

## Queratitis por *Acanthamoeba*

Julio Pérez-Irezábal<sup>a</sup>, Inés Martínez<sup>a</sup>, Patricia Isasa<sup>b</sup> y Jorge Barrón<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Microbiología y Parasitología. Hospital de Cruces. Baracaldo. Vizcaya. España. <sup>b</sup>Servicio de Oftalmología. Hospital de Cruces. Baracaldo. Vizcaya. España.

Las amebas de vida libre pertenecientes a los géneros *Acanthamoeba*, *Naegleria* y *Balamuthia* son protozoos ubicuos en la naturaleza. Pueden aislarse de la tierra, el aire y el agua de los 5 continentes y, por ello, son múltiples las oportunidades de entrar en contacto con hombres y animales, pero sólo en una pequeña proporción de los casos producirán daño. *Acanthamoeba* son los agentes etiológicos de la grave y a menudo fatal, pero infrecuente, meningoencefalitis granulomatosa (amebiana) y de la dolorosa queratitis amebiana, generalmente de evolución crónica, debido a la demora en el diagnóstico y el ulterior tratamiento. Los casos de queratitis amebiana han aumentado claramente a partir de mediados de los años ochenta, lo que se ha relacionado con el incremento de los portadores de lentes de contacto y de su inadecuada desinfección, así como de las actividades al aire libre, fundamentalmente baños en aguas tranquilas sin quitarse las lentillas. La incidencia actual se calcula en un episodio por cada 30.000 portadores de lentes de contacto y año, la mayoría (88%) en usuarios de lentes blandas. Se pasa revista a algunos aspectos destacables de la morfología, el ciclo biológico y la epidemiología de *Acanthamoeba*, así como del diagnóstico microbiológico (cultivos), los antiamebianos actualmente disponibles para su correcto tratamiento y las medidas que se deben tomar para su prevención.

**Palabras clave:** *Acanthamoeba*. Amebas de vida libre. Queratitis. Lentes de contacto. Diagnóstico. Tratamiento.

Keratitis due to *Acanthamoeba*

Free-living amoebae appertaining to the genus *Acanthamoeba*, *Naegleria* and *Balamuthia* are the most prevalent protozoa found in the environment. These amoebae have a cosmopolitan distribution in soil, air and water, providing multiple opportunities for contacts with humans and animals, although they only occasionally cause disease. *Acanthamoeba* spp. are the causative agent of granulomatous amebic encephalitis, a rare and often fatal disease of the central nervous system, and amebic

keratitis, a painful disease of the eyes. Keratitis usually follows a chronic course due to the delay in diagnosis and subsequent treatment. The clear increase in *Acanthamoeba* keratitis in the last 20 years is related to the use and deficient maintenance of contact lenses, and to swimming while wearing them. The expected incidence is one case per 30,000 contact lens wearers per year, with 88% of cases occurring in persons wearing hydrogel lenses. This review presents information on the morphology, life-cycle and epidemiology of *Acanthamoeba*, as well as on diagnostic procedures (culture), appropriate antimicrobial therapy, and prevention measures.

**Key words:** *Acanthamoeba* spp. Free-living amoebae. *Acanthamoeba* keratitis. Contact lenses. Diagnosis. Treatment.

### Introducción

Algunas amebas de vida libre (AVL) de los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba* y *Balamuthia*, pertenecientes a la familia *Acanthamoebidae*<sup>1,2</sup>, se han identificado como agentes infecciosos en humanos y animales. Sólo una especie de *Naegleria*, *N. fowleri*, algunas de *Acanthamoeba* (*A. castellani*, *A. culbertsoni*, *A. hatchetti*, *A. healyi*, *A. polyphaga*, *A. rhysodes*, *A. astronyxis*, *A. divionensis*) y la única especie conocida de *Balamuthia*, *B. mandrillaris*, se sabe que causan enfermedades<sup>3-16</sup>. Estas amebas se encuentran ampliamente distribuidas en el agua y el suelo de los 5 continentes. La tierra húmeda y las aguas con abundante sustrato son un buen caldo de cultivo para su persistencia y su multiplicación. Se han aislado tanto en aguas dulces como saladas, y contaminan sistemas y dispositivos (conducciones de agua, de calefacción, aire acondicionado, etc.) y, secundariamente, objetos y enseres comunes de nuestro entorno, por lo que son múltiples las ocasiones de entrar en contacto con estos pequeños protozoarios, que pueden ser causa de diversas afecciones<sup>4,5,8,10,13,17-25</sup>.

*Naegleria fowleri* es el agente etiológico de la grave, y a menudo fatal, meningoencefalitis amebiana primaria de evolución sobrealaguda (< 10 días)<sup>4,6,7,10,16,18</sup>, *Acanthamoeba* y *Balamuthia*, de la meningoencefalitis granulomatosa amebiana de curso subagudo o crónico, así como de granulomas en la piel y en otros órganos y tejidos, y de queratitis<sup>4,5,8,10,14,15,19</sup> (recientemente se ha descrito un nuevo caso de meningoencefalitis amebiana originado por *Sappinia diploidea*)<sup>11</sup>. Muchas de estas infecciones son oportu-

Correspondencia: Dr. J. Pérez-Irezábal.  
Servicio de Microbiología y Parasitología. Hospital de Cruces.  
Plaza de Cruces, s/n. 48903 Baracaldo. Vizcaya. España.  
Correo electrónico: jperez-irezabal@hcr.u.osakidetza.net

nistas y ocurren sólo en huéspedes inmunodeprimidos (meningoencefalitis por *Acanthamoeba* y *Balamuthia*, acantamebiasis cutánea), pero en otros casos no es así, puesto que la queratitis por *Acanthamoeba*, la meningoencefalitis por *Naegleria* y algún caso de meningoencefalitis por *Balamuthia* pueden producirse en personas sanas (inmunocompetentes)<sup>5-17</sup>.

Por otro lado, se ha comprobado que las AVL interactúan con distintas especies bacterianas en el medio. *Acanthamoeba* ha sido identificada como depredadora de bacterias: enterobacterias, pseudomonas, vibrios, etc. En otros casos, las bacterias utilizan a la ameba como hospedador y también como "refugio" en presencia de factores hostiles; igualmente, en condiciones favorables de temperatura, osmolaridad y pH, pueden multiplicarse e inducir la lisis de aquéllas, caso de *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Escherichia coli* O-157, etc., con las consecuencias que este hecho puede tener para la propagación de estos patógenos al hombre<sup>26-29</sup>.

El ciclo biológico de *Naegleria* consta de 3 estadios: quiste, trofozoito y forma flagelada. Los otros 2 géneros carecen de forma flagelada<sup>10,30-32</sup>. Los trofozoitos de *Naegleria* atraviesan el epitelio neuroolfatorio, con lo que alcanzan el sistema nervioso central (SNC), y pueden encontrarse en el líquido cefalorraquídeo (LCR)<sup>5,10,33</sup>. Los de *Acanthamoeba* pasan a través de pequeñas escoriaciones de la piel o de úlceras mucosas del tracto respiratorio y, posteriormente, por vía hematogena llegan a diversos órganos y tejidos del cuerpo, con un claro tropismo por la piel y el SNC, donde pueden multiplicarse activamente y originar una meningoencefalitis muy grave, por la frecuente demora en el diagnóstico (es muy infrecuente el hallazgo de trofozoitos en el LCR)<sup>5,10,12,18,19,32,33</sup>.

El diagnóstico de estas infecciones del SNC es complicado y se sustenta, fundamentalmente, en el examen directo y en los cultivos del LCR y de biopsia cerebral. Las técnicas de detección antigénica por hibridación con sondas o PCR y la inmunofluorescencia directa (IFD) con anticuerpos monoespecíficos o genoespecíficos marcados están al alcance de muy pocos laboratorios (en centros de investigación o muy especializados). El tratamiento también es problemático, puesto que no está estandarizado y, además, algunos de los antiamebianos de primera elección no se han comercializado en España<sup>18,19,32,33</sup>.

## Biología y epidemiología

El género *Acanthamoeba* comprende protozoos ubicuos de vida libre que se encuentran en el aire, el suelo, las aguas, dulces o saladas, residuales, e incluso en el agua del grifo o embotellada, las unidades de diálisis, el material odontológico, etc.<sup>19-25</sup>. También se encuentran como contaminantes de cultivos bacterianos o celulares y se han aislado de las vías respiratorias altas de humanos sanos, de lesiones de la piel en inmunodeprimidos y de tejido corneal en pacientes con queratitis amebiana<sup>21-25,32-36</sup>. Su ciclo biológico consta de 2 estadios: una forma activa, con capacidad infecciosa y reproductora, que es el trofozoito, y la forma latente, que es el quiste. El trofozoito se alimenta de bacterias, algas, levaduras y partículas orgánicas ambientales por medio de la emisión de pseudópodos y su

posterior fagocitosis (en la córnea se piensa que se alimentan de queratocitos). La locomoción la realizan gracias a los acantopodios y se reproducen por fisión binaria. La formación del quiste ocurre en condiciones ambientales adversas, como la falta de alimento, desecación o cambios en la temperatura y pH. En estas condiciones, el microorganismo reduce drásticamente su actividad metabólica y así es capaz de sobrevivir a la acción de desinfectantes, antibióticos, cloración y bajas temperaturas, incluso de congelación, y puede permanecer viable varios años a  $-20^{\circ}\text{C}$ . En condiciones ambientales apropiadas, los quistes se transforman en trofozoitos, que sintetizan enzimas que favorecen la penetración y destrucción tisular<sup>10,18-20,30,31,37-39</sup>.

Aunque el uso de lentes de contacto es el factor predisponente con más frecuencia asociado a la queratitis por *Acanthamoeba*, la incidencia de esta enfermedad entre los portadores de estas lentes sigue siendo muy baja (1 caso por cada 30.000 portadores y año)<sup>14</sup> lo que indica que este microorganismo es, relativamente, poco virulento, que existe inmunidad innata en el huésped y que el epitelio corneal ofrece una barrera frente a la penetración de las amebas en el estroma y el desarrollo consiguiente de queratitis<sup>30,31,37-39</sup>. En los pacientes con antecedentes de traumatismo, las amebas pueden llegar directamente al estroma y, en portadores de lentes de contacto, dicho acceso se facilita por microtraumatismos repetidos, aunque se ha visto que *A. castellanii* atraviesa el epitelio intacto de la córnea<sup>40</sup>. No están bien caracterizados los mecanismos del sistema inmunitario que operan contra *Acanthamoeba*. En estudios experimentales con animales se ha visto que los neutrófilos y macrófagos suponen la mayor respuesta inflamatoria celular en el área de la infección. Parece que los macrófagos conjuntivales tienen un papel muy importante en la eliminación de los trofozoitos, ya que su desaparición aumenta la incidencia de la infección, agrava la enfermedad y determina que la queratitis se inicie más temprano y tenga un curso más prolongado. El primer caso de queratitis por *Acanthamoeba* se describió en 1974<sup>41</sup>, y hasta 1984 se mantuvo como una enfermedad muy poco frecuente, en la mayoría de casos asociada a traumatismos de la córnea y a la exposición a aguas contaminadas. A mediados de los ochenta, aumentó de forma espectacular el número de casos y se atribuyó al incremento del uso de lentes de contacto y a su incorrecta desinfección<sup>42-47</sup>.

Entre los factores predisponentes destacan los traumatismos corneales, el contacto con cuerpos extraños o la exposición al agua templada (p. ej., de una bañera o piscina), pero el factor de riesgo más importante es el uso de lentes de contacto, no desinfectarlas apropiadamente o con la frecuencia recomendada y su utilización durante la práctica de la natación<sup>44-51</sup>.

## Manifestaciones clínicas

La queratitis amebiana es la manifestación clínica más habitual de la infestación por el género *Acanthamoeba*. Se caracteriza por ser dolorosa e invalidante. La infección progresa originando una ulceración de la córnea y puede dar como resultado ceguera en casos muy graves. Es una enfermedad difícil de diagnosticar y tratar, ya que las manifestaciones clínicas se confunden a menudo con las de

las queratitis herpética, fúngica o micobacteriana, lo que provoca que el diagnóstico correcto y el comienzo del tratamiento se retrasen semanas o meses<sup>42-45,52-54</sup>.

El cuadro clínico varía según el momento de la primera consulta. Al principio, las amebas se encuentran en el epitelio corneal, pero si la enfermedad progresa se produce la invasión del estroma. En sus inicios, se caracteriza por limbitis, queratopatía punteada, infiltrados epiteliales, subepiteliales o perineurales (queratoneuritis radial). En este momento el paciente presenta enrojecimiento, lagrimeo, fotofobia y dolor de diversa intensidad, pero desproporcionado respecto a los signos oculares, así como visión borrosa<sup>48-51</sup>. Si la enfermedad progresa, puede observarse ulceración, infiltrados anulares, placas endoteliales y uveítis anterior, con o sin hipopión (presencia de pus en la cámara anterior del ojo), y con menos frecuencia, edema corneal. Si el proceso se agrava, se pueden producir abscesos, escleritis, glaucoma, catarata e infección microbiana secundaria. Lo más característico es la presencia de un infiltrado anular compuesto por células inflamatorias (neutrófilos). Los pacientes que sufren esta infección son generalmente inmunocompetentes; no obstante, no desarrollan inmunidad protectora apreciable, por lo que es posible la reinfección<sup>50-58</sup>.

## Diagnóstico

### Obtención de la muestra y envío al laboratorio

Ante una sospecha de queratitis por *Acanthamoeba*, o simplemente para descartarla en presencia de datos oftalmológicos y epidemiología sugestiva (tratamientos convencionales fallidos, antecedente de traumatismo ocular o portador de lentes de contacto), el oftalmólogo solicitará, al laboratorio de Microbiología, el envío de un recipiente idóneo para el transporte y la conservación de la muestra. Un tubo o frasco estéril de boca ancha (los contenedores de orina de 50-100 ml son apropiados) con 1 ml de solución de Page (anexo 1), previamente atemperada en estufa de cultivos durante 20 min, es válido para depositar las pequeñas virutas corneales recogidas asépticamente mediante microespatula oftálmica o similar, y también es adecuado para descartar queratitis de otra etiología, bacteriana o viral, puesto que el fin primordial es evitar la desecación de la muestra. El recipiente se mantendrá a temperatura ambiente hasta su transporte al laboratorio, aunque también es posible hacerlo sin solución conservante si se asegura un rápido procesamiento (aviso de su envío al laboratorio y de qué muestra se trata).

### Cultivo de la muestra

Una vez que la muestra del raspado corneal llega al laboratorio, se procederá como sigue:

– Sacar de la nevera (4-8 °C) un frasco con solución de Page (SP) y atemperar; caso de almacenar esta solución concentrada (10x, 50x), se diluye con agua bidestilada estéril hasta 1x (solución de uso).

– Sacar de la nevera y atemperar una placa de Petri con medio de Page (MP, con base de agar no nutritivo) o un tubo con el mismo medio (solidificado en posición inclinada). El cultivo en placa es quizás algo más sensible y de-

tecta antes el crecimiento de *Acanthamoeba*, pero tiene el inconveniente de desecarse antes que el cultivo en tubo y por ello, necesita hidrataciones (con SP) y resiembras de *E. coli* más frecuentes (cada 1-2 días); por todo ello, la mejor opción es utilizar ambos.

– Disponer, en un tubo estéril, 1 ml de la SP y emulsionar finamente 1-2 colonias de un cultivo de *E. coli* (o *Enterobacter aerogenes*), hasta obtener una turbidez homogénea. Conviene utilizar un cultivo reciente (18-24 h) bien identificado o una cepa de colección.

– Mediante una varilla de vidrio (u otro material estéril), fragmentar las virutas corneales en el frasco de recogida o, previo paso de éstas a otro recipiente más idóneo, con 0,5-1 ml de SP, dependiendo de la cantidad de muestra, que normalmente es escasa y debe inocularse también en medios ordinarios para bacterias.

– Inocular la placa de Petri (con medio de Page), con 0,2 ml de la solución de *E. coli* y con asa bacteriológica extender por toda la placa o por el medio inclinado, en caso de utilizar el tubo. Posteriormente, y con una pipeta tipo Pasteur, añadir un par de gotas de la solución con la muestra (virutas corneales disgregadas en SP) en el centro de la placa o dejando resbalar por el plano inclinado en el tubo. Esperar un tiempo para que se absorba y cerrar la placa con tira adhesiva porosa y el tubo con la tapa rosca floja para permitir una buena aireación. Luego, incubar ambos en estufa de 30 °C (fig. 1).

Si queda muestra, se puede realizar un examen directo en el microscopio óptico, utilizando objetivo seco de bajo aumento ( $\times 10-20$ ), y/o conservarla en nevera a 4-8 °C para estudios ulteriores, dependiendo de los resultados obtenidos en los cultivos previos. También es útil la tinción con fluorocromos (blanco de calcofluor o naranja de acridina) y el examen en microscopio de epifluorescencia, pues aumenta la sensibilidad del estudio.

Si, además de la muestra corneal, se dispone de las lentes de contacto se depositarán directamente en la placa o el tubo con MP previamente inoculados con SP más *E. coli* y si lo remitido es el medio de conservación, se realizará una centrifugación suave (200-300  $\times g$ ) y posteriormente se llevará a cabo un examen directo y un cultivo del sedimento en MP, o mejor aún, se filtrará el líquido (dispositivos estériles de acetato o nitrocelulosa con 20-22  $\mu m$  de poro) y se cultivará el filtro. En ambos casos (lentes de contacto y líquido de conservación), se aconseja la siembra en tubo inclinado, en cambio para el filtro es más rentable la siembra en placa<sup>18,33,48,59-63</sup>.

### Examen de los cultivos e identificación de *Acanthamoeba*

Los cultivos se deben examinar cada 24-48 h al principio (durante los primeros 7-8 días) y después cada semana, hasta un mínimo de 4-6 semanas porque, a veces, los quistes tardan en transformarse en trofozoítos y multiplicarse hasta alcanzar un número suficiente para ser detectados. Se debe examinar la placa en un microscopio óptico con objetivo seco de bajo aumento ( $\times 10-20$ ); en el caso del tubo, previa agitación, se toma una pequeña cantidad de la fase líquida (25-50  $\mu l$ ) con una pipeta estéril, se deposita en un portaobjetos y se observa igualmente con objetivo seco. En caso de positividad, se aprecian los trofozoítos o quistes de morfología característica<sup>5,19,33,42,48,59,60</sup>.

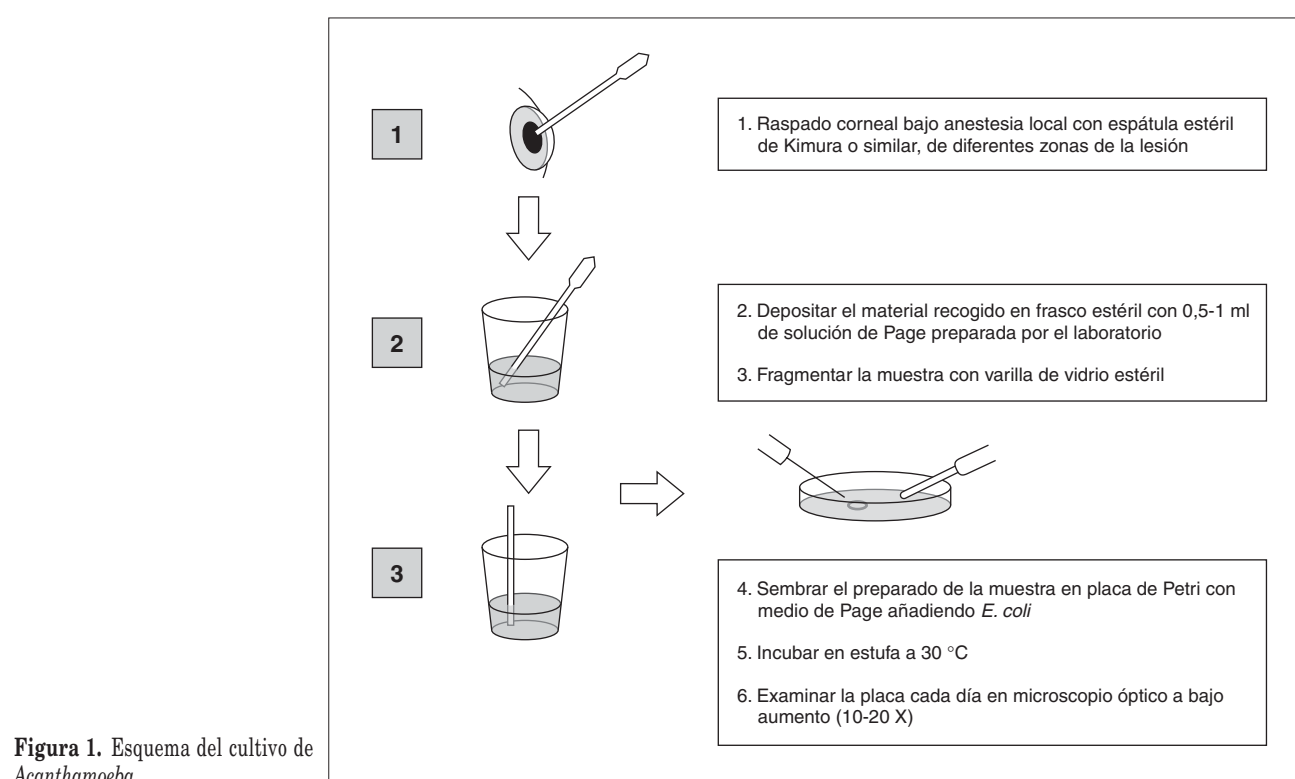


Figura 1. Esquema del cultivo de *Acanthamoeba*.

Los trofozoítos demuestran un movimiento lento típicamente ameboide, por contracciones y relajaciones del citoplasma, tienen un tamaño variable, de entre 15 y 45  $\mu\text{m}$ , son tenues (hialinos), generalmente mononucleados y con una vacuola grande y visible, que se contrae y desaparece cada 50-90 s. Con más aumento (objetivo  $\times 40$ ) pueden observarse unas finas proyecciones citoplásmicas que parecen flagelos, pero que no lo son, que se extienden y retraen constantemente, denominadas acantopodios. Los quistes tienen un tamaño de 10-25  $\mu\text{m}$  y, de forma característica, una doble pared: una externa, irregular y gruesa (ectoquiste), y otra interna redondeada, más fina y lisa (endoquiste). Cuando persisten las condiciones adversas, la pared interna del quiste va encogiéndose y adoptando formas geométricas, irregulares o estrelladas, con frecuencia en triángulo o pentágono<sup>10,54,56,58,60,64</sup> (fig. 2).

#### Otras consideraciones

Si los cultivos son negativos a los 6-8 días, está indicado el subcultivo, sobre todo si lo han sido también los cultivos ordinarios para bacterias y hongos. Para ello, hay que tomar una porción de agar en forma de cuadrado de la placa de Petri, e introducirla en tubo con MP inclinado y previamente inoculado con *E. coli*, y con 0,3 ml de SP atemperada se debe mover de modo suave y reincubar en estufa. En caso de subcultivo a partir de un tubo, tomar 0,1 ml de la fase líquida, previamente bien agitada, e inocular un nuevo tubo con MP (con 0,3 ml de SP más *E. coli*). Se debe mantener los subcultivos un mínimo de 3 semanas antes de informarlos como negativos<sup>54,58,60,64,65</sup>.

Para obtener cultivos ricos en trofozoítos, los mejores resultados se obtienen realizando subcultivos seriados en placa de Petri previamente inoculada con *E. coli* y hume-

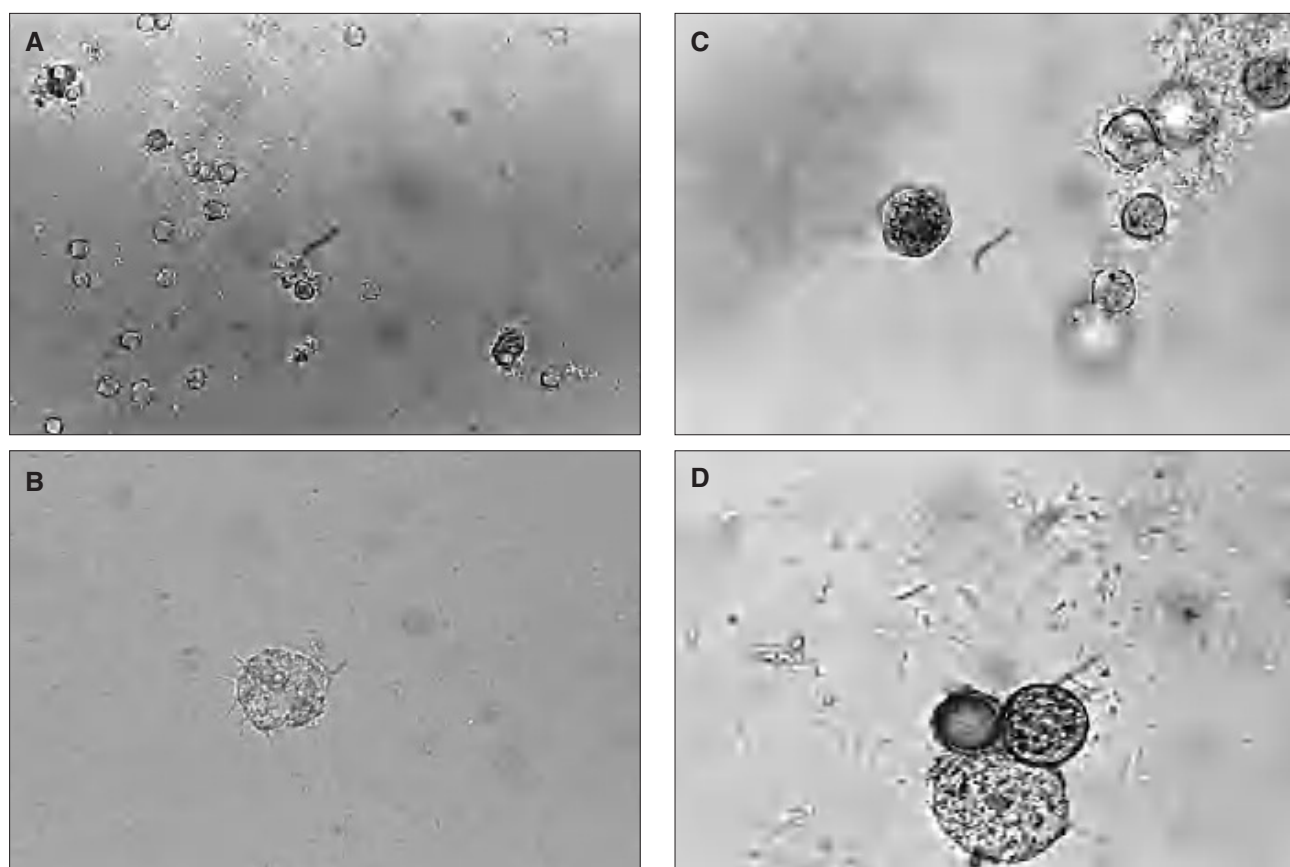
decida con SP reciente, e incubar a 30 °C. Para mantener quistes viables es conveniente realizar subcultivos cada 1-2 meses en MP en tubo con *E. coli* y en estufa a 30 °C (reversiones a formas tróficas y sucesivas enquistaciones). La resiembra en medio de Page semisólido (0,5% de agar) nos ha aportado alguna ventaja, al aumentar el tiempo necesario entre pases, debido a una menor desecación.

El medio de Page es un medio de cultivo monoxénico (con una sola especie bacteriana, que hace de nutriente), clásico y con un buen rendimiento tanto para aislamiento primario como para mantenimiento; ha demostrado un alto porcentaje de éxitos en la recuperación de diversas AVL (66%, 2 tercios de los casos en que técnicas de hibridación o PCR, más sensibles, han sido positivas), pero también se han comunicado resultados similares con la utilización de medios axénicos (sin bacterias) enriquecidos, como el BCYE (*charcoal yeast extract agar*, en solución tamponada) y medios con base de agar triptosa o agar peptona-extracto de levadura con sangre de conejo, cordeiro o caballo. Estos medios tienen la ventaja de estar comercializados (en placa, no en tubo) y por ello son una buena alternativa al MP para laboratorios con muy escasa demanda de estos estudios<sup>59,60,64-68</sup>.

#### Tratamiento

El tratamiento de la queratitis por *Acanthamoeba* es, fundamentalmente, médico. Desde la revisión de Bacon et al hace más de 10 años, se sabe que los antiamebianos más eficaces, hasta la fecha, son las diamidinas y las biguanidas, estas últimas de primera elección, solas o asociadas a diamidinas (ambas son quisticidas). Entre las diamidinas disponibles se encuentran el isetionato de pro-





**Figura 2.** Examen en fresco de cultivo de *Acanthamoeba*. A) Quistes y trofozoítos ( $\times 400$ ). B) Trofozoíto; se aprecia el núcleo, la gran vacuola contráctil y los acantopodios ( $\times 1.000$ ). C) Quistes poligonales, algunos irregulares y de diferentes tamaños ( $\times 1.000$ ). D) Quistes en diferentes grados de involución; en el pequeño se aprecia claramente la doble pared ( $\times 1.659$ ). Contraste: Lugol/Kop-color.

pamidina al 0,1% (Brolene, May and Baker, Dagenham, Reino Unido), y la hexamidina, también al 0,1% (Desomedine, Chauvin, Montpellier, Francia). Ambos preparados pueden obtenerse de estos países mediante solicitud de medicamentos extranjeros. Entre las biguanidas, las más activas son la clorhexidina (CHX, Ashton Chemicals Ltd., Aylesbury, Reino Unido) y la polihexametilenbiguanida (PHMB, Avecia HQ, Manchester, Reino Unido), ambas utilizadas en colirio al 0,02% y no disponibles comercialmente, por lo que deberán prepararse en la farmacia del hospital. La PHMB puede solicitarse al Moorfields Eye Hospital (Londres) ya que la obtención del principio activo puede resultar complicada<sup>5,14,18,45,67,69</sup>.

Por lo general, es preferible un tratamiento combinado con una diamidina y una biguanida, intensivo al principio, para lograr una rápida lisis de los trofozoítos y que el menor número posible de ellos revierta a formas quísticas, más resistentes<sup>48,51</sup>. Es aconsejable instilar una gota de ambos preparados cada hora, durante las primeras 48 h y luego una gota cada hora, sólo durante el día, en las siguientes 72 h. Posteriormente, es necesario bajar la dosis (p. ej., una gota de cada preparado cada 3 h) y adaptarla a cada paciente, puesto que es frecuente la aparición de fenómenos tóxicos, sobre todo asociados a las diamidinas a dosis altas; en este caso, es necesario suprimir la medicación durante 3 días y observar la evolución. Normalmente, la frecuencia de instilación puede reducirse a 4 veces al

día en 3-4 semanas, pero debe mantenerse al menos 8 semanas más a partir de la resolución de la inflamación; por ello, en pacientes con buena/moderada respuesta, el tiempo medio de tratamiento es de 6 meses. La PHMB es menos tóxica que las diamidinas, y la clorhexidina, aunque falta experiencia, parece igualmente poco tóxica a estas dosis<sup>14,33,42,58,60,64,69-72</sup>.

Otras alternativas por vía tópica son los aminoglucósidos (neomicina y paromomicina) y los imidazoles (miconazol y clotrimazol, ambos al 1%), aunque de menor actividad frente a los quistes. La neomicina en colirio está disponible en combinación con polimixina B y gramicidina (Oftalmowel, UCB, Barcelona, España). En cuanto al clotrimazol, se puede aplicar la pomada dermatológica al 1% (Canesten crema, Bayer), pero si no se tolera debe prepararse en farmacia un colirio a esta concentración<sup>5,67,71</sup>.

En casos de inflamación persistente, puede ser útil la aplicación tópica de corticoides a dosis bajas (metilprednisolona al 0,5%, cuatro veces al día), teniendo la precaución de mantener los antiamebianos 2-3 semanas antes, durante, y otras 6-8 semanas después de administrar los corticoides. La limbitis y escleritis persistente (sobre todo los casos muy dolorosos o necrosantes de escleritis) pueden requerir tratamiento oral con antiinflamatorios no esteroideos, o incluso en el caso de la escleritis, pueden ser necesarios corticoides a dosis altas (prednisolona 1 mg/kg/día). En estos casos, puede ser útil el itraconazol por vía oral<sup>45,48,51,69-71</sup>.

El tratamiento quirúrgico, con la excepción de la perforación corneal que requiere intervención urgente, se limita a corregir los efectos residuales que puedan quedar, cicatrices corneales o astigmatismo y se debe instaurar tras la erradicación de la infección, puesto que si se realiza una queratoplastia temprano no es infrecuente el fracaso del injerto<sup>67,70,72</sup>.

## Prevención

A partir de 1984, coincidiendo con el incremento del número de portadores de lentes de contacto, la incidencia de queratitis por *Acanthamoeba* aumentó de forma espectacular. En la actualidad, la incidencia parece haberse estabilizado, probablemente porque los factores de riesgo entre los usuarios de estas lentes se han identificado y evitado. Aun así, más del 90% de los casos que se observan podrían evitarse utilizando un sistema eficaz de desinfección, como el calor o el peróxido de hidrógeno de 2 pasos, el empleo de soluciones comerciales de suero fisiológico y la regular desinfección y limpieza del estuche de las lentes<sup>42,45,72-74</sup>.

## Bibliografía

- Page FC. Re-definition of the genus *Acanthamoeba* with descriptions of three species. *J Protozool.* 1967;14:709-24.
- Amaral Zettler LA, Nerad T, O'Kelly CJ, Peglar MT, Gillevet PM, Silberman JD, et al. A molecular reassessment of the leptomyxid amoebae. *Protist.* 2000;151:275-82.
- Culbertson CG, Smith JW, Minner JR. *Acanthamoeba*: observation on animal pathogenicity. *Science.* 1958;127:1506.
- Martinez AJ, Visvesvara GS. Free-living amphizoic and opportunistic amoebae. *Brain Pathol.* 1997;7:583-98.
- Marciano-Cabral F, Cabral G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16:273-307.
- Lozano-Alarcon F, Bradley GA, Houser BS, Visvesvara GS. Primary amebic meningoencephalitis due to *Naegleria fowleri* in South American tapir. *Vet Pathol.* 1997;34:239-3.
- Visvesvara GS, Martinez AJ, Schuster FL, Leitch GJ, Wallace SV, Sawyer TK, et al. Leptomyxid amoeba, a new agent of amebic meningoencephalitis in humans and animals. *J Clin Microbiol.* 1990;28:2750-6.
- Visvesvara GS, Schuster FL, Martinez AJ. *Balamuthia mandrillaris*, new genus, new species, agent of amebic meningoencephalitis in humans and other animals. *J Eukaryot Microbiol.* 1993;40:504-14.
- Rutherford GS. Amebic meningoencephalitis due to free-living amoeba. *S Afr Med J.* 1986;69:52-5.
- Ma P, Visvesvara GS, Martinez AJ, Theodore FH, Daggett P-M, Sawyer TK. *Naegleria* and *Acanthamoeba* infections: review. *Rev Infect Dis.* 1990;12:490-513.
- Gelman BB, Rauf SJ, Nader R, Popov V, Borkowski J, Chaljub G, et al. Amebic encephalitis due to *Sappinia diploidea*. *JAMA.* 2001;285:2450-1.
- Grunnet ML, Cannon GH, Kushner JP. Fulminant amebic meningoencephalitis due to *Acanthamoeba*. *Neurology.* 1981;31:174-6.
- 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.
- Seal DV. *Acanthamoeba* keratitis update -incidence, molecular epidemiology and new drugs for treatment. *Eye.* 2003;17:893-905.
- Gullett J, Mills J, Hadley K, Podensky B, Pitts L, Gelber R. Disseminated granulomatous *Acanthamoeba* infection presenting as an unusual skin lesion. *Am J Med.* 1979;67:891-6.
- Butt CG. Primary amebic meningoencephalitis. *N Engl J Med.* 1966;274:1473-6.
- Visvesvara GS, Stehr-Green JK. Epidemiology of free-living amoeba infection. *J Protozool.* 1990;37:273-307.
- Visvesvara GS, Maquire JH. Pathogenic and Opportunistic Free-Living amoebae: *Acanthamoeba* spp, *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. En: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF, editors. *Tropical infectious diseases, principles, pathogens and practice.* 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2006. p. 1114-25.
- Garcia LS. Protozoa from other body sites. En: Garcia LS, editor. *Diagnostic medical parasitology.* 4th ed. Washington: ASM Press; 2003. p. 106-31, 855-60.
- De Jonckheere JF. Pathogenic and nonpathogenic *Acanthamoeba* spp. in thermally polluted discharges and surface waters. *J Protozool.* 1981;28:56-9.
- De Jonckheere JF. Ecology of *Acanthamoeba*. *Rev Infect Dis.* 1991;13 Suppl 5:385-7.
- Mergerian H. The prevalence of *Acanthamoeba* in the human environment. *Rev Infect Dis.* 1991;13 Suppl 5:390-1.
- Kingston D, Warhurst DC. Isolation of amoebae from the air. *J Med Microbiol.* 1969;2:27-36.
- Barbeau J, Buhler T. Biofilms augment the number of free-living amoebae in dental unit waterlines. *Res Microbiol.* 2001;152:753-60.
- Paszko-Kolva C, Yamamoto HH, Shahamat M, Sawyer TK, Morris G, Colwell RR. Isolation of amoebae and *Pseudomonas* and *Legionella* spp from eyewash stations. *Appl Environ Microbiol.* 1991;57:163-7.
- Barker J, Brown MRW. Trojan horses of the microbial world: protozoa and the survival of bacterial pathogens in the environment. *Microbiology.* 1994;140:1253-59.
- Barker J, Humphrey TJ, Brown MWR. Survival of *Escherichia coli* O157 in a soil protozoan: implications for disease. *FEMS Microbiol Lett.* 1999;173:291-95.
- Cirillo JD, Falkow S, Tompkins LS. Growth of *Legionella pneumophila* in *Acanthamoeba castellanii* enhances invasion. *Infect Immun.* 1994;62:3254-61.
- Greub G, Raoult D. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:413-33.
- Bowers B. Comparison of pinocytosis and phagocytosis in *Acanthamoeba castellanii*. *Exp Cell Res.* 1977;110:409-17.
- Byers TJ. Growth, reproduction, and differentiation in *Acanthamoeba*. *Int Rev Cytol.* 1979;61:283-338.
- Griffin J. Pathogenic free-living amoebae. En: Kreier JP, editor. *Parasitic protozoa.* New York: Academic Press; 1978. p. 507-49.
- Visvesvara GS. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of clinical microbiology.* 8th ed. Washington: ASM Press; 2003. p. 1981-9.
- Jahnes B, Fullmer HM, Li CP. Free-living amoebae as contaminants in monkey kidney tissue cultures. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1957;96:484-8.
- Casemore DP. Free-living amoebae in home dialysis unit. *Lancet.* 1977;2:1078.
- Sawyer TK, Visvesvara GS, Harke BA. Pathogenic amoebae from brackish and ocean sediments, with a description of *Acanthamoeba hatchetti*, n.sp. *Science.* 1977;196:1324-5.
- Niederhorn JY, Alizadeh H, Leher HF, Mc Culley JP. The immunology of *Acanthamoeba* keratitis. *Springer Semin Immunopathol.* 1999;21:147-60.
- Niederhorn JY, Alizadeh H, Leher HF, Mc Culley JP. The pathogenesis of *Acanthamoeba* keratitis. *Microbes Infect.* 1999;1:437-43.
- Biddick CJ, Rogers LH, Brown TJ. Viability of pathogenic and nonpathogenic free-living amoebae in long-term storage at a range of temperatures. *Appl Environ Microbiol.* 1984;48:859-60.
- Moore MB, Ubelaker JE, Martin JH, Silvano R, Dougherty JM, Meyer DR, et al. *In vivo* penetration of human corneal epithelium by *Acanthamoeba castellanii*: a scanning and transmission electron microscopy study. *Cornea.* 1991;10:291-8.
- Nagington J, Watson PG, Playfair TJ, McGill J, Jones BB, Steele AD. Amoebic infection of the eye. *Lancet.* 1974;2:1537-40.
- Centers for Disease Control. *Acanthamoeba* keratitis in soft-contact-lens wearers-United States. *MMWR.* 1987;36:397-8, 403-4.
- Radford CF, Minassian DC, Dart JKG. *Acanthamoeba* keratitis in England and Wales: incidence, outcome, and risk factors. *Br J Ophthalmol.* 2002;86:536-42.
- Stehr-Green JK, Bailey TM, Brandt FH, Carr JH, Bond WW, Visvesvara GS. *Acanthamoeba* keratitis in soft contact lens wearers: a case-control study. *JAMA.* 1987;258:57-60.
- Taramoto SA, Tsuru CL, Raquel C. Queratitis por *Acanthamoeba* en usuarios de lentes de contacto: Revisión. *Revista de Postgrado de la VIª Cátedra de Medicina* 2003;123:18-21. Disponible en: <http://med.unne.edu.ar/revista/revista123/queratitis.htm>
- Jones DB. *Acanthamoeba* -the ultimate opportunist? *Am J Ophthalmol.* 1986;102:527-30.
- Seal DV, Beattie TK, Tomlinson A, Fan D, Wong E. *Acanthamoeba* keratitis in England and Wales: incidence, outcome and risk factors. *Br J Ophthalmol.* 2003;87:516-7.
- Illingworth CD, Cook SD, Karabatsas CH, Easty DL. *Acanthamoeba* keratitis: risk factors and outcome. *Br J Ophthalmol.* 1995;79:1078-82.
- Seal DV, Hay J. *Acanthamoeba* keratitis. *Br Med J.* 1994;309:1019.
- Doren GS, Cohen EJ, Higgins SE, Udell IJ, Eagle RC Jr, Arentsen JJ, et al. Management of contact lens associated *Acanthamoeba* keratitis. *CLAO J.* 1991;17:120-5.
- Illingworth CD, Cook CD. *Acanthamoeba* keratitis. *Surv Ophthalmol.* 1998;42:493-508.

52. Tay-Kearney ML, McGhee CN, Crawford GJ, Trown K. *Acanthamoeba* keratitis. A masquerade of presentation in six cases. Aust N Z J Ophthalmol. 1993;21:237-45.
53. López L, De Fernando S, Gaztelurrutia L, Vilar B, Perez-Irezábal J, Barrón J. Queratitis por *Acanthamoeba* spp: presentación de diez casos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2000;18:229-33.
54. Hirst LW, Green WR, Merz W, Kaufman C, Visvesvara GS, Jensen A, et al. Management of *Acanthamoeba* keratitis; case report and review of the literature. Ophthalmology. 1984;91:1105-11.
55. Kremer I, Cohen EJ, Eagle RC Jr, Udell I, Laibson PR. Histopathologic evaluation of stromal inflammation in *Acanthamoeba* keratitis. CLAO J. 1994;20:45-8.
56. Theodore FH, Jakobiec FA, Juetchter KB, Ma P, Troutman RC, Pang PH, et al. The diagnostic value of a ring infiltrate in *Acanthamoeba* keratitis. Ophthalmology. 1985;92:1471-9.
57. Mannis MJ, Tamaru R, Roth AM, Burns M, Thirkill C. *Acanthamoeba* sclerokeratitis. Determining diagnostic criteria. Arch Ophthalmol. 1986;104:1313-7.
58. Seal DV, Bron AJ, Hay J. Ocular infection. Investigation and treatment in practice. London: Martin Dunitz; 1998. p. 1-275.
59. Schuster FL. Cultivation of pathogenic and opportunistic free-living amoebas. Clin Microbiol Rev. 2002;15:342-54.
60. Kilvington S, Larkin DF, White DG, Beeching JR. Laboratory investigation of *Acanthamoeba* keratitis. J Clin Microbiol. 1990;28:2722-5.
61. Gradis MS, Koenig SB, Hyndiuk RA, De Carlo J. Filter-culture technique using amoeba saline transport medium for the non invasive diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis. Am J Clin Pathol. 1989;92:682-5.
62. Wilhelmus KR, Osato MS, Font RL, Robinson NM, Jones DB. Rapid diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis using calcofluor white. Arch Ophthalmol. 1986;104:1309-12.
63. Cursons R. A simple staining method for detection of amoebae. N Z Med J. 1981;94:471.
64. Hay J, Kinnear F, Kirkness CM. *Acanthamoeba* keratitis: laboratory diagnosis, characterisation of protozoa and treatment. Scot Centre Infect Environ Health. 1995;29:90-91.
65. Penland RL, Wilhelmus KR. Comparison of axenic and monoxenic media for isolation of *Acanthamoeba*. J Clin Microbiol. 1997;35: 915-22.
66. Kilvington S, White DG. *Acanthamoeba*: biology, ecology and human disease. Rev Med Microbiol. 1994;5:12-20.
67. D'Aversa G, Stern GA, Driebe WT Jr. Diagnosis and successful medical treatment of *Acanthamoeba* keratitis. Arch Ophthalmol. 1995;113:1120-3.
68. Lai S, Asgari M, Henney HR Jr. Non-radioactive DNA probe and polymerase chain reaction procedures for the specific detection of *Acanthamoeba*. Mol Cell Probes. 1994;8:81-9.
69. Hay J, Kirkness CM, Seal DV, Wright P. Drug-resistance and *Acanthamoeba* keratitis: the quest for alternative antiprotozoae chemotherapy. Eye. 1994;8:555-63.
70. Bacon AS, Frazer DG, Dart JK, Matheson M, Ficker LA, Wright P. A review of 72 consecutive cases of *Acanthamoeba* keratitis, 1984-92. Eye. 1993;7:719-25.
71. Seal DV, Hay J, Kirkness CH, Morell A, Booth A, Tullo A, et al. Successful medical therapy of *Acanthamoeba* keratitis with topical chlorhexidine and propamidine. Eye. 1996;10:413-21.
72. Allan BDS, Dart JKG. Strategies for the management of microbial keratitis. Br J Ophthalmol. 1995;79:777-86.
73. Griffin JL. Temperature tolerance of pathogenic and non-pathogenic free-living amoebas. Science. 1972;178:869-70.
74. Zanetti S, Fiori PL, Pinna A, Usal S, Carta F, Fadda G. Susceptibility of *Acanthamoeba castellanii* to contact lens disinfecting solutions. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39:1596-8.

#### ANEXO 1. Preparación del medio de cultivo de Page para amebas de vida libre

##### Solución salina de Page 10X (SP)

Cloruro sódico (NaCl)	60 mg
Sulfato magnésico (MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	2 mg
Fosfato sódico, dibásico (Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> H)	71 mg
Fosfato potásico, monobásico (KPO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> )	68 mg
Cloruro cálcico (CaCl <sub>2</sub> ·2 H <sub>2</sub> O)	2 mg
Agua bidestilada	500 ml

- Disolver los ingredientes, por este orden, en un recipiente de vidrio apropiado (p. ej., un matraz de 2 l) y con agitación constante (agitador magnético). Hay que tener especial cuidado de comprobar la adecuada disolución del CaCl<sub>2</sub>. Puede estar indicado su disolución por separado en una cantidad de agua bidestilada, previamente calentada a 40 °C, con agitación constante, y añadir la solución al frasco principal con el resto de sales disueltas (mantener la agitación); igualmente, pueden pesarse 20 mg, en vez de 2, de las sales de calcio y magnesio, disolver bien en agua destilada y luego añadir sólo una décima parte de esta solución al resto
- Esterilizar en autoclave (121 °C/20 min), dejar enfriar, alícuotar y rotular: SP10X. La caducidad de la solución es de 6-8 meses y hay que almacenarla a 4 °C. También pueden congelarse las alícuotas con escasa pérdida de actividad (1 año: 5-10%)

##### Agar no nutritivo de Page (MP)

SP, solución de Page 10X	50 ml
Bacto-Agar, Difco 0140-01 <sup>a</sup>	7,5 g
Agua bidestilada	450 ml

<sup>a</sup>U otro agar purificado

- Mezclar la SP 10X con el agua bidestilada en frasco idóneo, con agitación. Calentar y añadir el agar. Mezclar bien hasta su completa disolución. Autoclave (121 °C/20 min). Sacar y atemperar a 60 °C. Distribuir asépticamente en placas de Petri o en tubos de 10 ml con tapón de rosca. Tapar las placas y cerrar los tubos. Dejar solidificar (en posición inclinada los tubos), sellar las placas y rotular (MP, caducidad: 8-12 meses los tubos, 3 meses las placas en nevera a 4 °C)