



INFORME BREVE

Primer informe clínico de *Balamuthia mandrillaris* en el distrito de Camaná, Arequipa, Perú

Fiorella Suyo-Prieto^a, Jeanette Núñez^a, Karen Guzmán^a, Fredy Mostajo^a, Ferdinand de Amat^a, Mónica Ruiz^b, Mauricio Postigo^b y Alfonso Martín Cabello-Vílchez^{c,*}

^a Servicio de Dermatología, Hospital Nacional Carlos Alberto Seguin Escobedo-Essalud, Arequipa, Perú

^b Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Nacional Carlos Alberto Seguin Escobedo-Essalud, Arequipa, Perú

^c Laboratorio de Protozoarios y Endosimbiontes Patógenos (LPEP), Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

Recibido el 30 de septiembre de 2019; aceptado el 25 de mayo de 2020

Disponible en Internet el 2 de octubre de 2020

PALABRAS CLAVE

Encefalitis amebiana;
Ameba de vida libre;
Balamuthia
mandrillaris;
Compromiso cutáneo

KEYWORDS

Amoebic encephalitis;
Free-living amoeba;
Balamuthia
mandrillaris;
Cutaneous
involvement

Resumen Las infecciones por amebas de vida libre causan compromiso cutáneo y neurológico. Estas afecciones presentan una baja frecuencia pero una alta letalidad, mayor al 98%. Generalmente el cuadro clínico es inespecífico y los exámenes de laboratorio no son de gran ayuda, por lo que representa un reto diagnóstico y terapéutico. En este informe presentamos el caso de un paciente de 21 años que fue hospitalizado por un síndrome convulsivo con tumoraciones cerebrales, además de una lesión cutánea en el muslo derecho. El análisis histopatológico, PCR y el cuadro clínico permitieron el diagnóstico de encefalitis amebiana granulomatosa. A pesar del tratamiento, el paciente tuvo un desenlace fatal.

© 2020 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

First case report of the *Balamuthia mandrillaris* in the Camaná district of Arequipa, Peru

Abstract Infections by free-living amoebas cause cutaneous and neurological compromise. These conditions have a low frequency, but a high lethality more than 98%. Generally, the clinical picture is nonspecific; the laboratory tests don't help, so it represents a diagnostic and therapeutic challenge. In this report, we present the case of a 21-year-old patient, who was

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: amcabello.v@yahoo.com, alfonso.cabello@upch.pe (A.M. Cabello-Vílchez).

hospitalized for a convulsive syndrome with brain tumors, in addition to a cutaneous lesion on the right thigh. Histopathological analysis, PCR and the clinical picture allowed the diagnosis of granulomatous amebic encephalitis. Despite the treatment, the patient had a fatal outcome. © 2020 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Las amebas de vida libre son microorganismos que habitan el agua y el suelo. Algunas especies han mostrado capacidad patogénica para invadir a humanos y animales⁶. Existen cuatro especies que pueden causar enfermedad en humanos: *Balamuthia mandrillaris*, *Acanthamoeba* genotipo 4 principalmente, y otras dos de menor frecuencia, *Naegleria fowleri* y finalmente *Sappinia pedata*¹⁻³.

B. mandrillaris se aisló en la primavera de 1986 del cerebro de una mandril preñada de 3 años y 10 meses de edad (*Papio sphinx*) que murió de una enfermedad neurológica en el zoológico de San Diego, California. *B. mandrillaris* se describió inicialmente como una ameba *Leptomyxid* sp. Sin embargo, hoy en día *B. mandrillaris* lleva el nombre en honor del difunto profesor William Balamuth (1914-1981) de la Universidad de California en Berkeley, un eminente protozoólogo conocido por sus contribuciones a los estudios en protistas y amebas de vida libre.

La infección por *B. mandrillaris* muestra dos presentaciones clínicas principalmente: lesiones cutáneas y/o lesiones cerebrales. En la mayoría de casos la lesión cutánea precede a la lesión cerebral. Esto sucede en Sudamérica con una mayor frecuencia en comparación a otras partes del mundo.

En Estados Unidos el número de pacientes infectados por *B. mandrillaris* llega a 109 casos⁵. En Sudamérica se reportan muy pocos casos, siendo Perú el que posee la mayor casuística en los últimos 40 años, con más de 55 casos¹. Recientemente en Japón se ha aislado *B. mandrillaris* del suelo del norte de las islas¹⁵. Japón no es considerado un país cálido por su ubicación en el hemisferio norte. Sin embargo, se han informado en ese país 18 casos de infección por *B. mandrillaris*⁸.

No se dispone de ningún argumento convincente para explicar la alta frecuencia de casos por *B. mandrillaris* con lesiones cutáneas en Perú. Sin embargo, se han planteado hipótesis como la predisposición genética propuesta por Schuster et al.¹³ y la de Cabello-Vilchez et al.^{3,4}, quienes proponen que la exposición a luz ultravioleta podría ser un factor predisponente a las lesiones cutáneas.

El presente caso clínico es el primer informe de *B. mandrillaris* en la provincia de Camaná, Departamento de Arequipa, Perú. El paciente presentó un cuadro de encefalitis amebiana granulomatosa de curso agudo con lesión cutánea previa y desenlace fatal.

El estudio fue avalado por el Comité de Ética del Hospital Nacional Carlos Alberto Seguí Escobedo-Essalud.

Paciente varón de 21 años, natural de Camaná, provincia de Arequipa, con ocupación técnico en mantenimiento de maquinaria pesada (desde hace 3 años). El año 2015 tuvo un trauma contuso-cortante en muslo derecho por caída de motor, que dejó como secuela una cicatriz hipertrófica. Como antecedente epidemiológico, el paciente estuvo expuesto a fuentes de aguas naturales como las acequias de la provincia de Camaná-Arequipa desde su niñez y torrenteras del área urbana (Mercado Palomar) de la ciudad de Arequipa. El paciente frecuentaba las acequias y riachuelos para bañarse, antes y después de presentar la lesión cutánea, producto del corte con la máquina. No se dispone del lugar preciso de aquella(s) acequia(s) a la(s) que concurría, pero es probable que haya sido muy cerca del Mercado Palomar-Camaná.

Tres meses antes de su hospitalización presentó sobre la cicatriz del muslo derecho una lesión indurada eritematosa y dolorosa de crecimiento progresivo; la primera vez que el paciente acudió al hospital (28/08/2017) presentaba una convulsión tónico-clónica y se le realizó un estudio tomográfico cerebral, el cual mostró una imagen hipodensa que captaba contraste con edema periférico en la región parietal izquierda, probable glioma de bajo grado (fig. 1A,B). Se recomendó tratamiento con manitol, fenitoína, dexametasona y fue dado de alta para estudio por consultorio externo (03/09/17), y no regresó a consulta externa. El día 18 de septiembre de 2017 ingresa a emergencia con náuseas y cefalea y pide su alta voluntaria, sin ningún estudio adicional. El día de su hospitalización (21/09/17) en la unidad de cuidados intensivos (UCI), al examen físico se le encontró un Glasgow 14/15, con un control tomográfico que mostraba mayor compromiso (fig. 1C,D). A pesar de la sintomatología, el paciente solicita su alta voluntaria (23/09/17).

Reingresó por emergencia (30/09/17) porque presentó cefalea, vómitos y disminución de la fuerza muscular. Se le realizó una resonancia magnética cerebral (RMC), encontrándose tres lesiones expansivas intracraneales en ambos hemisferios, llegando a los diagnósticos presuntivos de múltiples procesos expansivos intracraneales sospechosos de metástasis versus tuberculosis cerebral. En los siguientes seis días presentó un aumento de cefalea, con tendencia al sueño, y asimetría facial. A la evaluación del paciente lo encontramos con compromiso del estado neurológico, somnoliento y funciones vitales conservadas; al examen preferencial de piel se encontró en cara anterior lateral externa del tercio medio del muslo una placa eritematoviolácea, de 18 × 12 cm, con bordes poco definidos, consistencia semidura, infiltrada (fig. 1E). Se le realizó una ecografía de partes

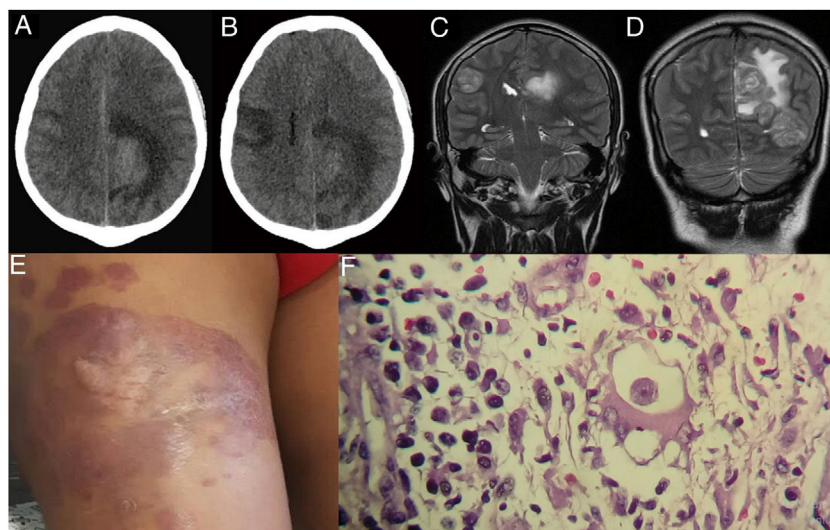


Figura 1 A) Tomografía cerebral con contraste. B) 24 días antes de su hospitalización (control a los 21 días). C y D) Resonancia magnética cerebral, tres lesiones expansivas intracraneales en ambos hemisferios. E) Se observa una placa eritematoviolácea en el muslo derecho del paciente. F) Biopsia de lesión cutánea: trofozoito de *Balamuthia mandrillaris* (100 ×).

blandas, la cual reveló lesiones dérmicas, la mayor con un espesor de 39 mm y un tamaño de 22 × 41 mm que contacta con plano muscular, y otra de menor tamaño, con un espesor aproximadamente de 5 mm limitados al tejido celular subcutáneo. Por otro lado, el estudio de líquido cefalorraquídeo (LCR) no mostró alteraciones significativas.

Se tomó una biopsia de la lesión cutánea (27/09/17), donde se evidenció por estudios histopatológicos un infiltrado inflamatorio nodular difuso de la dermis superficial y profunda, con predominio de células mononucleares que formaban áreas nodulares. Además, se observaron células gigantes multinucleadas, células plasmáticas y una estructura unicelular, morfológicamente compatible con trofozoito de amebas de vida libre (fig. 1F). Una porción de la biopsia fue enviada al laboratorio LPEP del Instituto de Medicina Tropical (IMT) Alexander von Humboldt en Lima para ser analizada por biología molecular, realizándose PCR, secuenciación y filogenia, donde se obtuvo un producto de amplificación de 1.075 pb. Los cebadores empleados fueron: 5' Balspec 16s (5-CGCATGTATGAAGAAGACCA-3) y 3' Balspec 16s (5-TTACCTATATAATTGTCGATACCA-3). Con el producto de la PCR se realizó la búsqueda de secuencias homólogas depositadas en Genbank mediante la herramienta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). El análisis de alineación fue con CLUSTALW y el árbol filogenético se construyó con el programa *Molecular Evolution Genetic Analysis software* (MEGA7) (<http://megasoftware.net>), empleado el método *neighbor-joining* con el modelo de 3 parámetros de Tamura y con 1.000 *bootstraps* de repeticiones (fig. 2).

Se le inició tratamiento múltiple con anfotericina B 50 mg cada 24 h, fluconazol 400 mg cada 24 h, albendazol 600 mg cada 12 h, doxiciclina 100 g cada 12 h, rifampicina 600 mg cada 24 h, etambutol 1.200 mg cada 24 h y meropenem 1 g cada 24 h, con mala respuesta al tratamiento en general; 17 días después del segundo ingreso se agrega a la terapia miltefosina 50 mg cada 8 h; a pesar de ello, el compromiso neurológico del paciente se exacerbó, entrando en coma

profundo y muerte cerebral el 10/10/17. La familia se negó a la necropsia.

El presente caso clínico es de un residente del distrito y provincia de Camaná del departamento de Arequipa (16°37'24"S 72°42'33"O), al sur del departamento de Lima. Esta se ubica a 3 h de la ciudad de Arequipa, aproximadamente a 180 km de distancia, y se encuentra a 15 msnm. Su temperatura ambiental va de 17 °C en agosto a 23 °C en febrero. Las características climatológicas y geográficas no difieren significativamente de otras zonas costeras de Perú.

Algunas especies de amebas de vida libre son causantes de enfermedades en humanos. Las especies causantes de patologías en humanos son de distribución mundial, sin embargo, poseen baja frecuencia de infección, aunque se informa una letalidad del 98%.

Se han descrito más de 200 casos clínicos por *B. mandrillaris* a nivel mundial. Recientemente el CDC ha informado la serie completa, con 109 casos descritos desde 1974 a 2016⁵. En Sudamérica también se describen casos por *B. mandrillaris*³. El 75,6% de los casos a nivel mundial se encuentran ubicados en el continente americano^{3,4}. Más de 55 casos se han registrado en la costa de Perú.

La infección se presenta en pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos. La puerta de ingreso de esta ameba aún no está muy clara, sin embargo, se sabe que puede ingresar por vía cutánea y por la cavidad nasal, diseminándose por vía hematogena¹¹. Se desconoce el tiempo de incubación, pero es posible suponer que es suficientemente largo, entre un mes y dos años, ya que la tasa de duplicación celular de *B. mandrillaris* es de 34 a 52 h en medio de cultivo axénico¹².

En Perú, la ubicación anatómica más frecuente de las lesiones cutáneas es la centrofacial y en segundo lugar la rodilla, aunque se han informado esporádicamente otras partes del cuerpo. La enfermedad es más frecuente en el sexo masculino en una proporción de 2,5:1¹⁴. Este caso, así como los anteriores, se presenta solo en la costa peruana⁴. El presente caso constituye el primer informe clínico de

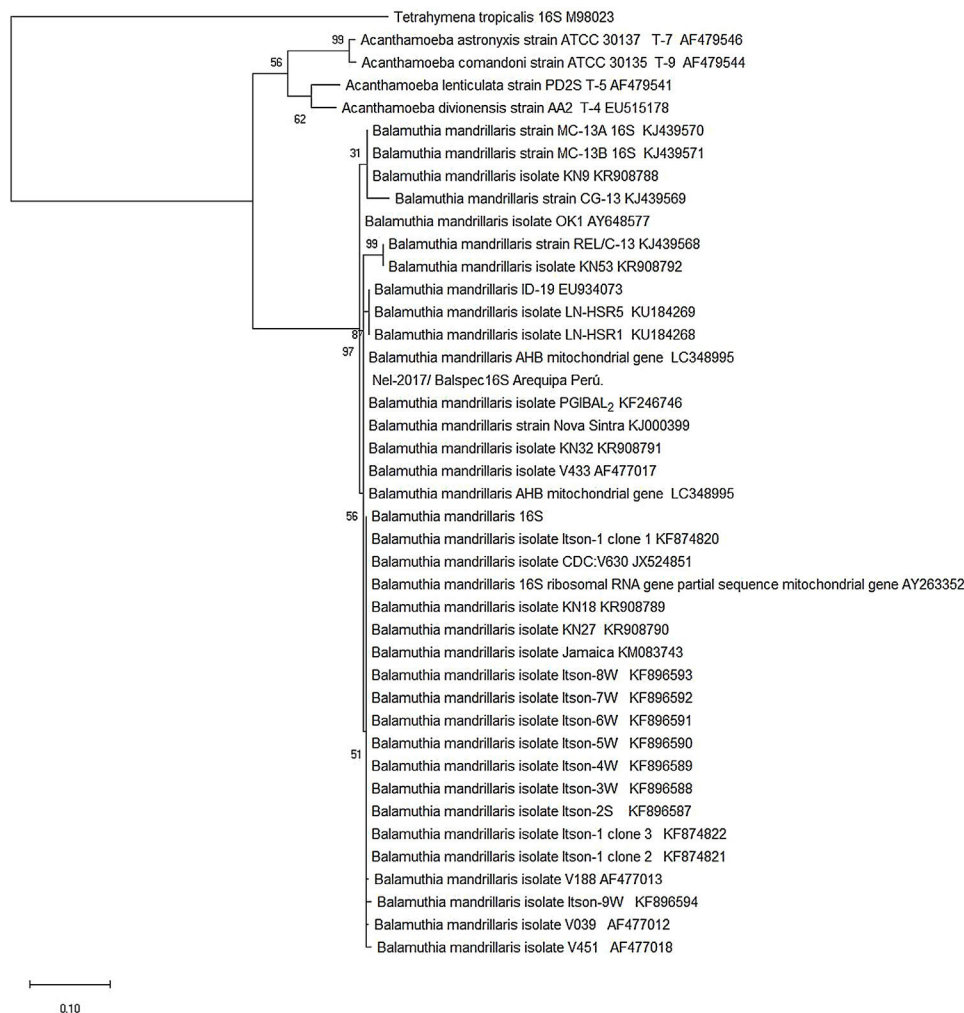


Figura 2 Árbol filogenético. *Amplificación y secuenciación de la cepa *Balamuthia mandrillaris* (Nel-2017/AMCV-19). El algoritmo utilizado para construir el árbol filogenético fue el *neighbor-joining* con el modelo Tamura 3-parámetros y los valores de *bootstraps* (1.000 réplicas). El producto de la PCR de ADN mitocondrial del gen 16S rRNA (*mitochondrial 16S rRNA gene DNA*) es de 1.075 pb. GenBank: MN176994 (la barra horizontal = 0,10 sustituciones por posición de nucleótidos).

B. mandrillaris de la provincia de Arequipa (al sur del departamento de Lima), evidenciado por un cuadro clínico-patológico y biología molecular. Posiblemente existan más casos en el sur del país, como Moquegua y Tacna.

Cabello-Vilchez et al.² han aislado *B. mandrillaris* del suelo de la costa de Piura y Lima. Es necesario el análisis molecular para establecer la etiología de esta enfermedad. Con respecto a nuestro caso, se construyó un árbol filogenético utilizando el programa MEGA 7.0 (fig. 2). Los resultados fueron inferidos por el método *neighbor-joining*, el cual permitió establecer que existe muy poca variación genética entre las cepas de *B. mandrillaris* del Perú y el resto del mundo. La secuencia de la cepa Nel-2017/AMCV-19 informada aquí permite ampliar el conocimiento de la diversidad genética de *B. mandrillaris*. El presente trabajo describe el primer caso clínico en Arequipa, Perú, y se depositó la secuencia del ADN mitocondrial del gen 16S rRNA (*mitochondrial 16S rRNA gene DNA*) en el banco de genes, identificado este con el número de acceso GenBank MN176994.

En nuestro caso clínico, pasaron 3 meses desde el inicio de la lesión cutánea hasta el compromiso neurológico. Las manifestaciones clínicas con compromiso neurológico producidas por las amebas de vida libre suelen ser inespecíficas, como cambios de personalidad y comportamiento, hemiparesia, afasia, fiebre, convulsiones, fotofobia, pérdida de la visión, rigidez nuchal y aumento de la presión intracraneana (cefalea, náuseas, vómitos, disminución de la conciencia). Esta presentación clínica es frecuentemente confundida con encefalitis viral, bacteriana o tumor cerebral¹⁰.

Las lesiones cutáneas poseen algunas características importantes que deben tenerse en cuenta; por ejemplo, comienzan con un nódulo o placas, algunas veces solas y en otras ocasiones con lesiones satélite; los bordes a veces parecen anulares, con diámetro muy variable, ligeramente rojos a violáceos, de superficie lisa o rugosa¹¹.

Nuestro paciente inició su cuadro con un síndrome convulsivo. Su primer diagnóstico presuntivo fue glioma de bajo grado y posteriormente metástasis cerebral múltiple.

El estudio histopatológico de las lesiones cutáneas y/o cerebrales permitió detectar trofozoítos y quistes, pero no diferenciar entre *Acanthamoeba* o *B. mandrillaris*. Además, es difícil distinguirlos de los macrófagos en algunos casos, y en el estudio de piel se observan granulomas rodeados de infiltrados ricos en linfocitos y células plasmáticas, con células gigantes multinucleadas dentro o fuera de los granulomas. Por ello es fundamental el análisis molecular para establecer el agente causal. Las muestras más representativas para el análisis molecular podrían ser el LCR, el suero y la biopsia cerebral o cutánea. A partir de la identificación molecular podremos establecer esquemas de tratamiento oportuno y efectivo para los pacientes.

Desafortunadamente no existe una prueba de laboratorio clínico que permita establecer infecciones por amebas de vida libre, excepto el análisis directo del LCR (cuando hay la sospecha clínica), en el cual se encuentra pleocitosis linfocítica, proteínas aumentadas y glucosa de normal a baja, y en algunos casos es posible observar *Naegleria fowleri* y *Acanthamoeba* sp., pero muy rara vez *B. mandrillaris*. Además de los estudios histopatológicos, en la tomografía y la resonancia magnética se pudieron observar las lesiones cerebrales, muchas veces compatibles con lesiones granulomatosas¹⁴.

No existe un tratamiento efectivo para los casos por *B. mandrillaris*. Sin embargo, se han empleado algunos esquemas terapéuticos con resultados satisfactorios: pentamidina (i.v., 4 mg/kg/día); sulfadiazina (oral, 200 mg/kg/día); flucitosina (oral; 150 mg/kg/día repartidos en 4 tomas cada 6 h); fluconazol (oral o i.v., 12 mg hasta 400 mg/kg/día), azitromicina (oral, 20 mg/kg/día), claritromicina (oral, 14 mg/kg/día); miltefosina (oral; 150 mg por día durante 12 días, seguidos de 100 mg por día durante 7 meses; en casos pediátricos la dosis de miltefosina será de 2,5 a 100 mg/kg/día. En Estados Unidos han empleado pentamidina, 5-flucitosina, fluconazol y un macrólido (claritromicina o azitromicina) además de cualquiera de los siguientes: sulfadiazina, miltefosina, tioridazina o anfotericina B liposomal^{7,9}.

En Perú, siete pacientes de doce con y sin compromiso neurológico han sobrevivido a esquemas de tratamiento combinado con fluconazol o itraconazol más albendazol y miltefosina. Cuatro pacientes tuvieron lesiones cerebrales en el momento de la presentación clínica, pero solo tres con lesión cutánea (Dalila Y. Martínez, comunicación personal, 2019).

La presencia de lesiones cutáneas centofaciales o extrafaciales que no tienen una clara etiología, casos que desarrollan sinusitis, úlceras necrosantes que no han sido tratadas y que no curan por meses, deben ser estudiados con mayor cuidado e incluir en sus diagnósticos el descarte de amebas de vida libre. Posterior a la lesión cutánea aparecerán las lesiones neurológicas, las cuales son un signo de mal pronóstico.

Es urgente establecer esquemas terapéuticos eficaces frente a esta entidad clínica que es de difícil diagnóstico y alta letalidad.

Financiación

La presente investigación no ha recibido ninguna beca específica de agencias de los sectores público, comercial o sin ánimo de lucro.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a Blga. M. Isabel Ruíz Ruíz por el apoyo en la obtención de la secuencia consenso de la cepa de *Balamuthia mandrillaris*.

El autor AMCV: deseo expresar mi agradecimiento a mi familia, mi hija Belén y mi esposa Veronika por su paciencia y comprensión.

Esta investigación clínica está dedicada a la memoria de nuestro amigo, compañero y coautor: Dr. Ferdinand de Amat.

Bibliografía

- Bravo F, Gotuzzo E. Cutaneous manifestations of infection by free living amoebas. En: Tying SK, Lupi O, Hengge UR, editores. Tropical Dermatology. 2nd edition Elsevier; 2017. p. 50–5.
- Cabello-Vilchez A, Reyes-Batlle M, Montalbán-Sandoval E, Martín-Navarro CM, López-Arencibia A, Elías-Letts R, Guerra H, Gotuzzo E, Martínez-Carretero E, Piñero JE, Maciver SK, Valladares B, Lorenzo-Morales J. The isolation of *Balamuthia mandrillaris* from environmental sources from Peru. Parasitol Res. 2014;113:2509–11.
- Cabello-Vilchez A, Rodríguez-Zaragoza S, Piñero J, Valladares B, Lorenzo-Morales J. *Balamuthia mandrillaris* in South America: An emerging potential hidden pathogen in Perú. Exp Parasitol. 2014;145:S10–9.
- Cabello-Vilchez A. *Balamuthia mandrillaris* en el Perú, lesiones cutáneas, meningoencefalitis y métodos de cultivo. Infectio. 2016;20:107–19, <https://www.sciencedirect.com/journal/infectio>.
- Cope JR, Landa J, Nethercut H, Collier SA, Glaser C, Moser M, Puttagunta R, Yoder JS, Ali IK, Roy SL. The epidemiology and clinical features of *Balamuthia mandrillaris* disease in the United States, 1974–2016. Clin Infect Dis. 2019;68:1815–22.
- Culbertson CG, Smith JW, Minner JR. *Acanthamoeba*: Observations on animal pathogenicity. Science. 1958;127:1506.
- Doyle JS, Campbell E, Fuller A, Spelman DW, Cameron R, Malham G, Gin D, Lewin SR. *Balamuthia mandrillaris* brain abscess successfully treated with complete surgical excision and prolonged combination antimicrobial therapy. J Neurosurg. 2011;114:458–62.
- Hara T, Yagita K, Sugita Y. Pathogenic free-living amoebic encephalitis in Japan. Neuropathology. 2019;39:251–8.
- Martínez DY, Seas C, Bravo F, Legua P, Ramos C, Cabello AM, Gotuzzo E. Successful treatment of *Balamuthia mandrillaris* amoebic infection with extensive neurological and cutaneous involvement. Clin Infect Dis. 2010;51:e7–11, <https://academic.oup.com/cid>.

10. Orrego-Puelles E, Casavilca S, Rodríguez FJ, Pritt BS, Castillo M, Castañeda CA. Amebiasis of the central nervous system: Report of six cases in Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2015;32:591–7.
11. Recavarren-Arce S, Velarde C, Gotuzzo E, Cabrera J. Amoeba angeitic lesions of the central nervous system in *Balamuthia mandrillaris* amoebiasis. *Hum Pathol*. 1999;30:269–73.
12. Schuster FL, Visvesvara GS. Axenic growth and drug sensitivity studies of *Balamuthia mandrillaris*, an agent of amebic meningoencephalitis in humans and other animals. *J Clin Microbiol*. 1996;34:385–8.
13. Schuster FL, Yagi S, Gavalí S, Michelson D, Raghavan R, Blomquist I, Glastonbury C, Bollen AW, Scharnhorst D, Reed SL, Kuriyama S, Visvesvara GS, Glaser CA. Under the radar: *Balamuthia* amebic encephalitis. *Clin Infect Dis*. 2009;48:879–87.
14. Seas MD, Bravo MD. Free-living amebas and Prototheca. Post TW, ed. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc. [consultado 10 Abr 2020]. Disponible en: <https://www.uptodate.com>.
15. Yamanouchi K, Arima H, Sakamoto Y, Kanto K, Kasai K, Ito K, Inaba T. First report of the isolation of *Balamuthia mandrillaris* in the northern region of Japan. *Parasitol Res*. 2018;117:2895–900.