



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
TECNOLOGÍA MÉDICA
ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA**

**“AMEBAS DE VIDA LIBRE, PERSISTENCIA A
4105M.S.N.M Y SUS POSIBLES IMPLICANCIAS
PATOGENICAS EN LA SALUD DE LA POBLACIÓN DE
JUNÍN”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO
TECNÓLOGO MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

GADY YUDITH ANCO AGUILAR

ASESOR:

Lic. ALFONSO MARTÍN CABELLO VILCHEZ Ph D

Lima, Perú

2015

HOJA DE APROBACIÓN

GADY YUDITH ANCO AGUILAR

“AMEBAS DE VIDA LIBRE, PERSISTENCIA A 4105M.S.N.M Y SUS POSIBLES IMPLICANCIAS PATOGENICAS EN LA SALUD DE LA POBLACIÓN DE JUNÍN”

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica por la Universidad Alas Peruanas.

LIMA – PERÚ

2015

DEDICATORIA

Dedico la culminación de este trabajo de investigación, en primer lugar a Dios, por haberme permitido llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional y a mis Padres por el apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por protegerme y guiarme durante todo mi camino, por darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mis Padres, que me apoyaron y enseñaron a siempre perseverar y alcanzar mis metas.

A Martin Cabello Vílchez Ph D, por su asesoría y apoyo en este trabajo de investigación.

A la Universidad Alas Peruanas, Facultad Medicina y Ciencias de la Salud, Escuela de Tecnología Médica, Especialidad de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, por haberme permitido cumplir mis aspiraciones, en el camino hacia una nueva etapa de mi vida y formarme como Licenciada en Laboratorio Clínico.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación es un estudio de tipo descriptivo que se realizó en la Población de Junín (zona alto-andina), se determinó la presencia de protozoarios de vida libre (Amebas de Vida Libre), que persisten en el ambiente y sus potenciales características patógenas. Las que puedan implicar en la salud humana, se observó también su presencia en muestras de agua de consumo humano, incluyendo las muestras de la laguna (las principales). Para realizar dicho trabajo se colectaron muestras de agua de consumo humano, muestras ambientales, y las muestras se procesaron de acuerdo a los métodos desarrollados y descritos en la literatura especializada.

El presente estudio fue realizado con 70 muestras de agua de consumo humano en la Provincia de Junín, demostrando la presencia de Amebas de vida libre y protozoarios, resultando 8 muestras positivas a la presencia de Amebas de vida libre representando el 11.4% de prevalencia. Se identificaron 2 géneros los cuales son *Acantamoeba sp.*, y *Leptomyxas sp.*

ABSTRACT

The present research is a descriptive study that was conducted in the City of Junín (high-Andean zone), the presence of free-living protozoa (free-living amoebae), which persist in the environment and their potential was determined pathogenic characteristics. Which may entail for human health, their presence was also observed in samples of drinking water, including samples of the gaps (the main). To make this work samples of drinking water, environmental samples were collected, and samples were processed according to methods developed and described in the literature.

This study was conducted with 70 samples of drinking water in the Province of Junín, demonstrating the presence of free-living amoebae and protozoa, resulting in eight positive to the presence of free-living amoebae representing 11.4% prevalence samples. 2 genera which are identified *Acanthamoeba sp.*, and *Leptomyxas sp.*

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura. N°1: Imagen 1, 2,3, Quiste de <i>Acanthamoeba sp.</i>	25
Figura N°2: Quiste de <i>Leptomyxas sp.</i>	26
Figura N° 3: <i>Vorticella sp.</i>	29
Figura N°4; <i>Urostylid</i>	29
Figura Nª 5: Mapa de la Provincia de Junín.....	40

LISTA DE TABLAS

	Pag.
Tabla Nº 1: Distribución porcentual de la Población de Junín y la Laguna de Junín según el número de muestras analizadas.	23
Tabla Nº 2: Distribución de Amebas de vida libre en las muestras de Junín 4105 M.S.N.M.....	23
Tabla Nº 3: Distribución de otras Especies de Protozoos en muestras agua de Junín 4105 M.S.N.M	26

ÍNDICE

CARATULA.....	01
HOJA DE APROBACIÓN.....	02
DEDICATORIA.....	03
AGRADECIMIENTO.....	04
RESUMEN.....	05
ABSTRACT.....	06
LISTA DE FIGURAS.....	07
LISTA DE TABLAS.....	08
INTRODUCCIÓN.....	10
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1. Planteamiento del Problema.....	11
1.2. Formulación del Problema.....	13
1.2.1. Problema General.....	13
1.2.2. Problemas Específicos.....	13
1.3. Objetivos.....	13
1.3.1. Objetivo General.....	13
1.3.2. Objetivos Específicos.....	13
1.4. Justificación.....	14
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1. Bases Teóricas.....	15
2.2. Antecedentes.....	18
2.2.1. Antecedentes Internacionales.....	18
2.2.2. Antecedentes Nacionales.....	18
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	
3.1. Diseño del Estudio.....	22
3.2. Población.....	22
3.3. Operacionalización de Variables.....	22
3.4. Procedimientos y Técnicas.....	23
3.5. Plan de Análisis de Datos.....	25
CAPÍTULO IV: RESULTADOS ESTADÍSTICOS	
4.1. Resultados.....	26
4.2. Discusiones de resultados.....	34
4.3. Conclusiones.....	36
4.4. Recomendaciones.....	37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
ANEXOS.....	42
MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	43

INTRODUCCIÓN

El agua y la salud son dos aspectos indispensables y dependientes. En la actualidad los problemas del agua se centran tanto en la calidad como en la cantidad para abastecer a las poblaciones de una forma adecuada, así mismo están relacionados con la continuidad del servicio.

El agua es un elemento indispensable para la subsistencia de los seres vivos y es también portadora de enfermedades producidas por bacterias, virus, parásitos, que podrían estar presentes en el agua de consumo.

Las amebas de vida libre constituyen una gran diversidad de especies, las cuales habitan distintos lugares, encontrándolas en todo el planeta, abarcando tanto ambientes acuáticos como mares, lagos, lagunas, pantanos, etc., así como ambientes terrestres, siempre habitando lugares donde existe un grado cierto de humedad.

Los protozoarios son usualmente cosmopolitas o ubicuos en lo referente a su distribución, proliferando en un hábitat conveniente para ellos. Es destacable su importancia en los ambientes acuáticos, formando parte de la cadena alimenticia, como productores primarios, jugando un rol fundamental en el ciclo de nutrientes y el flujo de energía dentro de los cuerpos de agua.

El presente trabajo, contribuye a tener una visión actualizada de la existencia de amebas de vida libre en zonas alto andinas como en la Provincia de Junín a 4105msnm donde se realizó esta investigación.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema:

Las enfermedades parasitarias constituyen una importante carga de enfermedad a nivel mundial (1). La Organización Mundial de la Salud (OMS) las considera una de las principales causas de morbilidad estrechamente ligadas a la pobreza y relacionadas con las condiciones higiénico-sanitarias, socio-económicas y ambientales, elementos que cohabitan en los ecosistemas tropicales. Así mismo la OMS estima que cada año se presentan 500 millones de casos de diarreas en niños menores de cinco años, entre 3 y 4% de estos casos terminan con la muerte, estas enfermedades son el resultado de la pobreza, la desnutrición y un saneamiento ambiental deficiente, particularmente de inadecuados sistemas de abastecimiento de agua. (2).

Las parasitosis intestinales se definen como una infección del aparato gastrointestinal causada por protozoarios, que afectan a individuos independientemente del estado inmunológico (en algunos casos puntuales), edad y condición socioeconómica (3).

Las infecciones parasitarias ocasionadas por protozoarios dan origen a diversos procesos gastrointestinales, que suelen ir acompañados por diarreas acuosas o sanguinolentas, dolor abdominal y fiebre. Las diarreas ocupan el tercer lugar entre las principales causas de muerte en niños menores de cinco años, representando así el 17% de todas las muertes a nivel mundial (4). El ciclo de vida de estos parásitos se inicia a través de la ingesta de agua, tierra o alimentos contaminados; pueden ser transmitidos la forma (quiste de resistencia) o trofozoito, siendo esta última la forma infectante para el hombre (1)

El agua es un vehículo importante de agentes patógenos causales de diversas enfermedades en el humano, las cuales afectan frecuentemente a la población, las comunidades rurales a nivel mundial han estado al margen de la verificación de la calidad del agua que utilizan para consumo humano. Existen reportes de las comunidades andinas con alta

incidencia de enfermedades gastrointestinales y parasitarias, cuyo origen se ha atribuido a la calidad del agua de pozo que utilizan para consumo (5).

Los datos epidemiológicos a nivel mundial señalan que todas las semanas mueren alrededor de 42.000 personas a causa de enfermedades relacionadas con la escasa calidad del agua potable y la falta de saneamiento, reportándose que más del 90% de las personas afectadas son niños menores de cinco años (6).

Las amebas de vida libre (AVL), son ubicuas en la naturaleza, encontrándose en aire, suelo, agua de mar, ríos, lagos, fuentes, piscinas, etc., alimentándose de bacterias pero comportándose en algunas ocasiones como parásitos oportunistas (7). Por estas características se les denomina también Amebas Anfizoicas, aludiendo a su capacidad de sobrevivir en el medio ambiente (vida libre) como invadir algún hospedero, pudiendo ocasionar meningoencefalitis amebiana primaria (MEAP), encefalitis granulomatosa amebiana (EGA) o queratitis amebiana (KA) (7,8).

La infección humana por AVL es poco frecuente, sin embargo la tasa de letalidad es del 98% (22) y existe reportes que describen un incremento de casos en asociación al VIH/SIDA, estos cursan cuadros clínicos con EGA. Ya que los pacientes inmunosuprimidos son particularmente susceptibles a estas infecciones (8,9). Por otro lado, los casos de (KA) son más frecuentes por el uso de los lentes de contacto (10, 40).

1.2. Formulación del Problema:

1.2.1. Problema General:

Las amebas de vida libre potencialmente patógenos a humanos
¿Podrían sobrevivir en Junín a 4105 msnm y establecer sus factores de virulencia activas?

1.2.2. Problemas Específicos:

- ¿Qué tipos de amebas de vida libre se podrá encontrar en la Provincia de Junín?
- ¿Qué características podría tener el agua de consumo humano que permita la aparición de amebas de vida libre en Junín?

1.3. Objetivos:

1.3.1. Objetivo General:

Determinar la presencia de amebas de vida libre a 4105msnm

1.3.2. Objetivos Específicos:

- Identificar las diversas especies de amebas de vida libre en muestras de agua en zonas urbanas/rurales de Junín.
- Caracterizar las diversas especies de amebas de vida libre aisladas en muestras de agua potable en zonas urbanas de Junín.
- Determinar las características del agua en zonas urbanas de Junín

1.4. Justificación:

El presente trabajo de investigación se basa en conocer el estado microbiológico del agua potable y de algunas zonas ambientales de la Provincia de Junín. Esta evaluación es para determinar el nivel de microorganismos poco convencionales que pudieran estar presentes en esta localidad a 4105 msnm. No se conoce la presencia de amebas de vida libre potencialmente patógenas en las tierras altas de Perú.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Bases Teóricas:

Los protozoarios son organismos unicelulares eucarióticos, con uno o más núcleos, son de tamaño variable, de 2mm a 100mm (11). Por su forma, pueden ser esféricos, ovoides, de simetría bilateral o polimorfos, como las amebas en estadio de trofozoíto, que no tienen forma consistente debido a su citoplasma en movimiento constante (11).

Los protozoarios presentan estructuras de locomoción como, flagelos, cilios, pseudópodos y membrana ondulante. Pueden presentar estadio de quiste, que es su forma de resistir las condiciones adversas (11).

La reproducción en los protozoarios puede ser asexual y sexual. La primera es la más simple y se produce por fisión binaria longitudinal (*Tripanosoma*) o transversal (*Balantidium*), tras división del núcleo por mitosis, amitosis o formas intermedias. La reproducción sexual comporta la unión o singamia de dos gametos, masculino y femenino; existen diversas formas de singamia. Los dos gametos pueden ser iguales (isogamia) o no (anisogamia). Las fases sexuales y asexuales del ciclo de un protozoario pueden tener lugar en un huésped o en varios (12).

Las infecciones parasitarias ocasionadas por protozoarios dan origen a diversos procesos gastrointestinales (en primera instancia), que suelen ir acompañados por diarreas acuosas o sanguinolentas, dolor abdominal y fiebre. El ciclo de vida de estos parásitos se inicia a través de la ingesta de agua o alimentos contaminados; pueden ser transmitidos en forma vegetativa (trofozoítos) o quística, siendo esta última la forma infectante para el hombre (13).

Existen múltiples criterios de clasificación, seguiremos el esquema de L. García, levemente modificado (14).

Los protozoarios están divididos en siete *Phylum*: *Sarcomastigophora*, *Apicomplexa*, *Ciliophora*, *Microspora*, *Labyrinthomorpha*, *Ascetospora* y

Myxospora, siendo los cuatro primeros de importancia en la parasitología humana (15).

Las amebas se caracterizan porque se mueven por medio de prolongaciones citoplasmáticas (pseudópodos), que se proyectan y retraen en respuesta de estímulos externos (11). Los parásitos comensales obtienen beneficios del huésped que aloja proporcionándoles alimento, y permitiéndoles reproducirse, pero no perjudican ni ayudan al huésped. Las amebas de vida libre son parásitos facultativos, o sea que no necesitan para vivir la presencia obligada de un huésped. Se las encuentra distribuidas por todo el mundo y en su forma libre habitan en aguas dulces, salobres, termales y de mar (11).

Las amebas de vida libre se pueden encontrar básicamente en tres elementos fundamentales: el suelo, el agua y las condiciones geográfico climáticas (11).

El suelo: para determinadas parasitosis, sobre todo las helmintiasis, el suelo se comporta como un huésped intermediario ya que recibe heces o agua contaminadas con parásitos en estadios no infectantes, y les ofrece condiciones de desarrollo, para que en determinado tiempo se transformen en estadios infectantes. Además puede ser un excelente medio para la conservación de estos últimos. Los factores del suelo que favorecen la supervivencia de los parásitos son la humedad, la consistencia y composición (humus, arcilla, etc.), las amebas de vida libre pueden sobrevivir en el suelo, en forma de quiste y en trofozoito si este recibe materia orgánica disuelta por las lluvias.

El agua: puede actuar como vehículo de determinadas parasitosis; y ser necesaria para que los parásitos completen su ciclo biológico por alojar y/o desarrollar huéspedes intermediarios en el caso de las amebas no es necesario los intermediarios sobrevive en el agua potable o no potable.

Condiciones geográfico-climáticas: la humedad, las lluvias, la temperatura, la vegetación, la latitud, la altitud, etc. pueden favorecer o

reducir el desarrollo de parásitos y sus vectores o reservorios animales, determinando así la distribución geográfica de las parasitosis.

Las enfermedades transmitidas por el agua son las que se originan debido a la ingestión de agua que contenga agentes infectantes como los parasitarios, en cantidades tales como para afectar la salud del consumidor (aunque no se ha determinado el número de microorganismos mínimos para producir la enfermedad), tanto a nivel individual como grupal (15).

Protozoos de interés clínico “Amebas de vida libre”.

Las infecciones producidas por microorganismos están incluidos en cuatro géneros: *Acanthamoeba sp.*, *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris* y *Sappinia*. En todos los casos, la infección se debe al contacto con suelos o agua contaminada por estos protozoos. Como es habitual en las infecciones parasitarias, las manifestaciones de la infección dependen del estado de inmunocompetencia del hospedador. Así las amebas patógenas de este grupo (excepto *Naegleria fowleri*) ocasionan en el paciente inmunodeprimido encefalitis, con peculiaridades dependiendo del género implicado (afectación cutánea o sinusal, presencia o no de granulomas). En el paciente inmunocompetente, los dos cuadros clínicos más característicos son la queratitis asociada a lentes de contacto (por *Acanthamoeba sp.*) y la meningoencefalitis amebiana primaria por *Naegleria fowleri* (en buceadores) (16).

2.2. Antecedentes:

2.2.1. Antecedentes Internacionales:

El número de casos reportados por *Acanthamoeba* a nivel mundial se estima en aproximadamente en 200 casos para infección sistémica y más de 3000 casos reportados para queratitis amebiana (17).

Biodiversidad de protistas amébidos de vida libre en México; en el recuento se registraron 315 especies diferentes de amebas. Los grupos dominantes fueron *Amebozoa*, *Rhizaria* y *Excavata*, con una importante contribución de las amebas testadas y de los *Gimnamebidos* del tipo *Acantamebidos* (24).

Amebas de vida libre en pozas, piscinas y lagos de El Salvador, Castillo de Mena et al. En este trabajo se examinaron 60 muestras de agua provenientes de 30 sitios del territorio salvadoreño donde se ubican reservorios de agua utilizados por la población para su diversión. Se encontraron AVL en dos muestras de agua tomadas del fondo de piscinas con agua clorada, y en una muestra tomada del fondo de otra piscina de agua no clorada (25).

Detección de Amebas patógenas del género *Acanthamoeba* por PCR en cuerpos de agua recreativos en el estado de San Luis Potosí, México, Ortíz Ortega Ricardo et al. Colectaron 74 muestras se procesaron por los métodos convencionales para detectar organismos pertenecientes al género *Acanthamoeba*. Se identificaron amebas patógenas del género *Acanthamoeba* del ambiente. La presencia de amebas del género *Acanthamoeba* en los cuerpos de agua estudiados, representa un riesgo potencial de salud pública (26).

Calidad Amebológica del agua de pozos utilizados para suministro de agua potable en Estado de Hidalgo, Ramírez Flores et al. Se detectaron amebas en todos los pozos, se encontraron 13 especies de 9 géneros: *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Mayorella*, *Platyamoeba*, *Rosculus*, *Thecamoeba*, *Vahlkampfia*, *Vannella* y *Vexillifera*, siendo *Hartmannella* la que se presentó con mayor frecuencia (44%). *Hartmannella*, *Vahlkampfia* y *Vannella* se han encontrado asociadas a casos de meningoencefalitis y queratitis, pero no se ha podido comprobar su papel como causantes de las enfermedades. *Acanthamoeba* es la única que se ha reportado como patógena, pero solamente se detectó en un muestreo con muy baja frecuencia (27).

2.2.2. Antecedentes Nacionales:

En Perú, en 1979, Arce y Asato demuestran un caso de encefalitis por *Acanthamoeba*. En 1996, Narváez encontró 4 casos de encefalitis amebiana por *Acanthamoeba* (17). En el Instituto de Medicina Tropical de la UNMSM, hasta 1996, se reportó 10 casos de *Acanthamoebiasis* aisladas de úlceras cutáneas. Posteriormente, en el año 2000, reportó un caso de *Acanthamoebiasis* cutánea (18) y en el año 2002, 3 casos más de *Acanthamoebiasis*, dos con compromiso cutáneo y uno con compromiso ocular (19).

En el Instituto Nacional de Salud, desde 1995 a la actualidad, se encontraron 3 casos de *Acanthamoebiasis* con compromiso ocular (Comunicación verbal Lic. María Beltrán coordinadora de laboratorio de enteroparásitos - CNSP/INS). Entre los meses de Abril y Mayo de 1999 se aislaron muestras de 15 pacientes positivas para *Acanthamoeba* en el Servicio de Oftalmología del Hospital Cayetano Heredia (20).

Pérez CG et al 2007, describieron una lista parásitos identificados en la ciudad de Trujillo, este estudio identifico los principales protozoarios intestinales causantes de enfermedad en humanos (21).

En Lima 1957, se publica el primer caso de abscesos amebianos cerebrales y meningoencefalitis sin compromiso hepático ni pulmonar (23).

Entre los años de 1974 a 1978 Takano J. et al., reportan cuatro casos de meningoencefalitis por *Acanthamoeba* en jóvenes procedentes de Piura y Trujillo (costa norte del Perú) (28).

Takano J. 1976, Arce y Asato 1979, Narváez J 1996, Galarza C. et al 1997, 2006, reportan casos de encefalitis por *Acanthamoeba*.

Sus reportes están basados en estudio anatómico patológico y según los reportes las características cutáneas muestran ser acorde con *Acanthamoeba*. Sin embargo, no hay evidencia molecular que apoye que haya sido *Acanthamoeba*, además morfológicamente son indistinguibles *Acanthamoeba* de *Balamuthia* en tejido infectado (28, 29, 30, 31, 32).

Recavarren et al., 1999, Cabrera et al., 2000, Gotuzzo 2000, Ballona y Aquije 2003, Sánchez J, 2004, y Bravo F, Alvares P, Gotuzzo E. 2010 (33).

Describen casos de *Balamuthia*, muchos de estos casos han sido referidos al CDC en su momento y fueron identificados como *Balamuthia* por Inmuno-histoquímica y PCR (34, 35, 36, 37,38, 39)

Bravo and Seas, 2012 documentan la serie de casos con 55 casos de Meningoencefalitis por *B. mandrillaris* en Perú, esta es la serie más extensa después de USA. Interesantemente Cabello-Vílchez AM, et al 2014, demuestra la presencia de 21 cepas de *Acanthamoeba* en mucosa nasal, estas fueron cultivadas axenicamente el 98 % de los casos, ya que la cepa ACP-15 no fue posible su axenización.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño del Estudio:

Estudio Descriptivo, transversal

3.2. Población:

Se analizó muestras ambientales y colectaron muestras de agua en lugares de abastecimiento de consumo humano ubicados en la Provincia de Junín en los meses de Agosto 2014 – Julio 2015.

3.3. Operacionalización de Variables:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICION	FORMA DE REGISTRO
PRINCIPAL: Amebas de vida libre	Organismos unicelulares	Microscopio	Binaria	<ul style="list-style-type: none">• Positivo• Negativo
SECUNDARIAS: Tipos de Amebas de vida libre	Organismos unicelulares	Microscopio	Nominal	<ul style="list-style-type: none">• <i>Naegleria</i>• <i>Acanthamoeba</i>• <i>Balamuthia</i>• <i>Hartmannella</i>• <i>Leptomyxa</i>
pH	Medición de acidez o alcalinidad de una disolución.	Tira reactiva	Continua	<ul style="list-style-type: none">• > 4,5• ≤ 4,5
Temperatura (aire y suelo)	Es la medida de la energía térmica de una sustancia	Macroscópica	Continua	<ul style="list-style-type: none">• 0 - 25• 25 - 32

3.4. Procedimientos y Técnicas:

Para realizar este estudio se estudiaron 70 muestras ambientales y en lugares de abastecimiento de consumo humano de la Provincia de Junín (zona alto-andina), para la visualización de amebas de vida libre que se encontraran a 4105msm. Se tomaron en recipientes estériles, luego de tomar la muestra se procedió a rotular con la fecha de la toma de muestra, también se realizó la medición de los parámetros de campo: pH, turbidez y la temperatura de las muestras, todos estos datos se anotaron, para dicho estudio se realizó métodos para la identificación de amebas de vida libre uno de los métodos fue el de concentración por centrifugación, el que consta por sedimentación.

El método de concentración consistió en tomar volúmenes adecuados 1/2Lt. de muestras de agua y centrifugarlas a 1000rpm x 10 minutos.

Colocar en una lámina portaobjetos el sedimento, cubrir con un cubreobjetos se observó al microscopio a 40x, se diferenció las posibles amebas de vida libre que se pueden encontrar y visualizar. Así mismo se realizó el mismo procedimiento para las siguientes muestras que se colectaron.

El siguiente método se realizó por medio de cultivo para visualizar su grado de patogenicidad que se realizara lo siguiente, obtenida la muestra de agua se llenó a un tubo estéril y se llevó a centrifugar a 1000rpm x 10min. Se decantó y el sedimento se sembró a un medio de cultivo y se incubó a 37°C y esta se visualizó cada 24hrs en el microscopio para la visualización de amebas de vida libre, así mismo se describo las amebas encontradas.

La muestra ambiental que se colectó fue sembrada directamente al medio de cultivo con una cantidad de 0.25gr de muestra y esta se incubó a 37°C cada 24hr se observó la presencia de amebas de vida libre lo cual fueron descritas.

Solución Page:

Na Cl.....	120mg
MgSO ₄ x 7H ₂ O.....	4mg
Na ₂ HPO ₄	142mg
KH ₂ PO ₄	136mg
CaCl ₂ x 2H ₂ O.....	4mg
H ₂ O DESTILADA.....	1000mL

La preparación de esta solución salina se realizó para la visualización de amebas de vida libre, tiende a precipitar si no se disuelven correctamente los componentes. La solución se preparó en orden de lista en agua destilada en un frasco apropiado usando una barra magnética, aproximadamente 15 minutos entre cada componente, se esterilizo por autoclavado a 121°C por 15 minutos.

Luego de tener listo la solución Page se agregó 1.5% de agar agar para preparar las placas de agar no nutritivo.

Paralelamente se sembró *Escherichia coli* ATCC 25922 viva y muerta, la cual se obtuvo como fuente de alimento para las amebas realizado este procedimiento se sembró las muestras y se visualizó cada 24hrs para su identificación, dejándolo por un mes para su crecimiento.

El estudio se realizó en dos temperaturas la primera a 37°C en la incubadora revisándolo cada 24 horas, lo cual fueron positivas encontrándose quistes de *Acanthamoeba sp.* en 1 mes, así mismo se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente pero a una temperatura a 5°C, almacenados en la refrigeradora revisándolo cada 24 horas en 1 mes, el resultado fue negativo para todas las muestras después se dejó a temperatura ambiente, obteniendo negativo para amebas de vida libre, las muestras positivas se volvieron resembrar para poder visualizar trofozoitos, en dos semanas se encontró trofozoitos de *Leptomyxas sp.*, con este estudio se pudo demostrar que si se encuentran amebas en la Provincia de Junín a 4105msnm que se pueden identificar incubando a 37°C.

3.5. Plan de Análisis de Datos:

Para el presente estudio de investigación se utilizó el Sistema Informático SPSS versión 20 en español, en el cual se ingresaron los datos productos de la investigación y las diferentes variables. Se utilizó los siguientes estadígrafos: análisis de doble entrada, correlación de Pearson y tés de covarianza.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS ESTADÍSTICOS

4.1. RESULTADOS

Presentamos la distribución de muestras analizadas en la tabla N°1, Junín y la Laguna de Junín. El n=70, donde en número de muestras analizadas de la Población de Junín es de 60 (85.7%) y el número de muestras analizadas de la Laguna de Junín es de 10 (14.3%).

Tabla N° 1: Distribución porcentual de la Población de Junín y la Laguna de Junín según el número de muestras analizadas.

	NUMERO DE MUESTRAS ANALIZADAS	PORCENTAJE
POBLACIÓN DE JUNÍN	60	85.7%
LAGUNA DE JUNÍN	10	14.3%
TOTAL	70	100%

Tabla N° 2: Distribución las amebas de vida libre en las muestras de Junín 4100 msnm.

ORIGEN	TEMPERATURA	FECHA TIPO DE MUESTRA	CRECIMIENTO	ESPECIE TIPO
S.A.1	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.2	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.3	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.4	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.5	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.6	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.7	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.8	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.9	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.10	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.11	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.12	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.13	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.14	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.A.15	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.1	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.2	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.3	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.4	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.5	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.6	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE

S.B.7	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.8	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.9	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.10	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.11	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.12	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.13	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.14	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.B.15	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.1	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.2	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.3	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.4	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.5	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.6	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.7	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.8	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.9	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.10	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.11	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.12	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.13	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.14	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.C.15	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.1	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.2	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.3	5°C	05/09/ 14 Agua	+	<i>Acantamoeba sp.</i>
S.D.4	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.5	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.6	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.7	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.8	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.9	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.10	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.11	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.12	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.13	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.14	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
S.D.15	5°C	05/09/ 14 Agua	Negativo	NSE
L.J.1	5°C	06/09/14 Agua	+	<i>Acantamoeba sp</i>
L.J.2	5°C	06/09/14 Agua	Negativo	NSE
L.J.3	5°C	06/09/14 Agua y suelo	+	<i>Acantamoeba sp y Leptomyxas sp.</i>
L.J.4	5°C	06/09/14 Agua y suelo	+	<i>Acantamoeba Sp</i>
L.J.5	5°C	06/09/14 Agua	+	<i>Acantamoeba sp</i>
L.J.6	5°C	06/09/14 Agua	Negativo	NSE
L.J.7	5°C	06/09/14 Agua	+	<i>Acantamoeba sp</i>
L.J.8	5°C	06/09/14 Agua	Negativo	NSE
L.J.9	5°C	06/09/14 Agua	+	<i>Acantamoeba sp</i>
L.J.10	5°C	06/09/14 Agua y suelo	+	<i>Acantamoeba sp</i>

En 8 muestras de Junín se demostró la presencia de *Acanthamoeba sp.*, estas cepas son capaces de crecer en placas de agar con *E. coli* viva, pero el re-aislamiento toma más tiempo de lo que es usual, entre 2 y 3 semanas. Las formas de los quistes coinciden con los morfotipos del grupo II descrito por Pussard y Pons 1977.

Así mismo se midió el pH de las muestras que se obtuvo como resultado que todas tuvieron un pH 7 con una densidad de 1010.

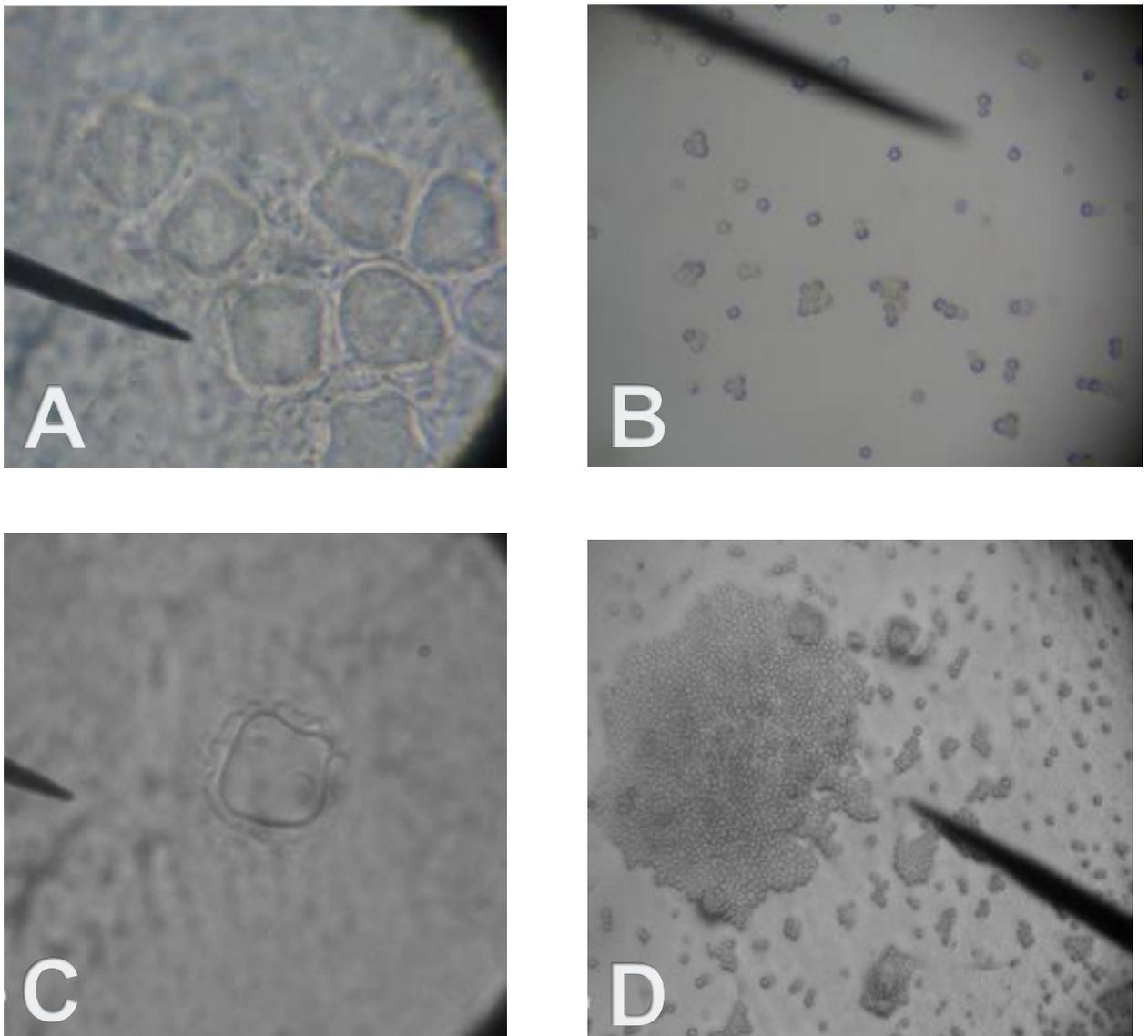


Fig. N°1: (A, B, C) Quiste de *Acanthamoeba sp.*, aislada de las muestras de la Laguna de Junín. (D) Colonia de quistes de *Acanthamoeba sp.*

No se ha conseguido su axenización y difícilmente se observa las *Leptomyxas* en las placas de cultivo.

Leptomyxa:

Estas amebas fueron vistas en las placas de cultivo a los 40-60 días de sembrada las muestras, a temperatura ambiente. Se observa pocos número de amebas, pero con gran pleomorfía, las formas pleomorficas semejan a *Balamuthia -like*, debido a que las formas no son tan grandes (50-70 μ m) y el número de células observadas es bajo con la característica de estar localizada en la placa de agar.

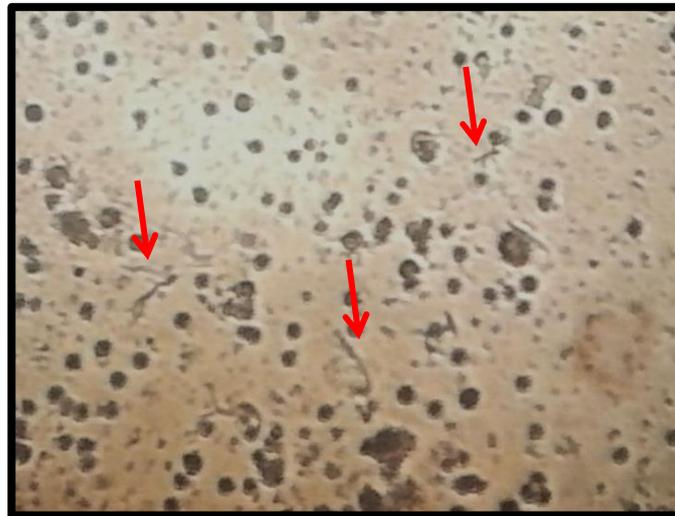


Fig. N°2: Trofozoitos de *Leptomyxas sp.* Aislada de las muestras de la Laguna de Junín. No se ha conseguido su axenización y difícilmente se observa las *Leptomyxas* en las placas de cultivo.

Se identificaron 8 géneros diferentes de Protozoos, entre las cuales están: 3 *Stylonchia sp*, 3 *Vorticella campanula*, 2 *Urostyla grandis*, 3 *Amoeba spumosa*, 2 *Chilophrya utahensis*, 2 *Coccospora slavinae*, 2 *spiroglugea octospora*, 1 *Coelosporidium periplanetae*

Tabla Nº 3: Distribución de otras especies de protozoos en muestras agua de Junín 4105 msnm.

Población de Junín	Sistemas de abastecimiento para consumo humano	<i>Stylonychia</i> sp	<i>Vorticella campanula</i>	<i>Urostyla grandis</i>	<i>Amoeba spumosa</i>	<i>Chilophya utahensis</i>	<i>Coccospora slavinae</i>	<i>Spiroglugea octospora</i>	<i>Coelosporidium periplanetae</i>	Total
Sector A	S.A.1	+								1
	S.A.2									0
	S.A.3									0
	S.A.4			+						1
	S.A.5									0
	S.A.6									0
	S.A.7									0
	S.A.8									0
	S.A.9									0
	S.A.10									0
	S.A.11									0
	S.A.12									0
	S.A.13						+			1
	S.A.14									0
	S.A.15									0
Sector B	S.B.1									0
	S.B.2									0
	S.B.3		+							1
	S.B.4									0
	S.B.5									0
	S.B.6									0
	S.B.7				+					1
	S.B.8									0
	S.B.9									0
	S.B.10									0
	S.B.11									0
	S.B.12									0
	S.B.13									0
	S.B.14									0
	S.B.15							+		1

Sector C	S.C.1									0
	S.C.2									0
	S.C.3									0
	S.C.4									0
	S.C.5		+							1
	S.C.6									0
	S.C.7									0
	S.C.8									0
	S.C.9									0
	S.C.10									0
	S.C.11									0
	S.C.12									0
	S.C.13									0
	S.C.14									0
	S.C.15									0
Sector D	S.D.1									0
	S.D.2									0
	S.D.3									0
	S.D.4	+								1
	S.D.5			+						1
	S.D.6									0
	S.D.7									0
	S.D.8									0
	S.D.9									0
	S.D.10									0
	S.D.11									0
	S.D.12									0
	S.D.13									0
	S.D.14									0
	S.D.15									0
Laguna de Junín	L.J.1					+				1
	L.J.2									0
	L.J.3		+							1
	L.J.4				+					1
	L.J.5	+								1
	L.J.6									0
	L.J.7				+		+			2
	L.J.8							+	+	2

	L.J.9									0
	L.J.10							+		1
TOTAL	70	3	3	2	3	2	2	2	1	18

Analizamos 70 muestras ambientales (agua potable, agua de laguna y suelo) de la Provincia de Junín (05 y 06/09/14), el 60 (85.7%) muestras de agua potable y suelo y muestras de la Laguna de Junín es de 10 (14.3%). Pero solo 18 fueron positivas a protozoos no amebas (Tabla N° 3)

Muestras de agua potable:

Vorticella sp., fue observado en 3 muestras, S.B3, S.C5 y LJ3, este protista no es patógeno al hombre.

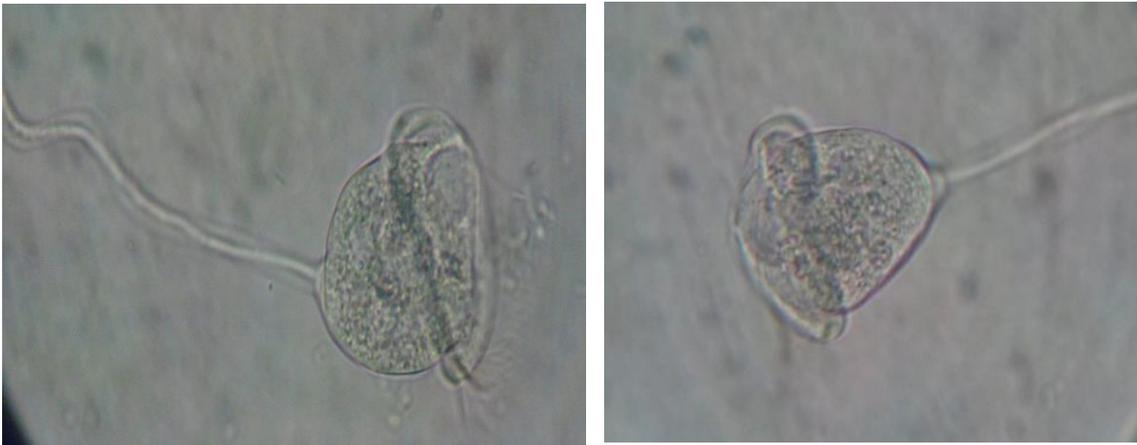


Figura N° 3: *Vorticella sp.*

Urotylid: Se observó en las muestras S.A4 y S.D5.

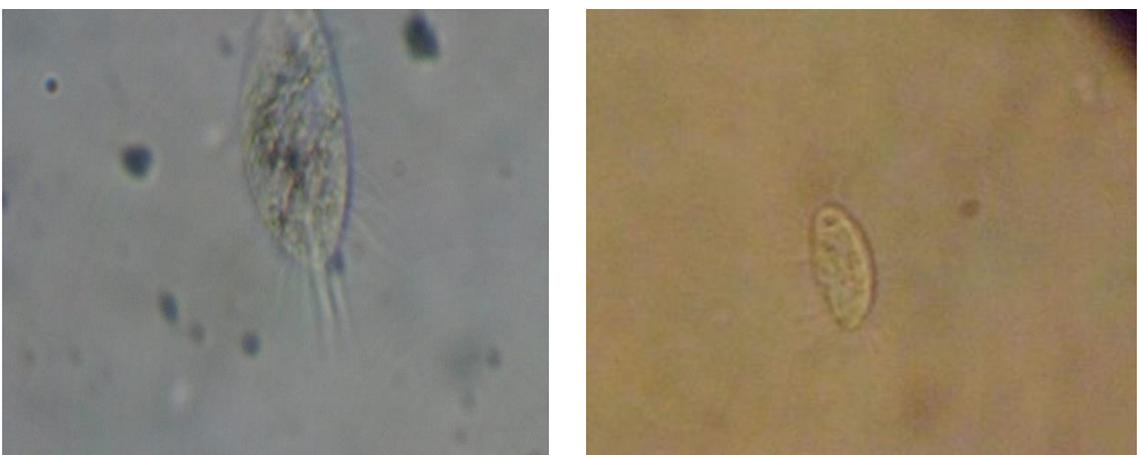


Fig.N°4; *Urotylid Sp.*

La presencia de amebas de vida libre ha sido observada en muestras de la laguna únicamente. En la tabla N°2, se observa la distribución de AVL, en la tabla N° 3 se observa la presencia de protozoarios tanto en muestras de agua de Población de Junín y la Laguna de Junín, eh aquí el concepto de las más importantes.

Vorticella Sp: es un género de protozoo, con más de dieciséis especies conocidas. Es un microorganismo unicelular ciliado de agua dulce eutrofizada, solitario o en grupos. Su cuerpo es de forma campanular o vesicular, y se une al sustrato con su pedúnculo contráctil. Tiene el aparato oral con una corona de cilios, de varios estratos, y forma una corriente de la cual va extrayendo bacterias que come. Ocasionalmente, pueden contraer violentamente su cuerpo ante estímulos externos.

Tiene reproducción asexual o por conjugación sexual. Clonalmente, una o dos células hijas entran en una fase morfológica intermedia, como cápsula cilíndrica, las telotrocas. Así, la célula forma su corona ciliar ventralmente, y el aparato oral se retrae. Luego, se fija a un punto del sustrato y la telotroca pasa gradualmente a la forma común de *Vorticella.*, se abren la ciliar oral, las posteriores desaparecen, y crece el pedúnculo.

Urostylidae sp: es un tipo de genero de protozoo, que mide aprox. 120um x 40um forma de huso, con los extremos redondeados el anterior más delgado que el posterior, cuerpo aplanado. Ciliatura ciliatica formada por cirros pequeños y dispuestos en ocho hileras ventrales, además de dos filas marginales, cilios en la superficie dorsal. Ciliatura bucal formada por una zona adoral de membranelas que abarca el tercio anterior, con el citostoma en su porción final. Macro núcleo esférico u ovoide con dos micro núcleos adyacentes. Carece de vacuola contráctil.

4.2. DISCUSIÓN

1. El presente estudio fue realizado con 70 muestras de agua de consumo humano en la Provincia de Junín, demostrando la presencia de Amebas de vida libre y protozoarios, resultando 8 muestras positivas a la presencia de Amebas de vida libre representando el 11.4% de prevalencia. Se identificaron 2 géneros los cuales son *Acantamoeba Sp.* y *Leptomyxas Sp.*
2. Garaycochea et al., 2008, realizaron un estudio en el que demostraron la presencia de amebas de vida libre en las piscinas públicas Lima 1(10%). (41), otro estudio en la provincia de Ica - Perú demostró 5 (20%), (42), a diferencia del estudio chileno en el que se halló en Santiago de Chile 5 (62.5%), (43). En forma similar, Suarez et al., 2002 aisló más AVL en muestras de fuentes de agua natural que artificial (42).
3. Algunas especies de *Acanthamoeba sp*, *Naegleria fowleri*, son considerados patógenos, sin embargo existen algunos reportes en donde se ha encontrado una aparente asociación para especies no patógenas y patógenas causando enfermedad, por ahora *Hartmannella*, *Saccamoeba sp*, *Vannella* y *Vahlkamfia* no son considerados patógenos pero sí podrían transportar bacterias patógenas a humanos.
4. En el presente trabajo de investigación se determinó amebas de AVL en la laguna de Junín a 4105msnm obteniendo como resultado de las muestras solo tomadas de la Laguna de Junín (70%) fueron positivas para *Acantamoeba sp.* y (10%) fue positiva para *Leptomyxas Sp.*
5. No se dispone de datos de las especies de *Leptomyxa* en las zonas alto-andinas, la importancia de esta especie es que morfológicamente es similar a *Balamuthia -like*, esta última ameba es muy patógena y Perú describe el mayor número en comparación a sus países vecinos y después de la casuística de EEUU.

6. Desafortunadamente, en nuestro país no disponemos un laboratorio sofisticado con la tecnología para discriminar a nivel molecular entre estas amebas de vida libre potencialmente patógenas.
7. Bravo and Seas, 2012 documentan la serie de casos con 55 casos de meningoencefalitis por *B. mandrillaris* en Perú, esta es la serie más extensa después de USA. En el presente trabajo de investigación solo se cultivaron muestras de agua a dos temperaturas diferentes obteniendo *Acantamoeba Sp.* y *Leptomyxas Sp.* No fue posible su axenización, pero si se pudo demostrar que se pueden encontrar Amebas de vida libre a 4105msnm en zonas alto andinas.
8. De las 70 muestras de agua para consumo humano evaluado en la Población de Junín, la Laguna de Junín no sería apta para el consumo humano y que debería ser tratada.
9. Según en el Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano de DIGESA, en el Título IX Requisitos de calidad del agua para consumo humano, Artículo 59º Agua Apta para el consumo humano indica que el agua para consumo humano es toda agua inocua para la salud que cumple los requisitos de calidad establecidos en dicho Reglamento; debe estar exenta de: Huevos y larvas de Helmintos, quistes y ooquistes de Amebas y protozoarios patógenos, Organismos de vida libre como algas, amebas, protozoarios, copépodos, rotíferos y nematodos en todos sus estadios evolutivos (44,45).
10. Al realizarse el muestreo del agua de consumo de la Población de Junín a 4105msnm para esta investigación, se observó diferentes factores que podrían ser causantes de la contaminación del agua, así como el mal estado de las tuberías que llevan agua a los diferentes domicilios de la Población de Junín así mismo como en la Laguna de Junín, se observó la presencia de animales de sangre caliente en los cuerpos de agua, esta zona es en la parte alto andina de la Población de Junín, la Población se dedican a la crianza de animales de carne y lana.

4.3. CONCLUSIONES

1. En esta investigación se determinó la presencia de Amebas de vida libre a 4105msnm. En 8 muestras de agua para consumo humano de la Provincia de Junín se observó AVL siendo su prevalencia del 11.4%.
2. Se identificaron 2 tipos de Amebas de vida libre, *Acantamoeba Sp.* y *Leptomyxas Sp.* De las 70 muestras analizadas de agua para consumo humano 62 muestras evaluadas en la Provincia de Junín son aptas para su consumo así mismo las 8 restantes que en su mayoría representa muestras de la Laguna de Junín (muestras ambientales) no son aptas para el consumo humano ya que estas aguas no son tratadas podrían causar enfermedades a las personas que habitan cerca de la Laguna de Junín
3. Así mismo se demuestra en este trabajo de investigación que se encuentran Amebas de vida libre como *Acantamoeba Sp.* y *Leptomyxas Sp.* a 4105msnm en zonas alto andinas como lo demuestra esta investigación realizada en la Provincia de Junín
4. Se propone más estudios al respecto para establecer la identidad de las especies aisladas en este trabajo.

4.4. RECOMENDACIONES

1. Se debería implementar infraestructuras de sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano, para que el agua llegue lo más inocuo posible y que no haya ningún tipo de contaminación en el sistema de llegada a los domicilios.
2. Se debería implementar un programa a nivel nacional en todas las Direcciones de Salud Ambiental, para que así se pueda tener un diagnóstico de la calidad del agua para consumo humano.
3. Como una medida preventiva, los habitantes de la Provincia de Junín, debería hervir el agua tanto para consumir y ducharse, esto para eliminar las formas larvarias de los parásitos que pudieran existir en el agua de consumo y así evitar enfermedades gastrointestinales. Así como también prevenir Amebas de vida libre que causan frecuentemente enfermedades como abscesos amebianos cerebrales, meningoencefalitis, etc.
4. Se sugiere que la Municipalidad de la Provincia de Junín intervenga en el tratamiento del agua de la Laguna de Junín ya que esta agua es consumida por los pobladores de dicha zona.
5. Impartir información a la población de Junín sobre las enfermedades causadas de transmisión de parásitos y Amebas de vida libre en aguas no tratadas mediante algún tipo de material o charlas y así evitar enfermedades a los habitantes para que a largo plazo no sufran algún tipo de complicación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Watkins BM. Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development. *Trends Parasitological* 2003; 19:477- 478.
2. OMS. Guías para la calidad del agua potable (2006) [Consultado: Mayo 5, 2010]. [Documento en línea] volumen (1) Disponible http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3_es_full_lowres.pdf
3. Botero D. & Restrepo M. Parasitosis humanas (4^oed) Fondo Editorial CID. Medellín; Colombia. (2003) p. 103 – 110.
4. OMS/OPS (2004). Salud y Ambiente. Washington, D.C. USA.
5. Fuentes A., Campas O., Aguilar G. & Meza M. Calidad microbiológica del agua de consumo humano de tres comunidades rurales del sur de sonora (México) (2007). *RESPYN*. 8: 1-13.
6. OMS & UNICEF (2005). El Agua Fuente de Vida 2005-2015. [Consultado: Mayo 2, 2011], [Documento en línea]. Disponible http://www.who.int/water_sanitation_health/waterforlife.pdf
7. Cabral F, Cabral G. *Acanthamoeba spp.* as agents of disease in humans. *ClinMicrobiol Rev.* 2003; 16(2): 273-307.
8. Schuster FL, Visvesvara GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of human and animals. *Int J Parasitol.* 2004; 34(9): 1001-27.
9. El Fakahany AF, Fahmy RR, Mohamed AS. Free living amoebaeas opportunistic parasites in immunocompromised hosts. *J EgepSocParasitol.* 1997; 27(2): 515-27.
10. A wad ST, Petroll WM, McCulley JP, Cavanagh HD. Updates in *Acanthamoeba keratitis*. *Eye Contact Lens.* 2007; 33(1): 1-8.
11. Saredi, Nelida. Manual práctico de parasitología médica, 1ra. Edición, Editorial Talleres Gráficos Alfa Beta, Buenos Aires – Argentina 2002.
12. Pumarola, A.; Rodriguez Torres, A.; Garcia Rodriguez, J. A.; Piedrola Angulo, G. Microbiología y Parasitología Medica, 2da Edición, Editorial Savat Editores S. A. 2004.
13. Botero D. & Restrepo M. Parasitosis humanas (4^o edición). Fondo Editorial CID. Medellín, Colombia (2003).

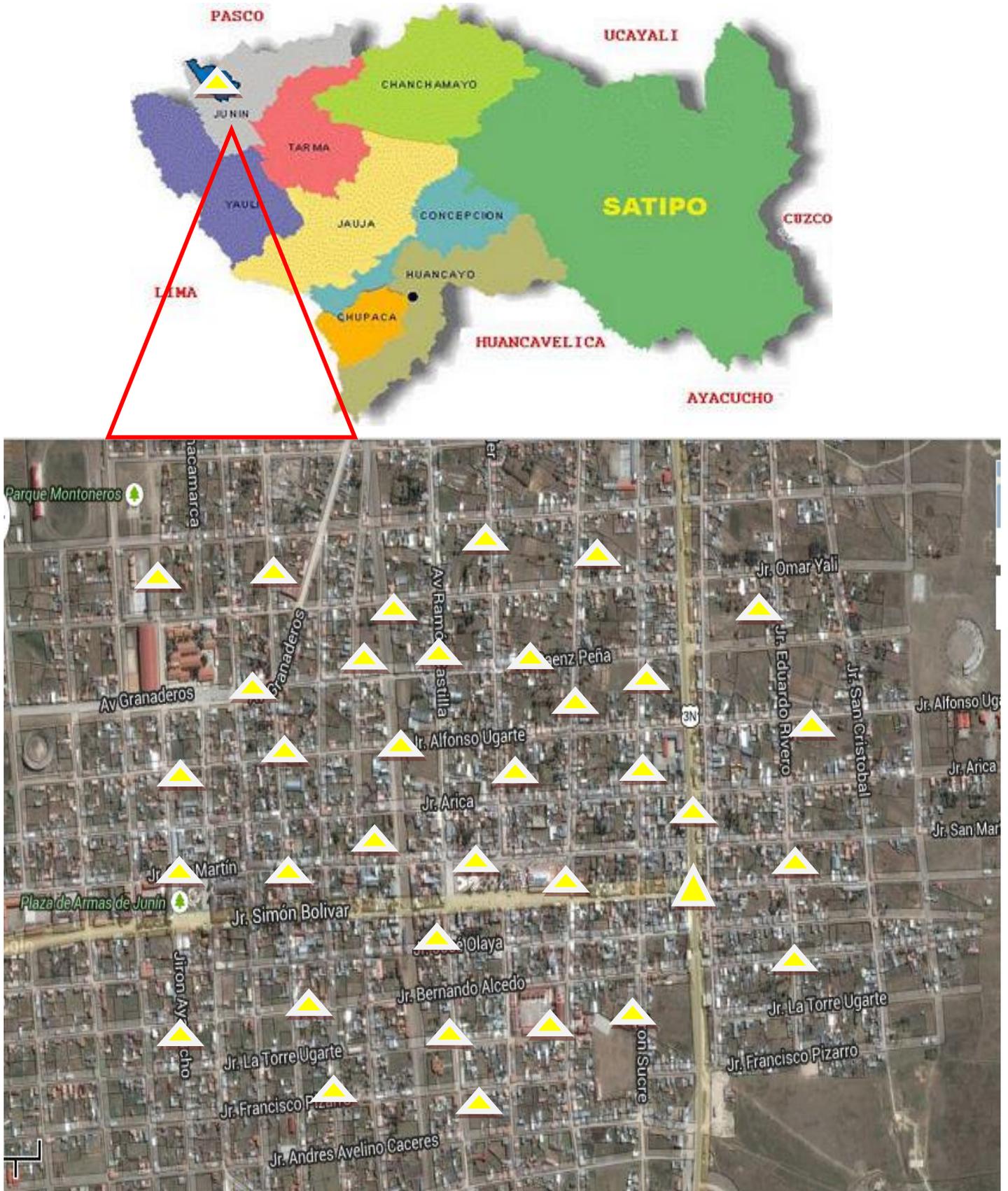
14. Pereira Neves; Lane De Melo; Marcos Linardi,; Almeida Vitor, Ricardo W.. Parasitología Médica. 11ava Edición, Editorial Atheneu. Sao Paulo – Brasil 2005.
15. Arcos P., Mireya Del Pilar; Avila De Navia, Sara Lilia; Estupiñan Torres, Sandra Monica; Gomez Prieto, Aura Cristina. Indicadores Microbiológicos De Contaminación De Las Fuentes De Agua. Colombia. Salud 2005, 3(4): 1-116.
16. Schuster FL, Visvesvara GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. IntJ Parasitol 2004; 34:1001-1027.
17. Narváez J. Encefalitis amebiana primaria granulomatosa. Diagnóstico. 1996; 35:13-9.
18. Navarro P, Tejada A, Suárez R, Espinoza Y. Presentación de un caso de *acanthamoebiasis* cutánea procedente de Cajamarca. Cuarto Congreso de Parasitología, Libro de Resúmenes, Setiembre 2000.
19. Huapaya P, Espinoza Y, Jiménez S, Tejada A, Suárez R. Aislamiento de amebas de vida libre en el Instituto de Medicina Tropical 'Daniel A. Carrión' UNMSM. Cuarto Congreso de Parasitología, Setiembre 2000.
20. Suárez R, Olaya J, Miranda E. Aislamiento de amebas de vida libre en pacientes del servicio de Oftalmología del hospital Cayetano Heredia. V Congreso Peruano de Parasitología, Setiembre 2000.
21. Perez-Cordon, Gregorio; Rosales, Maria J.; Valdez, Renzo A.; Vargas-Vasquez, Franklin y Cordova, Ofelia. 2008. Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. Ver. Perú. Salud Pública. 25(1): 144-148.
22. Schuster, F.L., Yagi, S., Gavali, S., Michelson, D., Raghavan, R., Blomquist, I. Glastonbury, C., Bollen, A.W., Scharnhorst, D., Reed, S.L., Kuriyama, S. Visvesvara, G.S., Glaser, C.A., 2009. Underthe radar: balamuthia amebicencephalitis. Clin. Infect. Dis. 48, 879–887.
23. Delgado J, Aguila E. Abscesos amebianos cerebrales y meningoencefalitis. ArchPeru Patol Clin. 1957; 6(1-4): 21-26
24. Elvia Manuela Gallegos-Neyra¹, Alfonso Lugo Vázquez, Arturo Calderón Vega, María del Rosario Sánchez Rodríguez y Rosaura Mayén Estrada Revista Mexicana de Biodiversidad, Supl. 85: S10-S25, 2014

25. Castillo de Mena et al Amibas de vida libre en pozas, piscinas y lagos de El Salvador, Revista crea ciencia Año 7, N° 11 ISSN 1818-202X
26. Ortíz O. Ricardo, Bonilla L. Patricia, Monsalvo R. Alejandro y Campos E. Carlos. Detección de Amibas patógenas del género *Acanthamoeba* por PCR en cuerpos de agua recreativos en el estado de San Luis Potosí, México.5(19): 358-365, 2012
27. Ramírez Flores et al. Calidad Amebológica del agua de pozos utilizados para suministro de agua potable en el Estado de Hidalgo 219-228
28. Takano J, Cabrera J, Franco FR, Martinot CL, Meningitis amebiana primaria sub aguda. Patologia México 14: 287, 1976
29. Arce VR y Asato HC, Encefalitis por *Acanthamoeba castellani* Diagnostico 3:1-2-3,pg 25-27.1979
30. Narvaez J. Encefalitis amebiana primaria granulomatosa. Diagnóstico (Perú). 1996; 35(2): 13-19
31. Galarza M., Carlos; Larrea, P.; Kumakawa S., Héctor, Primer caso reportado en el Hospital Nacional "Dos de Mayo", Lima Perú Dermatol. Perú 1997; 7 (1):65-9
32. Galarza C, Gutiérrez E, Uribe M, Ramos W, Ortega A, Ávila J, Hanco J, Espinoza Y, Espinoza M, Ñavimcopa M, Gámez D. Dermatol Perú 2006;16(1):36-40
33. Recavarren Arce S, Velarde C, Gotuzzo E, Cabrera J. HumPathol. 1999; 30(3):269-73.
34. Campos P, Cabrera J, Gotuzzo E, Guillén D. Neurological involvement in free living amebiasis. Rev Neurol 1999; 9: 316-8.
35. Gotuzzo E, Cabrera J, Bravo F, Velarde C, Delgado W, Echevarria J, Chaparro E, Campos P, Cok J, Recavarren S, Visvesvara G. Infection by *Balamuthia Mandrillaris*. Report of 30 cases at the Hospital Nacional Cayetano Heredia, Lima, Peru. Abstract18.005. 9th International Congress of Infectious Diseases, Buenos Aires, Argentina. April 2000.
36. Ballona R y Aguije M. Compromiso cutáneo en encefalitis granulomatosa amebiana fatal causada por *Balamuthia mandrillaris* Folia Dermatol. 2003; 14(1):28-30

37. Sánchez J, Casavilca S, Cuellar L, Klinge G, Mengoa C. Meningoencefalitis y osteomielitis por amebas de vida libre. Reporte de un caso. *RevMedHered.* 2004; 15(2): 118-21
38. Bravo F G, Cabrera J, Gotuzzo E. Cutaneous manifestations of infection by free living amebas, with special emphasis on *Balamuthia mandrillaris*. En: Tying SK, Lupi O, Henage UR, eds. *Tropical Dermatology*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2006: 49-56.
39. Bravo FG, P.J. Alvarez and E. Gotuzzo. *Balamuthia mandrillaris* infection of the skin and central nervous system: an emerging disease of concern to many specialties in medicine. *CurrOpinInfectDis.* 2011 Apr;24(2):112-7
40. Diagnóstico y tratamiento de queratitis por *Acanthamoeba*, Lavado L. *Rev Horiz Med Volumen 12(4)*, Octubre - Diciembre 2012
41. Garaycochea, Beltrán, Morón. Patogenicidad de las Amebas de vida libre aisladas de fuentes de agua en Lima 2008
42. Suarez R, Espinoza Y, Villanueva C, Ramos J, Huapaya P, Marquina R. Aislamiento de amebas de vida libre del género *Acanthamoeba* a partir de fuentes de agua en la ciudad de Ica. *An Fac Med (Lima).* 2002; 63(2): 101-5.
43. Muñoz V, Reyes H, Toche P, Cárcamo C, Gottlieb B. Aislamiento de amebas de vida libre en piscinas públicas de Santiago de Chile. *Parasitol Latinoam.* 2003; 58(3-4): 106-11.
44. DIGESA, 2008; Manual de Procedimientos Analíticos en Microbiología de Aguas y Alimentos.
45. DIGESA. 2010. Reglamento general para el Agua de consumo.

ANEXOS

Fig. N° 5: Mapa de la Provincia de Junín con los 60 sistemas de abastecimiento de agua para consumo humano y 10 de la Laguna de Junín a muestrear



MATRIZ DE CONSISTENCIA

“AMEBAS DE VIDA LIBRE, PERSISTENCIA A 4105M.S.N.M Y SUS POSIBLES IMPLICANCIAS PATOGENICAS EN LA SALUD DE LA POBLACION DE JUNIN”

PROBLEMA DE INVESTIGACION	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION	VARIABLES DE ESTUDIO	DIMENCIONES Y ESCALAS	INSTRUMENTOS DE MEDICION	METODOLOGIA
<p><u>Problema General:</u> Las Amebas de vida libre potencialmente patógenos a humanos ¿podrían sobrevivir en Junín a 4105msnm y establecer sus factores de virulencia activas?</p>	<p><u>Objetivo General:</u> Determinar la presencia de Amebas de vida libre a 4105msnm.</p>	<p><u>Variable Principal:</u> Amebas de vida libre</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo • Negativo 	Microscopio	<p><u>Diseño de Estudio:</u> Estudio Descriptivo de Tipo Transversal</p> <p><u>Población:</u> Se analizara muestras ambientales y se tomara muestras de agua en lugares de abastecimiento de consumo humano ubicados en la Provincia de Junín en los meses de Agosto 2014 – Julio 2015.</p>
<p><u>Problemas Específicos:</u> ¿Qué tipos de amebas de vida libre se podrá encontrar en la provincia de Junín?</p>	<p><u>Objetivos Específicos:</u> Identificar las diversas especies de amebas de vida libre en muestras de agua en zonas urbanas/rurales de Junín.</p>	<p><u>Variables Secundarias:</u> Tipos de Amebas de vida libre</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Naegleria</i> • <i>Acanthamoeba</i> • <i>Balamuthia</i> • <i>Hartmannella</i> • <i>Leptomyxa</i> 	Microscopio	
<p>¿Qué características podría tener el agua de consumo humano que permita la aparición de amebas de vida libre en Junín?</p>	<p>Determinar las características del agua en zonas urbanas de Junín</p>	pH	<ul style="list-style-type: none"> • >4,5 • ≤ 4.5 	Tira reactiva de pH	
		Temperatura	<ul style="list-style-type: none"> • Alta • Baja 	Termómetro	