este tipo de amibas. No existen antecedentes de estudios dirigidos a la detección de AVL en aguas artificiales en la región, como son las fuentes distribuidas en la ciudad. Por lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo demostrar la presencia de *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. en agua de fuentes artificiales.

Materiales y métodos

Muestreo

El estudio se realizó en aguas de tres fuentes localizadas de Ciudad Juárez, Chihuahua, las cuales fueron muestreadas en los meses de julio y octubre

del 2019. En la figura 1 se muestra la ubicación de las fuentes; P1 es la Fuente de las Américas (Latitud 31°44'14.90"N. Longitud 106°27'33.02"W), el P2 es la Fuente Los Indomables (Latitud 31°45'20.14"N, Longitud 106°27'18.49"W) y el P3 es la Fuente de Tin Tan (Latitud 31°44'20.09"N, Longitud 106°29'2.36"W). Las muestras se tomaron donde el agua se veía estancada y no estuvieran cerca de las tuberías de recirculación, primero se raspaba la pared de la fuente para despegar las amibas que pudiera haber entre la lama presente y las hendiduras de las paredes, se dejó reposar a que los sedimentos se asentaran, y posteriormente se tomó 1 L de agua en un recipiente de botella boca ancha estéril. En cada recolección se midió la temperatura del agua y el pH. Una vez tomada la muestra, se etiquetó el recipiente con el nombre, fecha, hora, temperatura y pH, posteriormente se transportaron al laboratorio de Biotecnología Aplicada del Instituto de Ciencias Biomédicas (ICB) de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ) a temperatura ambiente, donde las muestras fueron procesadas (en un tiempo no mayor a 6 horas)

(Lares-Villa y Hernandez-Peña, 2010).

Aislamiento

Las muestras se procesaron según la metodología sugerida por Lares-Jiménez y Lares-Villa (2009), las muestras se incubaron a 37 °C por 5 días, realizando observaciones en un microscopio invertido AmScope™ cada 24 horas para transferir amibas a nuevas placas, cuidando el no clonar las cepas de una misma muestra. Se descartaron todos aquellos aislamientos que no coincidieran con las características morfológicas de los géneros *Naegleria* y *Acanthamoeba* (Guzmán-Fierros, Jonckheere, & Lares-Villa, 2008).

Prueba de temperatura

Los aislados se resembraron en cuatro cajas Petri con agar no nutritivo con *Escherichia coli* (NNE), incubándose cada una a temperaturas de 3, 20, 37 y 45 °C por 5 días. Cada 24 horas se monitorearon para determinar si el crecimiento era positivo o negativo.

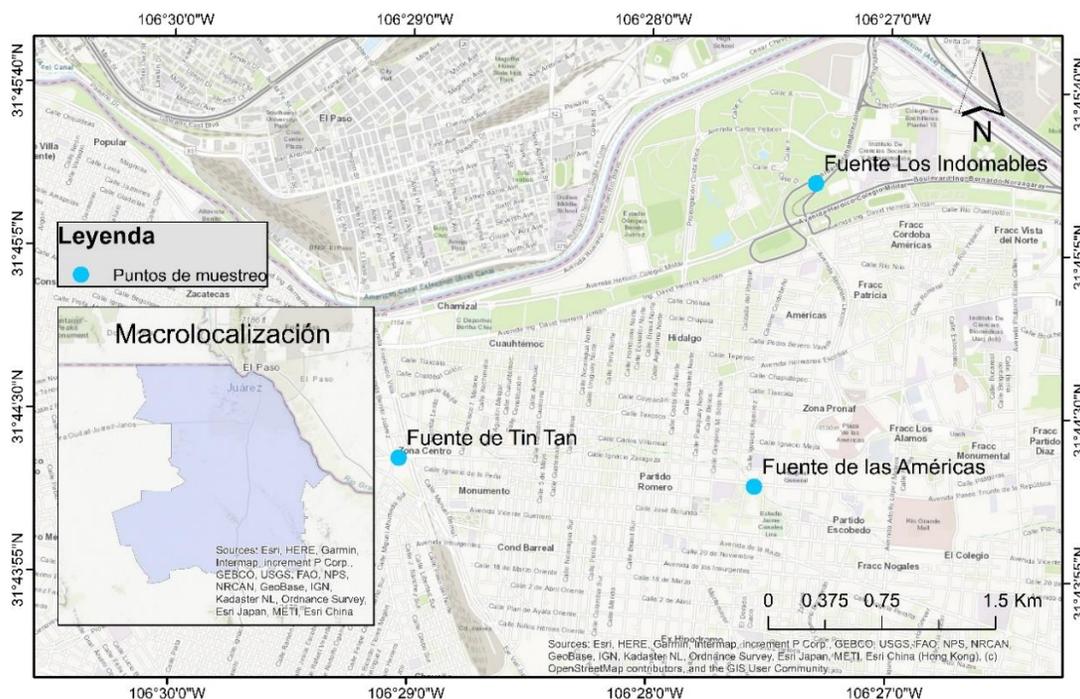


Figura 1. Mapa de Ciudad Juárez, donde se muestra la ubicación geográfica de los puntos de muestreo.

Cosecha, extracción y cuantificación de ADN

Se sembró cada cepa por duplicado en placas NNE, después se dejaron incubando a 37 °C durante 48 horas. Una vez que se observó la presencia masiva de trofozoitos, se cosecharon las amibas por medio de raspadores celulares y PBS. Posteriormente se realizaron 3 lavados con PBS con una centrifugación a 2000 RPM por 10 minutos. Una vez finalizado se realizó la extracción de ADN con el kit de extracción para células de “DNeasy Blood & Tissue Kits” de QIAGEN®. Por último, se midió a cada cepa la concentración de ADN por triplicado con el equipo “Nanodrop 2000c” de thermo scientific.

Identificación molecular de Acanthamoeba spp.

La identificación molecular del género *Acanthamoeba* se realizó utilizando los pares de primers JDP1 (5'-GGCCCAGATCGTTTACCGTGAA-3') y JDP2 (5-TCTCACAAGCTGCTAGGGGAGTCA-3'), con un amplicon de 423 a 551 pares de bases, el cual corresponde a fragmentos del 18SrDNA específico de *Acanthamoeba* spp. (Abdi et al., 2020). Por cada reacción de PCR se utilizó un volumen final de 25 µl, el cual consistió en 0.125 µl de GoTaq® Flexi DNA Polymerase, 1 µl (20 µmol) de cada primer, 2 µl de MgCl₂, 0.5 µl (10 mM de DNTP, 5 µl de 5X Green GoTaq® Flexi Buffer, 13.4 µl de agua Milli-Q y 2 µl de muestra de ADN. Las condiciones del termociclador fueron 5 minutos de incubación a 95 °C, después 35 ciclos (desnaturalización a 95 °C por 20 segundos, alineamiento a 62 °C por 40 segundos y extensión a 72 °C por 45 segundos), por último una elongación final de 72 °C por 5 minutos. El resultado se visualizó por medio electroforesis con gel de agarosa al 2%, teñido con bromuro de etidio y se utilizó el marcador de peso molecular 1 Kb “Hyper Ladder” de bioline.

Prueba de salinidad para Acanthamoeba spp.

De acuerdo con Botton et al. (2004), existe una relación entre patogenicidad y la capacidad de crecer a temperatura ambiente normal y la tolerancia a la salinidad. La prueba se realizó a los aislamientos de *Acanthamoeba* resultaron positiva en la identificación molecular de *Acanthamoeba* spp. Los aislamientos se sembraron en placas de NNE que contenían 0%, 1%, 2%, 3.2% y 3.5% de NaCl. Las pruebas se incubaron a 37 °C por 5 días.

Se registró si presentaron crecimiento en este tiempo.

Prueba de transformación flagelar

Se sembró una placa con agar NNE de cada muestra sospechosa de pertenecer al género *Naegleria*, y se incubó a 37 °C por 24 horas. Cuando se observaron amibas en forma de trofozoitos, se les añadió de 1 a 2 ml de agua destilada estéril, esto con la intención de disminuir la concentración de nutrientes en el medio y proporcionar un medio de desplazamiento para las amibas. Las cajas se incubaron a 37 °C por 4 horas, y se realizaron observaciones cada hora. La prueba se consideró positiva al observar amibas moviéndose de un lado a otro con las características del estado ameboflagelar de *Naegleria*; mientras que, en la prueba negativa, las amibas no presentaron movimiento propio a través del líquido manteniéndose en estado de tofozoito. Después de 4 h sin transformación la prueba se tomó como negativa (Page, 1988; Lares-Villa y Hernández-Peña, 2010).

Identificación molecular de Naegleria spp.

Las cepas que resultaron positivas en la prueba de transformación flagelar fueron cosechadas y se les extrajo el ADN y se cuantificó. En la PCR se utilizaron los primers ITS1 (5'-GAACCTGCGTAGGGATCATTT-3') y ITS2 (5'-TTTCTTTTCCTCCCCTTATTA-3'), con un amplicón 400 a 450 de pares de bases, el cual amplifica los Espaciadores Internos Transcritos (ITS por sus siglas en inglés), los cuales abarcan la región ITS 1, 5.8 SrDNA y ITS 2 (Najafpoor et al., 2018). La reacción de PCR por cada muestra fueron igual que las anteriores mencionadas, solo cambiando los primers utilizados. Las condiciones del termociclador fueron 3 minutos de incubación a 94 °C, después 35 ciclos (desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineamiento a 55 °C por 30 segundos y extensión a 72 °C por 45 segundos) por último una elongación final de 72 °C por 5 minutos. El resultado se visualizó por medio de las condiciones anteriores mencionadas.

Resultados

El muestreo se realizó en tres sitios: el punto P1 es una fuente que se caracteriza por tener un flujo constante de agua; el punto P2 consiste en una

fuelle que por su diseño casi no presenta corrientes de agua, solo lo que humedece a la escultura y el agua queda estancada en la pileta; y el punto P3 es una fuente pequeña que tiene un flujo constante de agua, además de ser la más turística de los tres sitios seleccionados. Las temperaturas en el mes de julio oscilaron entre 27-30 °C, mientras que en el octubre se observó una disminución considerable, ya que las temperaturas estuvieron entre los 20.5-21.4 °C. El pH no mostró mucha variación entre los dos muestreos, ya que fluctuó entre 8.22 ± 0.29 (Tabla 1). Se obtuvieron 13 aislados entre los dos meses de muestreo, de las cuales ocho fueron del primer muestreo y cinco del segundo muestreo. A todos los aislados se les realizaron las pruebas de temperatura (Tabla 2), observando que cinco de las cepas crecieron a 45 °C, mientras que todos los aislados crecieron a 20 y 37 °C, pero ninguno

presentó crecimiento a 3 °C. A los 13 aislados se les realizó la PCR para identificación de género *Acanthamoeba*, donde cuatro cepas fueron positivas (Figura 2), de las cuales dos cepas se aislaron del P1 (M1P1-B y M2P1-B) y las otras dos del P2 (M1P2-C y M2P2-B), una aislado correspondió a cada muestreo realizado en cada mes. A estas cepas, se les realizó la prueba de salinidad descrita por Booton *et al.* (2004), observando que solo la cepa M2P2-C creció en todas las concentraciones salinas, mientras que las otras tres cepas evaluadas no presentaron crecimiento cuando en ninguna de las concentraciones de NaCl. A los aislados que presentaron esta prueba negativa a *Acanthamoeba*, y su morfología era similar a *Naegleria*, (Tabla 3) se les realizó la prueba de transformación flagelar, dando a las cepas M2P1-A y M2P2-A la prueba positiva (Tabla 4), por lo que se realizó la PCR para

Tabla 1. Fecha, temperatura (°C) y pH de los muestreos realizados en el agua de fuentes de Ciudad Juárez, Chihuahua.

Mes	P1		P2		P3	
	Temperatura	pH	Temperatura	pH	Temperatura	pH
Julio	27	7.92	30	8.20	28.5	7.93
Octubre	20.5	8.53	21	8.62	21.4	8.17

P1=Fuente de las Américas, P2= Fuente los Indomables, P3= Fuente de Tin Tan

Tabla 2. Resultados de la prueba de temperatura de las 13 cepas aisladas.

Clave muestreo	Clave PCR	Temperatura (°C)			
		3	20	37	45
M1P1-A	1	-	+	+	-
M1P1-B	2	-	+	+	-
M1P1-C	3	-	+	+	-
M1P1-D	4	-	+	+	+
M1P2-A	5	-	+	+	-
M1P2-B	6	-	+	+	+
M1P2-C	7	-	+	+	-
M1P3-A	8	-	+	+	+
M2P1-A	9	-	+	+	+
M2P1-B	10	-	+	+	-
M2P2-A	11	-	+	+	-
M2P2-B	12	-	+	+	+
M2P3-A	13	-	+	+	-

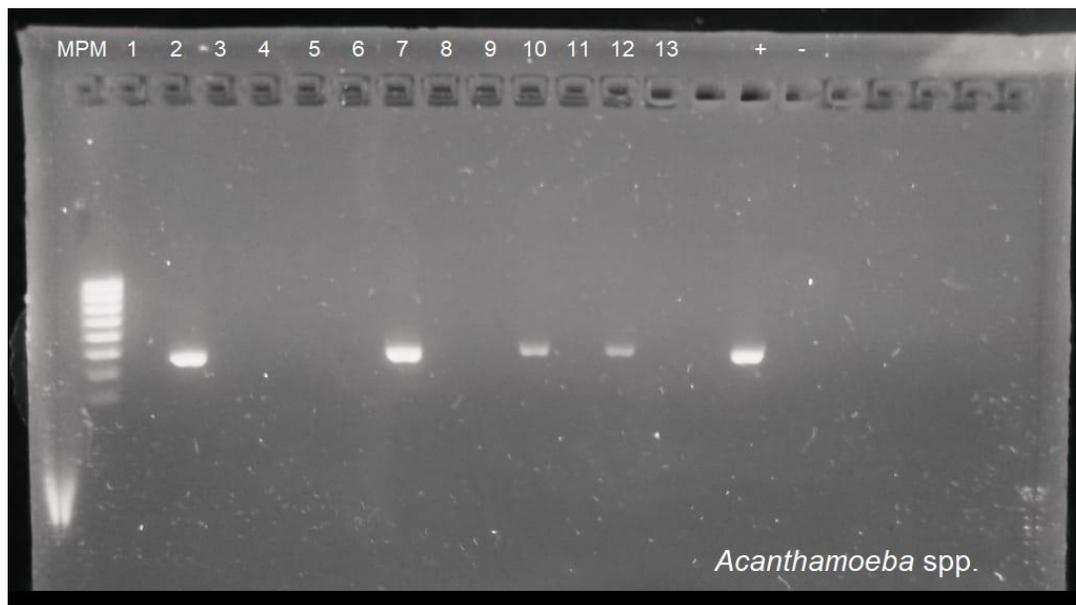


Figura 2. Gel de electroforesis de las amplificaciones para la identificación de *Acanthamoeba* spp. En los carriles de izquierda a derecha se parecen, el marcador de peso molecular (MPM), las 13 muestras (Tabla 2), carril 15 control positivo y en el carril 16 control negativo.

Tabla 3. Prueba de salinidad donde se reportó el crecimiento después de 5 días de incubación a 37 °C.

Clave muestreo	Clave PCR	Salinidad (%NaCl)				
		0	1	2	3.2	3.5
M1P1-B	2	+	-	-	-	-
M1P2-C	7	+	+	+	+	+
M2P1-B	10	+	-	-	-	-
M2P2-B	12	+	-	-	-	-

Tabla 4. Prueba de flagelación.

Clave muestreo	Clave PCR	Prueba flagelar
M1P1-A	1	-
M1P1-C	3	-
M1P1-D	4	-
M1P2-A	5	-
M1P2-B	6	-
M1P3-A	8	-
M2P1-A	9	+
M2P2-A	11	+
M2P3-A	13	-

identificar el género *Naegleria*, las cuales dieron positiva (Figura 3), ambas cepas se aislador en el

mes de octubre en el P1 y P2.

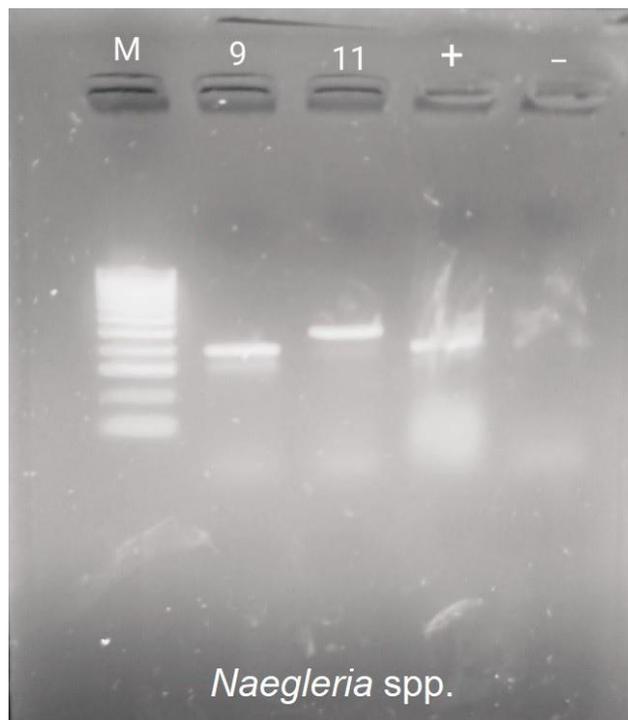


Figura 3. Gel de electroforesis de las amplificaciones para la identificación de *Naegleria* spp. En los carriles de izquierda a derecha se parecen, el marcador de peso molecular (M), la muestra 9, muestra 11, control positivo y control negativo.

Discusión

Las AVL son protozoos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, y han sido aisladas de diversos ambientes naturales tales como suelos y agua, donde pueden sobrevivir a condiciones hostiles e incluso servir como rutas de transmisión y diseminación de patógenos potenciales para humanos y animales. Denominadas, anfizóicas, por su capacidad de adaptación a la vida parasitaria destacando dos géneros *Acanthamoeba* y *Naegleria*, especialmente en épocas de sequía, a causa de estar en contacto con aguas contaminadas (Duque-Nossa, Gelvis-Corzo y Ríos-Ramírez, 2018; Pereira y Pérez, 2003).

A partir de las 13 cepas aisladas, fue posible identificar las AVL de interés en dos de los tres puntos muestreados. El género de *Acanthamoeba* fue identificado en ambos meses, lo cual es congruente con los reportes de esta especie, ya que es el género de AVL que se encuentra en mayor proporción en los diferentes estudios realizados en aguas superficiales con diferentes usos recreativos y

actividades productivas, ya que crece en amplios intervalos de temperaturas y pH (Duque-Nossa, Gelvis-Corzo y Ríos-Ramírez, 2018; Lares-Jiménez y Lares-Villa, 2009; Garaycochea, Beltrán y Morón, 2008); por lo que se encontró en los dos meses de muestreo, mientras que para *Naegleria* spp. solo se identificó en el mes de octubre.

Como se mencionó en la sección anterior, en el mes de julio se aislaron dos cepas de *Acanthamoeba* en los puntos P1 y P2, donde la temperatura del agua era de 27 °C y 30 °C, respectivamente. Esto concuerda con lo descrito por Castrillón y Orozco (2013), quienes mencionan que las especies de *Acanthamoeba* son los protozoarios más frecuentes encontrados en la naturaleza, y que han sido aislados de una diversidad de ambientes como tierra, polvo, aire, agua dulce natural y tratada, agua de mar, piscinas, aguas residuales, sedimentos, aire acondicionado, hospitales, lentes de contacto y cultivos celulares, entre otros. Sin embargo, debido a que los ámbitos de pH óptimos para el desarrollo de AVL son amplios resulta complicado mostrar una relación concreta entre esta variable fisicoquímica del agua y la presencia amebiana

(Gallegos-Neyra *et al.*, 2018). Rosas-Arango *et al.* (2020), mencionan que ha sido ampliamente documentada la capacidad de las AVL para tolerar altos grados de temperatura, siendo termotolerantes y no termofílicas, y reportan que en sus zonas de estudio se halló una tendencia hacia pH de entre 7 y 9, lo cual puede asociarse con la supervivencia de microorganismos como bacterias y amebas de vida libre, al igual que en este estudio predominaron pH alcalinos (Tabla 1). En los sitios P1 y P2, se observó un crecimiento de moho pegado a las paredes, así como la presencia de algunos insectos en el agua, lo cual ayuda a la formación de microambientes que promueven el crecimiento de bacterias que sirven como alimento de las AVL ahí presentes. El estudio realizado por Cabrero-Martínez *et al.* (2018), también reportaron que en sus muestras de aguas superficiales de diferentes fuentes (ríos, laguna, calicheras, drenes, etc.), el género de AVL más prevalente fue *Acanthamoeba*, asimismo reportan que la presencia de trofozoitos fue mayor en aquellos con menor diversidad de protozoarios no patógenos. Por otro lado, Khan (2008) menciona que el crecimiento a alta temperatura y osmolaridad son las características de *Acanthamoeba* patógenas, en nuestro estudio se obtuvo que la cepa M2P2-B presentaba dichas características, por lo que sería importante determinar si tiene la capacidad de ser patógena, las cepas M1P1-B, M1P2-C y M2P1-B de *Acanthamoeba* aisladas no presentaron la característica de crecer cuando se sometieron a diferentes osmolaridades, sin embargo, si presentaron la característica de crecer a 37 °C. Por otra parte, Booton *et al.* (2004), menciona que las cepas de *Acanthamoeba* pueden adaptarse a diferentes salinidades después de varias generaciones.

En cuanto a la presencia de *Naegleria* spp., en este estudio se aislaron dos cepas, una del punto P1 y la otra del P2. Estos aislados fueron en el muestreo del mes de octubre, lo cual concuerda con lo reportado por Lares-Villa y Hernández-Peña (2010), en su estudio de cuantificación de naeglerias termofílicas, las cuales reportaron que en los meses de octubre se presentaron las mayores concentraciones de estas en aguas de cuerpos naturales, en este estudio se observó un comportamiento similar, ya que, en el muestreo realizado en el mes de julio, no se detectaron dentro de los aislados. Las PCR realizadas en este estudio, descartaron que los amplicones pertenecieran *Naegleria fowleri*, sin

embargo, las pruebas de temperatura de la cepa M2P1-A demostró que tenía la capacidad de crecer a 45 °C, por lo que es un indicador de que existen las condiciones necesarias para que la especie patógena *N. fowleri* pueda desarrollarse.

Conclusiones

En este estudio se aisló por primera vez la presencia de amibas de vida libre en fuentes de agua en Ciudad Juárez, Chihuahua, donde los géneros *Acanthamoeba* y *Naegleria*, los cuales son los más relevantes de las AVL por su capacidad de generar patologías severas, estuvieron presentes en 2 de las fuentes muestreadas. Por lo que se demuestra que estos cuerpos artificiales de agua pueden ser un foco de proliferación de estos protozoarios de importancia en salud pública, ya que son patógenos oportunistas. Actualmente en México no existe una regulación para el monitoreo de este tipo de aguas.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada con fondos del Programa para el Desarrollo Profesional Docente, para el Tipo Superior, a través de la convocatoria Apoyo a la Incorporación de NPTC-2018 y al PROFAPI_2018_0027.

Referencias

- Abdi, M., Niyati, M., Diba, K., Tappeh, K. H., & Khademvatan, S. (2020). Frequency and genetic diversity of *Acanthamoeba* spp. free living Amoeba in water sources of Urmia, North west Iran. *Journal of Research in Applied and Basic Medical Sciences* 2020; 6(1):52-58
- Booton, G. C., Rogerson, A., Bonilla, T. D., Seal, D. V., Kelly, D. J., Beattie, T. K., Tomlinson, A., Lares-Villa, F., Fuerst P.A. y Byers, T. J. (2004). Molecular and Physiological Evaluation of Subtropical Environmental Isolates of. *EUKARYOT. MICROBIOL.*, 51(2), 192–200.
- Cabrero-Martínez, O.A., Palma-Nicolás, J.P., Martínez-Vázquez, A.V., Rivera-Sánchez, g. y Bocanegra-García, V., 2018. Detección por cultivo de amibas de vida libre en fuentes de agua superficiales en la Cd. De Reynosa, Tamaulipas. *Mexican Journal of Biotechnology.* 3(2):16-22
- Castro, J. C. y Orozco, L. P., 2013. *Acanthamoeba* spp. como parásitos patógenos y oportunistas. *Rev. Chilena Infectol* 30(2):147-155
- Chappell C. L., Wright J. A., Coletta M. y Newsome A. L., 2001. Standardized method of measuring *Acanthamoeba* antibodies in sera from healthy human subjects. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.* 8(4):724-30.
- Duque-Nossa, V.A., Gelvis-Corzo, V.A. y Ríos-Ramírez, Y.K., 2018. *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* spp. aisladas del Río Pamplonita, zona metropolitana de Cúcuta, Colombia.

- Revista Cubana de Medicina Tropical [Internet]. 70(3). Recuperado de <http://www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/219/213>
- Gallegos-Neyra, E. M., Becerra-Cigarroa, J. M., Figueroa-Méndez, M. G., Fuentes-Zuno, S. A., Hernández-Zamarripa, A. R., Mendoza-Romero, M. J., Avier-Venegas, D.I., Villa-Delavequia, G.S., 2018. Amibas de vida libre en playas de Tuxpan y Arrecife Ingeniero, Veracruz, México. *Revista de Zoología*, (29). Retrieved from: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/498/49855322001/html/index.html>
- Gallegos-Neyra, E.M., Lugo-Vázquez, A., Calderón-Vega, A., Sánchez-Rodríguez, M.R. y Mayén-Estrada, R., 2014. Biodiversidad de protistas amébidos de vida libre en México. *Rev. Mex. Biodiv.* 85:10-25. <https://doi:10.7550/rmb.33691>
- Garaycochea, M. del C., Betrán, M. y Morón, C., 2008. Patogenicidad de las amebas de vida libre aisladas de fuentes de agua en Lima. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 25(2):2004-2007
- Guzmán-Fierros, E., De Jonckheere, J.F. y Lares-Villa, F., 2008. Identificación de especies de *Naegleria* en sitios recreativos en Hornos, Sonora. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79:1-5
- Khan, N.A., 2006. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(4):564–595, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00023.xL>.
- Lares-Jiménez, L. F. y Lares-Villa, F., 2009. Aislamiento de amebas de vida libre en aguas superficiales del Valle del Mayo, Sonora. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales.* 5 (2): 161-167
- Lares-Villa, F. y Hernández-Peña, C.C., 2010. Concentration of *Naegleria fowleri* in natural waters used for recreational purposes in Sonora, Mexico (November 2007-October 2008). *Experimental Parasitology.* 126(1):33-36
- Marciano-Cabral, F. (1988). Biology of *Naegleria* spp. *Microbiological Reviews*, 52(1), 114-133.
- Marciano-Cabral, F. y Cabral, G.A., 2007. The immune response to *Naegleria fowleri* amoebae and pathogenesis of infection, *FEMS Immunology & Medical Microbiology.* 51(2):243–259, <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00332.x>
- Najafpoor, A. A., Zarrinfar, H., Ghaderifar, S., Alidadi, H., Esmaily, H., Hajjalilo, E., Hosseini Farash, B. R., y Ahmadi, E., 2018. *Naegleria* species population found in pond water of parks in Mashhad city, Can the physicochemical factors affect it? *MethodsX,* 5:1427–1430. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2018.10.014>
- Oddo, D., 2006. Infecciones por amebas de vida libre. Comentarios históricos, taxonomía y nomenclatura, protozoología y cuadros anatómico-clínicos. *Rev. Chil. Infect.,* 23(3), 200-214. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182006000300002>
- Page, F.C. 1988. A new key to freshwater and soil gymnamoebae. CCAP. Freshwater Biological Association. Pp 24-120
- Pereira A. y Pérez M., 2003. Amibas de vida libre. *OFFARM.* 22(6):114-117. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-amebas-vida-libre-13049114>
- Rosas-Arango, S. M., Caycedo-Lozano, L., Segura-Alba, M. y Gil, N., 2020. Amebas de vida libre asociadas con bacterias intracelulares en aislamientos de humedales y aguas dulces. 2ª. Edición. Asociación Iberoamericana de Información Científica. Recuperado: <http://www.siicsalud.com/des/expertoimpreso.php/153010>
- Visvesvara, G.S., Moura, H. y Schuster, F., 2007. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri* and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol,* 50(1), 1-26. <https://doi:10.1111/j.1574-695X.2007.00232.x>