

AMEBES AÏLLADES A L'AIRE DE LA CIUTAT DE MÈXIC

FERMÍN RIVERA¹, RODOLFO GÓMEZ¹, GUADALUPE ROY-OCOTLA² i IRMA ROSAS²

¹Unidad de Investigación Interdisciplinaria de las Ciencias de la Salud y la Educación. E.N.E.P., Universidad Nacional Autónoma de México - Iztacala.

²Centro de Ciencias de la Atmósfera. Ciudad Universitaria, Universidad Nacional Autónoma de México.

Rebut 26 setembre 1984

SUMMARY

A protozoological survey (Protozoa: Sarcodina) was done from June to August 1982, to isolate small free-living amoebae from the atmosphere using air vacuum samplers and filters.

Amoebic species isolated included: *Naegleria gruberi* Schardinger, *Acanthamoeba polyphaga* Pusch-karew, *Vahlkampfia jugosa* Page, *Acanthamoeba astronyxis* Ray and Hayes, and *Acanthamoeba castellanii* Douglas.

A. polyphaga and *A. castellanii* have strains which may be pathogenic to humans, causing granulomatous meningoencephalitis.

INTRODUCCIÓ

Els microorganismes poden disseminar-se tot adherint-se a partícules de pols de l'aire (HORNE, 1935).

L'aire calent, com el que es genera a les ciutats, si és portat a capes superiors pot impedir la ràpida deposició de les partícules, i les gotes de pluja poden arrossegar els microorganismes d'un nivell atmosfèric cap a un altre (MAGARVEY i HOSKINS, 1968). Un gran nombre de microorganismes són portats constantment a l'atmosfera principalment per núvols de pols —això que a Mèxic es co-

neix com «tolvanera» o «remolinada», fenomen de gran preponderància als mesos de secor i calor, és a dir, de febrer a maig— per a retornar després a la terra mitjançant pluges torrencials o bé corrents d'aire (GEISLEN, 1948).

Diversos autors han descrit protozous a l'aire en diferents ocasions (MIQUEL, 1883; LINDNER, 1899; PUSCHKAREW, 1913; HYMAN, 1940; LACKEY, 1939; SCHLICHTING, 1961, 1969). Dins els gèneres aïllats de mostres aèries es troben: *Chlamydomonas*, *Volvox*, *Peranema*, *Chromulina*, *Bodo*, *Paramecium*, *Cyclidium*, *Colpoda*, *Vorticella*,

Stylonychia i petites amebes de vida lliure no classificades (SCHLICHTING, 1969).

La importància mèdica, en quant a la determinació d'al·lèrgens i producció de malalties i altres problemes pràctics relacionats amb la dispersió dels protozous per l'aire, han estat poc investigats.

D'altra banda, la similitud del tracte respiratori amb un mostrejador d'aire ha estat ben documentada (LIDWELL, 1970). També se sap que una persona pot arribar a respirar 50 mg de microorganismes cada 24 h (GREGORY, 1971), essent alguns d'aquests microorganismes patogènics o al·lèrgens. Endemés, s'ha comprovat que infeccions respiratòries com l'àntrax, tuberculosi pulmonar, influença, xarampió i infeccions causades per estreptococs arriben a adquirir-se mitjançant la inhalació de l'aire (WELLS, 1955, BRACHMAN et al., 1966). De la mateixa manera pot adquirir-se la meningoencefalitis amebiana primària (RIVERA et al., 1984).

Alguns factors com el fecalisme a l'aire lliure, les «remolinades» (ambdós greus problemes a Mèxic) i la capacitat formadora de quists dels protozous aïllats afavoreixen la presència i la disseminació d'aquests organismes per l'aire. És per això que ens vam decidir a realitzar una anàlisi protozoològica d'amebes de vida lliure trobades a l'aire del sud de la Ciutat de Mèxic.

MATERIAL I MÈTODES

Mostreig

Les estacions de mostreig es localitzen dins del Districte Federal, a la Ciutat Universitària (Delegació Coyoacán) i a les vores del Canal de Cuemanco (Delegació Xochimilco), la pista olímpica de rem i canotatge. L'altitud per damunt del nivell del mar és de 2.250 m.

Les mostres es col·lectaren els mesos de juny, juliol i agost de 1982 —època de pluges— en dates elegides a l'atzar. Els paràme-

tres meteorològics es varen mesurar contínuament des de 24 hores abans de la recollida de mostres. Endemés, durant el mostreig es feren observacions, a intervals de 15 minuts, de les condicions del cel, humitat relativa, temperatura de l'aire, velocitat i direcció del vent.

Aire: L'aire es va recollir a altures des d'1 fins a 11 metres del sòl mitjançant un aparell de mostreig anomenat «impinger» en anglès i que es modificà per tal que constés d'un matràs Erlenmeyer amb 50 ml d'infusió de palla estèril (4:1.000, pH = 7,0), amb un tap a través del qual passa un tub de vidre de 4 mm de diàmetre interior que arriba fins a 6 mm pel damunt del fons del matràs. Per un altre tub de vidre, el matràs es connecta a un sistema de buit que fa córrer per dins del medi un flux d'aire de 15 l/min. El volum final d'aire mostrejat fou de 9.000 l en cada ocasió (SCHLICHTING, 1961 i 1969).

Pluja: Les mostres d'aigua de pluja es col·lectaren amb erlenmeyers de 1 l mitjançant un embut de 28 cm de diàmetre superior. Cada matràs es col·locava al damunt d'un suport de metall a una altura de 1,5 m, a fi d'evitar que el copejament de l'aigua contra el fons contaminés la mostra amb microorganismes del sòl (MAGUIRE, 1963). Els col·lectors es posaven diàriament a les 10:00 a.m. al lloc de mostreig, romanien totalment tapats am full d'alumini fins al començament de la pluja i es recollien en acabar aquesta.

Tot el procediment de mostreig es féu en condicions d'esterilitat estricta.

Cultiu

Els flascons de cultiu amb 50 ml d'infusió de palla es bombollejaren amb aire o bé s'inocularen amb 20 ml d'aigua de pluja i s'incubaren de 60 a 90 dies a temperatura ambient (al voltant de 25 °C), sota un règim de 12 hores de llum i 12 hores a la fosca. Paral·lelament, s'incubà un matràs amb medi no

inoculat com a testimoni. Passat el període d'incubació, les mostres s'observaren en fresc, detectant-se algues i quists d'amebes de parets tant llises com ornamentades. La resta del cultiu es dividí en dues parts: una d'elles s'inoculà a 50 ml de Medi Basal de Bold (MBB; STEIN, 1973) i l'altra a 50 ml d'infusió de palla. Després es varen mantenir 9 mesos dins d'una cambra de creixement amb temperatures al voltant de 25 °C i fotoperíode de 18 hores de llum i 6 hores de fosca.

Passat el temps d'incubació, es tornaren a fer preparacions en fresc tot observant-se trofozoïts d'amebes en el MBB, i es procedí a la seva identificació fins a nivell d'espècie. Per a això, es segueixen dos mètodes:

a) *Mètode de Propagació Amebiana en medi NNE* (DE JONCKHEERE, 1977). A plaques de Petri amb NNE i sembrades amb *Escherichia coli* s'hi addicionaren 2 ml de les algues i amebes crescudes en el MBB, incubant-se a 30 °C durant 48 hores. Les plaques positives al creixement amebià, detectades mitjançant l'observació directa amb un microscopi invertit, varen ser fixades amb una dissolució de glutaraldehid al 2,5 % durant 10 minuts. Després, els trofozoïts i quists fixats es suspengueren en una dissolució salina (PBS) i es rentaren tres vegades (centrifugacions de 5 minuts a 500 rpm), essent finalment resuspeses en una dissolució de glutaraldehid al 0,25 %, cacodilat de sodi i azida de sodi al 0,2 % (pH=7,4). Trofozoïts i quists foren identificats per la seva morfologia.

b) *Cultiu Axènic amb Medi de Chang* (DE JONCKHEERE, 1977) *Modificat* (es substituïren la caseïna isoelectrícula i l'extracte de llevat per Biotriptasa, de la casa Bioxon de Mèxic). En condicions d'esterilitat es varen tallar quadrats d'1 cm de medi NNE amb trofozoïts i es sembraren en medi de Chang modificat amb 2.000 U. de penicil·lina i 2.000 mg de kanamicina per ml. Els cultius s'incubaren a 30 °C en posició vertical i el creixement es controlà amb el microscopi invertit. La

identificació morfològica es realitzà en preparacions fresques i d'altres fixades amb glutaraldehid al 0,25 %.

RESULTATS

Les amebes aïllades a la pluja i a l'aire s'ordenen per dates i localitats a la Taula I, juntament amb els valors mesurats de temperatura, percentatge d'humitat relativa, pH i velocitat del vent.

Entre les espècies aïllades, *Acanthamoeba polyphaga* i *Acanthamoeba castellanii* presenten soques que poden ser patogèniques per a l'home, en causar-li meningoencefalitis amebiana granulomatosa.

DISCUSSIÓ

La recollida de mostres es va fer de juny a agost de 1982, època de pluges torrencials al Districte Federal (D.F.) de la Ciutat de Mèxic.

Es varen aïllar organismes de tres espècies amebianes que encara mai han estat citades com a patogèniques: *Naegleria gruberi*, *Vahlkampfia jugosa* i *Acanthamoeba astropyxis*. D'altra banda, les altres dues espècies trobades, *A. castellanii* o *A. polyphaga*, presenten soques de patogenicitat ben comprovada (RIVERA et al., 1984).

És aquesta la primera vegada que hom troba amebes a la pluja i a l'aire a Mèxic. Aquest estudi demostra que les amebes aïllades, capaces de formar quists, poden existir com a viables a l'atmosfera, essent detectables mitjançant l'isolament amb medis de cultiu adequats.

A més a més, algunes de les espècies trobades i altres de similars són reconegudes com a invasores de les fonts d'aigua potable (RIVERA et al., 1981) de piscines (RIVERA et al., 1983) i de portadors humans (RIVERA et al., 1984).

TAULA I
Amebes de vida lliure aïllades a l'atmosfera

| Data de mostreig | Lloc | Tipus de mostra | Temp. °C | % humitat relativa | pH | Velocitat del vent m/seg | Espècies detectades |
|------------------|---------------------------------|-----------------|----------|--------------------|------|--------------------------|---|
| 22-VI-82 | | Pluja | 12,9 | — | 6,2 | — | <i>Naegleria gruberi</i> |
| 26-VII-82 | | Pluja | 13,21 | 77,5 | 4,89 | — | <i>Acanthamoeba polyphaga</i> <i>Vahlkampfia jugosa</i> |
| 29-VII-82 | Cuemanco, D.F. | Aire | 15,6 | 54,08 | — | 4 | <i>Acanthamoeba polyphaga</i> <i>Naegleria gruberi</i> |
| 9-VIII-82 | | Aire | 12,1 | 76,14 | — | 1 | <i>Acanthamoeba astronyxis</i> |
| 24-VII-82 | | Pluja | 19,6 | 58,4 | 5,48 | — | <i>Acanthamoeba astronyxis</i> <i>Acanthamoeba castellanii</i> |
| 28-VII-82 | Ciutat Universitària D.F. | Aire | 16,4 | 57,6 | — | Calma | <i>Acanthamoeba astronyxis</i> <i>Acanthamoeba castellanii</i> |
| 9-VIII-82 | | Pluja | 18,0 | 57,05 | 6,4 | — | <i>Acanthamoeba polyphaga</i> <i>Naegleria gruberi</i> |

Estudis addicionals aportaren informació sobre la dispersió i l'ecologia d'aquests microorganismes. Algunes espècies poden resultar més afavorides quant a la seva dispersió aquàtica o aèria. Una selecció natural d'aquest tipus pot restringir la disseminació dels microorganismes o bé afavorir-la permetent-los que envaeixin hàbitats diversos. Per això és bo de saber quines espècies amebianes o d'altres de protozous es dispersen aprofitant els corrents d'aire, per mirar d'establir —després de conèixer les condicions ambientals imperants— les mesures més efectives per al seu control.

Agraïments

Aquest estudi es realitzà gràcies a l'ajut financer del CONACyT. La versió catalana es deu a Glòria Vilaclara. Agraïm també la col·laboració tècnica d'Elizabeth Ramirez, Patricia Bonilla, Fernando Lares i Sergio Arzac.

BIBLIOGRAFIA

- BRACHMAN, P.S. KAUFMANN, A.F. and DALLDORF, F.G. (1966) Industrial inhalation anthrax. *Bact. Rev.* 30 646-657.
- DE JONCKEERE, J. (1977). Use of an axenic medium for differentiation between pathogenic and non-pathogenic *Naegleria fowleri* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 751-757.
- GISLEN, T. (1948). Aerial plankton and its conditions of life. *Biol. Rev.* 23, 109-126.
- GREGORY, P.H. (1971). The Leeuwenhoek Lecture, 1970. Airborne microbes: their significance and distribution. *Proc. R. Soc. B.* 177, 469-483.
- HORNE, A.S. (1935): On the numerical distribution of microorganisms in the air. *Proc. R. Soc. B.* 117, 154-174.
- HYMAN, L.H. (1940). The invertebrates, Protozoa through Ctenophora, Vol. I. McGraw Hill Book, Co., New York.
- LACKEY, J.B. (1939). The microscopic flora and fauna of tree holes. *Ohio. J. Sci.* 40, 186-192.
- LIDWELL, O.M. (1970). Microorganism: levende stof i luften. In Niels Jonassen (Ed.), *Termisk og Atmosfaerisk Indeklima*. Polyteknisk Forlag, Lyngby, Denmark.

- LINDNER, G. (1899). Die Protozöenkeime im Regenwasser. *Biol. Zbl.* 19, 412-432.
- MAGARVEY, R.H. and HOSKINS, J. (1968). Entrainment of small particles by a large sphere. *Nature* 218, 460.
- MAGUIRE, B. (1963). Passive dispersal of small aquatic organisms and their colonization of desolated bodies of water. *Ecological Monograph* 33: 161-185.
- MIQUEL, P. (1883). *Les organismes vivants de l'atmosphère*. Gauthier-Villars, Paris.
- PUSCHKAREW, B.M. (1913). Über die verbreitung der Süßwasserprotozoen durch die luft. *Arch. Protistenk* 28, 323-362.
- RIVERA, F., ORTEGA, A., LÓPEZ-UCHOTERENA, E. and PAZ, M.E. (1979). A quantitative, morphological and ecological study of protozoa polluting tapwaters in Mexico City. *Trans. Amer. Micros. Soc.* 98, 465-469.
- RIVERA, F., GALVÁN, M., ROBLES, E., LEAL, P., GONZÁLEZ, L. and LACY, A.M. (1981). Bottled mineral waters polluted by protozoa in Mexico. *J. Protozool.* 28, 54-56.
- RIVERA, F., RAMÍREZ, P., VILA CLARA, G., ROBLES, E., and MEDINA, F. (1983). A survey of pathogenic and free-living amoebae inhabiting swimming pool water in Mexico City. *Env. Res.* 32, 205-211.
- RIVERA, F., MEDINA, F., RAMÍREZ, P., ALCOCER, J., VILA CLARA, G., and ROBLES, E. (1984). Pathogenic and free-living protozoa cultured from the nasopharyngeal and oral regions of dental patients. *Env. Res.* 33, 428-440.
- SCHILICHTING, H.E. (1961). Viable species of algae and protozoa in the atmosphere. *Lloydia* 24, 81-88.
- SCHLICHTING, H.E. (1969). Meteorological conditions affecting the dispersal of airborne algae and protozoa. *Lloydia* 27: 64-78.
- WELLS, W.F. (1955). *Airborne Contagion and Air Hygiene: an Ecological Study of Droplet Infections*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.