

Aislamiento de *Acanthamoeba* en pacientes del Servicio de Oftalmología del Hospital Nacional Cayetano Heredia

ROXANA SUÁREZ †¹, JUAN OLAYA², PEDRO HUAPAYA³, ELBA MIRANDA⁴, CÉSAR NÁQUIRA⁵.

¹Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. ²Hospital Cayetano Heredia.

³Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión". ⁴Sección de Parasitología. Universidad Cayetano Heredia.

⁵Instituto Nacional de Salud.

RESUMEN

OBJETIVO: Determinar la presencia de parásitos del género *Acanthamoeba* en sujetos asintomáticos. **LUGAR:** Servicio de Oftalmología del Hospital Nacional Cayetano Heredia. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Se examinó mediante hisopado corneal a 100 individuos sin evidencia de lesión en la cornea durante los meses de abril y mayo de 1999. Las muestras fueron sembradas en agar napolitano y en agar no nutritivo al 2%, incubadas y observadas a los 7 días. **RESULTADOS:** De las 100 muestras revisadas, en 16 se observó quistes de *Acanthamoeba*; 44 individuos fueron varones, no hubo diferencias significativas del diagnóstico entre los sexos; 63% de los individuos era menor de 20 años, con predominio de la infección en sujetos más jóvenes; 89% refirió haber visitado zonas donde hay reportes de la presencia del parásito (Piura, Ica), 58 sujetos manifestaron haber nadado en piscinas o ríos. De 76 sujetos que informaron sobre la fuente de provisión de agua para uso doméstico, 63% la obtuvo de camiones cisterna y 25% de pozos, pero la infección fue más frecuente en estos últimos (31,6% vs. 12,5%). El hallazgo de *Acanthamoeba* coincidió con ametropía (44%), conjuntivitis (16,4%) y blefaritis (12,3%). **CONCLUSIÓN:** Se evidencia la presencia del parásito en individuos jóvenes sin lesión corneal quienes están en riesgo de sufrir queratitis.

Palabras clave: Amoeba; acanthamoeba; queratitis por acanthamoeba; lentes de contacto.

ISOLATION OF ACANTHAMOEBA IN CAYETANO HEREDIA NATIONAL HOSPITAL OPHTHALMOLOGY SERVICE PATIENTS

ABSTRACT

OBJECTIVE: To determine the presence of *Acanthamoeba* genus in symptomatic persons. **SETTING:** Cayetano Heredia National Hospital Ophthalmology Service. **MATERIAL AND METHODS:** One hundred individuals without evidence of corneal lesion had corneal samples examined during April and May 1999. Samples were sowed in neapolitan agar and non-nutritive agar, incubated and checked after 7 days. **RESULTS:** *Acanthamoeba* cysts were found in 16 out of the 100 samples; 44 subjects were male; diagnosis was not different in both sexes; 63% of individuals were below 20 year-old; infection was predominant in younger people; 89% referred visits to areas where the parasite had been reported (Piura, Ica); 58 subjects referred swimming in pools or rivers. Out of 76 subjects who reported daily use water source, 63% obtained it from water-tank cars and 25% from wells; infection was more frequent in the latter ones (31,6% vs. 12,5%). *Acanthamoeba* coincided with amethropy (44%), conjunctivitis (16,4%) and blepharitis (12,3%). **CONCLUSION:** The parasite *Acanthamoeba* is present in young people without corneal lesion in whom risk to develop keratitis has to be considered.

Key words: Amoeba; acanthamoeba; acanthamoeba, keratitis; contact lens.

Correspondencia:

Dr. Pedro Huapaya Herreros
Av. Oscar R. Benavides 5050 - Dpto. 204
Callao 02, Perú
E-mail: pehh@terramail.com.pe

INTRODUCCIÓN

Las amebas de vida libre son un grupo de protozoos anfitriónicos causantes de enfermedades en el ser humano, que afectan preferentemente al sistema nervioso central, reportándose, además, infecciones cutáneas en individuos inmunosuprimidos y queratitis en sujetos inmunocompetentes⁽¹⁻⁵⁾. Con relación a esto último, estos microorganismos han sido encontrados contaminando tanto lentes de contacto como la solución utilizada para el lavado de esos lentes, señalándose este hecho como un factor de riesgo importante para esta patología⁽⁶⁾.

La enfermedad se inicia en forma insidiosa, produciendo dolor ocular^(1,3,4,7), que, de no ser tratada a tiempo, puede producir úlceras en la córnea que llevan a la disminución progresiva de la agudeza visual, llegando inclusive hasta la ceguera^(1,2).

Los factores de riesgo descritos por diversos autores incluyen, entre otros, traumatismo corneal, exposición al agua contaminada y el uso de lentes de contacto, los cuales permiten el ingreso del parásito al organismo humano^(1,8). Asimismo, la falta de higiene en la preparación y conservación de algunas soluciones de lavado es reconocida también como el factor de mayor importancia entre los usuarios de lentes de contacto. Diversos estudios determinan que este antecedente se presenta en 85% de los casos reportados^(1,6,9).

Las investigaciones señalan seis especies del género *Acanthamoeba* que han sido identificadas como causantes de queratitis; entre ellas tenemos *A. castellani*, *A. culbertsoni*, *A. hatchetti*, *A. polyphaga*^(1,10), *A. rhyodes*^(11,12), *A. lugdinensis*⁽¹³⁾ y *A. palestinensis*⁽¹⁴⁾.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la presencia de amebas de vida libre en muestras de hisopados corneales tomados de individuos que acudieron al Servicio de Oftalmología por diversos motivos de consulta, pero sin evidencia de lesión corneal alguna, para establecer si la presencia de los parásitos indicaría una

mayor posibilidad de desarrollar infecciones oculares, como la queratitis, al estar presentes esperando el momento oportuno para ingresar al tejido y producir la lesión característica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio en 100 individuos sin evidencia de lesión corneal que acudieron al Servicio de Oftalmología del Hospital Nacional Cayetano Heredia, con la finalidad de determinar la presencia de amebas de vida libre del género *Acanthamoeba*, importante agente causal de queratitis.

Las muestras de hisopado corneal fueron recolectadas durante los meses de abril y mayo de 1999.

Se utilizó una ficha epidemiológica en cada individuo, en la cual se anotó datos personales, sintomatología y factores asociados, tales como el contacto con agua potencialmente contaminada (río, pozo y piscina), el material predominante en la vivienda, el uso de lentes de contacto, entre otros. Para el transporte y conservación de la muestra se utilizó un frasco estéril con solución amebosalina (solución utilizada para el cultivo de amebas de vida libre). Una vez en el laboratorio, los hisopos estériles fueron colocados en placas petri conteniendo agar napolitano y agar no nutritivo al 2%, junto con una suspensión de bacterias muertas (*Escherichia coli*), siendo observadas después de 7 días. Para esto, se agregó solución fisiológica a cada placa, frotando con un asa metálica la superficie, para liberar todas las colonias presentes. Luego se retiró una alícuota de 20uL para colocarla entre láminas portaobjetos y cubreobjetos. Se observó en microscopio a 100 y 400 aumentos.

Las muestras fueron consideradas positivas al encontrarse en uno de los medios de cultivo al menos un quiste con las características morfológicas del género *Acanthamoeba* (forma circular o poligonal, doble membrana).

RESULTADOS

En los 100 individuos estudiados, se encontró 16 casos positivos (16%) (Tabla 1). Asimismo, 44 (44%) individuos fueron de sexo masculino; de ellos, 8 (22,2%) resultaron positivos, mientras que entre 56 (56%) de sexo femenino, 8 (14,3%) resultaron positivos. Estas diferencias no son estadísticamente significativas (Tabla 2).

Tabla 1.- Aislamiento de amebas de vida libre en hisopados corneales.

| Resultado | n | % |
|-----------|-----|-------|
| Positivo | 16 | 16,0 |
| Negativo | 84 | 84,0 |
| Total | 100 | 100,0 |

Tabla 2.- Distribución por sexos.

| Resultado | Masculino (%) | Femenino (%) |
|-----------|---------------|--------------|
| Positivo | 8 (22,2) | 8 (14,3) |
| Negativo | 36 (77,8) | 48 (85,7) |
| Total | 44 (100,0) | 56 (100,0) |

Con relación a la distribución por edades, 27% de los sujetos fue menor de 10 años y, si ampliamos el grupo hasta los menores de 20 años, entonces la proporción aumenta a 63%, lo cual constituye un hallazgo sumamente importante, pues muestra cómo la población con trastornos oftalmológicos es predominantemente joven. Esta distribución se mantiene si separamos los pacientes según el resultado obtenido en el cultivo. Así tenemos que, dentro de los menores de 10 años, 22,2% son positivos, mientras que entre los 11 a 20 años, 13,8% son positivos. Si comparamos con el total del grupo mayor de 21 años, la proporción de sujetos positivos es 13,5%, es decir, se muestra una tendencia a la mayor frecuencia de la infección en sujetos jóvenes, predominando la etapa escolar (Tabla 3).

Tabla 3.- Distribución por edades.

| Resultado | 1-10a (%) | 11-20a (%) | 21 ó más (%) |
|-----------|------------|------------|--------------|
| Positivo | 6 (22,2) | 5 (13,8) | 5 (13,5) |
| Negativo | 21 (77,8) | 31 (86,2) | 32 (86,5) |
| Total | 27 (100,0) | 36 (100,0) | 37 (100,0) |

De 89 individuos con información epidemiológica y resultado de cultivo, 42,7% tenía instrucción primaria y 57,3% instrucción secundaria. Ninguno alcanzó instrucción superior. Además, comparando la distribución de los resultados entre estas categorías, 20,1% de aquellos con instrucción primaria fueron positivos mientras sólo 13,7% de aquellos con instrucción secundaria. Esta situación debe ser estudiada con mayor amplitud.

Como era de esperarse, por la distribución de edades del grupo de estudio, la mayoría (74%) fue nativo de las ciudades de Lima y Callao, así como 65,7% de la población estudiada provenía del Cono Norte de la Ciudad, siendo este hecho consecuencia directa de la ubicación del Hospital Nacional Cayetano Heredia.

En la búsqueda de un factor asociado a la presencia del parásito, se obtuvo que 89 pacientes informaron con respecto a antecedentes de viajes a zonas en donde la infección había sido anteriormente descrita (Piura, Ica). Encontramos que 61,8% refirió viajes fuera de la ciudad de Lima. Sin embargo, de ellos 52,7% había visitado alguna ciudad de la sierra, mientras que 43,6% lo hizo en las ciudades de la costa. Entre aquellos que resultaron positivos, 12,5% visitó ciudades de la costa y 17,2% de la sierra. Estos resultados nos indicarían la amplia distribución del parásito. Además, se obtuvo información de 58 sujetos acerca del contacto con fuentes de agua extradomiciliaria, quienes manifestaron haberse bañado principalmente en piscinas (70,7%) y en el río (22,4%). Las proporciones de positivos en cada caso fueron 12,2% y 7,7% respectivamente. Podemos estimar que el antecedente no es lo suficiente fuerte como para

considerarlo como un factor de riesgo, al menos en la población estudiada (Tabla 4).

Tabla 4.- Contacto con agua potencialmente contaminada.

| Fuente | n (%) | Positivo (%) | Negativo (%) |
|---------|------------|--------------|--------------|
| Piscina | 41 (70,7) | 5 (12,20) | 36 (87,80) |
| Río | 13 (22,4) | 1 (7,69) | 12 (92,31) |
| Otros | 4 (6,9) | 0 (0,0) | 4 (100,00) |
| Total | 58 (100,0) | 6 (10,34) | 52 (89,66) |

En cuanto a las condiciones intradomiciliarias, de 76 sujetos que brindaron información sobre el material predominante en sus viviendas, 89,5% refirió que era de material noble, hecho esperable, ya que la procedencia de los pacientes era predominantemente urbana. Esta situación tampoco brinda mayores luces sobre la relación con el riesgo de infección. Asimismo, se obtuvo información de la fuente de provisión de agua para la vivienda; 63,2% obtenía el agua de camiones cisternas y 25% de pozos; 11,8% refirió otras fuentes, como conexión intradomiciliaria. Si, además, comparamos con la proporción de positivos, en cada situación obtenemos resultados interesantes, ya que de aquellos usuarios de pozos 31,6% fue positivo, mientras que de los usuarios de camiones cisternas sólo 12,5% fue positivo; aquellos usuarios de otras fuentes, tuvieron solamente 11,1% de casos positivos (Tabla 5).

Tabla 5.- Fuente de abastecimiento de agua en la vivienda.

| Fuente | n (%) | Positivo (%) | Negativo (%) |
|----------|------------|--------------|--------------|
| Pozo | 19 (25,0) | 6 (31,6) | 13 (68,4) |
| Cisterna | 48 (63,2) | 6 (12,5) | 42 (87,5) |
| Otros | 9 (11,8) | 1 (11,1) | 8 (88,8) |
| Total | 76 (100,0) | 13 (17,1) | 63 (82,9) |

Con relación al diagnóstico oftalmológico, el principal de ellos fue ametropía (43,8%). Las infecciones más frecuentes fueron conjuntivitis (16,4%) y blefaritis (12,3%), afecciones frecuentes en el grupo de edad estudiado, que como ya se ha mencionado corresponde básicamente a menores de 20 años.

DISCUSIÓN

El hallazgo de amebas de vida libre del género *Acanthamoeba* en 16% de individuos de un grupo de 100 pacientes de un servicio de oftalmología sin evidencia de lesión corneal, nos indica que la presencia de este agente infeccioso es importante, aún en sujetos en quienes no existe la sospecha clínica. Esto los predispone a sufrir consecuencias muy graves, en caso de presentar alguna lesión adicional que permita la entrada del parásito al tejido.

Algunos estudios señalan que la queratitis está asociada con traumatismos corneales, que son considerados como la principal puerta de entrada (15). Sin embargo, existen reportes de Visvesvara en 200 pacientes con queratitis, usuarios de lentes de contacto, que no presentaban traumatismo corneal alguno, asociando la enfermedad con las soluciones de limpieza que se utiliza comúnmente para los lentes de contacto; éstos podrían contaminarse fácilmente con quistes provenientes del aire (16).

Este hallazgo concuerda con el reporte del aislamiento de amebas de vida libre a partir de la región nasofaríngea en individuos sin síntomas de enfermedad (12,17). Ello indica que el ser humano está expuesto a este microorganismo en forma continua. Estos hallazgos no deben ser sobrestimados, ya que dichas amebas no sólo presentan un potencial infeccioso sino que también pueden servir como vector para otras especies patógenas para el hombre (18,19).

Con respecto al grupo etario, 62,9% de los individuos estudiados eran jóvenes, principalmente menores de 20 años. Los sujetos positivos también eran predominantemente de esta

edad, lo que concuerda con algunas características de los pacientes que sufren de queratitis, que son con mayor frecuencia jóvenes y sanos. Ello no excluye que esta enfermedad pueda afectar a individuos de cualquier edad.

Existen reportes acerca de 10 casos de queratitis debido a *Acanthamoeba castellanii* y *Acanthamoeba polyphaga*, en los cuales, el rango de edad de los individuos osciló entre los 23 y 59 años (¹⁹). Así mismo, Campello y col reportan que en 21 pacientes con queratitis, la media de la edad fue de 32 años (rango de 9 a 53 años), siendo la ocupación más frecuente la de estudiante en 7 casos (30%); 14 pacientes (66,7%) fueron mujeres y 7 (33,3%) hombres (²⁰), resultados que concuerdan con los hallados en el presente trabajo, puesto que la presencia del parásito fue más frecuente entre las mujeres, no observándose diferencias significativas.

En cuanto a los factores asociados a la presencia del parásito en el grupo estudiado, 61,8% manifestó haber viajado alguna vez fuera de Lima, de los cuales 8 % fueron positivos. Sin embargo, sólo 12,2% visitó la costa y 17,2% la sierra, mostrando así la amplia distribución del parásito en la naturaleza, tal como ha sido reportado en otro estudio realizado en nuestro país, en el que se aisló *Acanthamoeba* en muestras de agua en la mayoría de los departamentos. Aunque la metodología utilizada fuera discutible, se mostró el riesgo potencial, por la amplia distribución del parásito (²⁰).

Entre los factores de riesgo, la mayor parte de los pacientes positivos era usuario de pozos y cisternas como fuente de abastecimiento de agua domiciliaria, utilizando dichas aguas en la cocina e higiene personal. Los pozos y cisternas en nuestra capital adolecen de las mínimas condiciones sanitarias que garanticen higiene y seguridad necesarias para la población. Ello concuerda con reportes en el Reino Unido, en donde vinculan la queratitis con el empleo de depósitos de agua de uso doméstico (²¹). Así también, en un reporte nacional se aisló *Acanthamoeba* en fuen-

tes de agua de uso doméstico y también en fuentes naturales (²⁰).

En cuanto al contacto con agua potencialmente contaminada proveniente de ríos y piscinas, en el grupo estudiado no resultó ser un factor importante, por la poca frecuencia de presentación. Lo cual no concuerda con los reportes de Losada y col., quienes señalan que entre los factores asociados con la infección por *Acanthamoeba* se incluye a los usuarios de lentes de contacto, quienes utilizan soluciones caseras, sistemas de desinfección y/o exposición a agua de piscinas o corrientes (⁶).

BIBLIOGRAFÍA

1. **Alzamora B, Guerra L, Haro D, Carbone A.** "Tratamiento médico de la Queratitis por *Acanthamoeba*". Rev Peruana Oftalmol 1994; 18(1-2): 21-7.
2. **Arffa R.** Enfermedad de la Córnea, 4ta Edición. España: Brace Publishers International. España, 1999: 269-74.
3. **Biavasco F, Manso E, Giovannini A, Frongia G, Scaglia M, Lupidi R, Giovanetti E, Tittarelli R, Steele A, Visvesvara G, Varaldo P.** Bilateral *Acanthamoeba* Keratitis. Clin Inf Dis 1994; 18(4): 661-2.
4. **Mac Culley J, Alizadeh H, Niederkorn J.** The diagnosis and management of *Acanthamoeba* Keratitis. CLAO J 2000; 26(1): 47-51.
5. **Moura H, Wallace S, Visvesvara G.** *Acanthamoeba* healyi N. Sp. and the isoenzyme and immunoblot profiles of *Acanthamoeba* spp. Group 1 and 3. J Protozool 1992; 39 (5) : 573-83.
6. **Kilvington S, Larkin D, White D, Beeching J.** Laboratory investigation of *Acanthamoeba* Keratitis. J Clin Microbiol 1990; 28(12): 2722-5.
7. **Johns K, Head W, Robinson R, Williams T, O'Day D.** Examination of the contact lens with light microscopy: An aid in diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis. J Infect Dis 1991; 13(suppl 5): S 425.
8. **Losada C, Martín F, Sánchez M.** *Acanthamoeba* queratitis. Arch Soc Canaria Oftalmol 1986-1998; No 9.
9. **Kilvington S, Beeching J, White D.** Differentiation of *Acanthamoeba* strains from infected corneas and the environment by using restriction endonucleasas digestion of whole cell DNA. J Clin Microbiol 1991; 29(2): 310-4.
10. **Pernin P, Omar S, Hullo A.** Morphological and isoenzymatic study of an ocular strain of *Acanthamoeba* J Inf Dis 1991; 13(suppl 5) S: 428-9.
11. **Martínez A, Visvesvara G.** Laboratory diagnosis of pathogen free-living amoeba: *Naegleria*, *Acanthamoeba* and *Leptomyxa*. Clin Lab Med 1991; 11(4):861-72.

12. **Ma P, Willaert E, Juechter K, Stevens A.** A case of keratitis due to *Acanthamoeba* in New York, New York and feature of 10 cases. *J Inf Dis* 1981; 143 (5): 662-7.
13. **Pearl M, Visvesvara G, Martinez A, Theodore F, Dagget P, Sawyer T.** *Naegleria* and *Acanthamoeba* infections: a review. *Rev Infec Dis* 1990; 12(3): 490-513.
14. **De Jonckheere J.** Growth characteristics, cytopathic effect in cell culture and virulence in mice of 36 type Strains belonging to 19 Different *Acanthamoeba* spp. *Appl Environ Microbiol* 1980; 39 (4): 681-5.
15. **Ferrante A.** Immunity to *Acanthamoeba*. *J Inf Dis* 1991; 13 (suppl. 5): S403-9.
16. **Brandt F, Ware D, Visvesvara G.** Viability of *Acanthamoeba* cysts in ophthalmic solutions. *Appl Environ Microbiol* 1989; 55(5): 1144-6.
17. **Wiley C, Safrin R, Davis Ch, Lampert P, Braude A, Martinez A, Visvesvara G.** *Acanthamoeba* meningoencefalitis in a patient with AIDS. *J Inf Dis* 1987; 155(1): 130-3.
18. **Fritsche T, Gauton R, Seyedirashti S, Bergeron D, Lindquist T.** Occurrence of bacterial Endosymbionts in *Acanthamoeba* spp. isolated from corneal and environmental specimens and contact lenses. *J Clin Microbiol* 1993; 31(5): 1122-6.
19. **Marciano Cabral F, Puffenburger R, Cabra G.** The increasing importance of *Acanthamoeba* Infections. *J Eukar Microbiol* 2000; Ene-Feb, 47(1): 29-36.
20. **Ruesta G.** Epidemiología de la *Acanthamoeba* e el Perú. Trabajo de investigación para optar el título de Especialista en Oftalmología. Facultad de Medicina - UNMSM - Unidad de Post Grado, 1997.
21. **Campello J, Abengoechea S, Alvarez E, Barraquer C.** *Acanthamoeba* keratitis. Retrospective study. *Arch Soc Canaria Oftalmol* 2000; No.11.