

## Parasitosis ocular por *Acanthamoeba*

### *Acanthamoeba* parasitic eye infection

María del Carmen Benítez Merino<sup>1\*</sup>

Fidel Angel Núñez Fernández<sup>2</sup>

Zaadia Pérez Parra<sup>1</sup>

Justo L. Noriega Martínez<sup>1</sup>

Alexeide de la C. Castillo Pérez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Cubano de Oftalmología “Ramón Pando Ferrer”.

<sup>II</sup> Instituto Cubano de Medicina Tropical “Pedro Kuri” (IPK).

\* Autor para la correspondencia. Correo electrónico: zaadia.perez@infomed.sld.cu

---

## RESUMEN

El parasitismo es uno de los fenómenos más sorprendentes de los observados en los animales. El número de organismos conocidos de vida parasitaria es muy elevado. Existe una gran cantidad de especies cuya supervivencia está relacionada con la de otras y dependen, en distinta medida, de ellas. Esta dependencia no implica que los animales parásitos sean organismos degenerados o deficientes; al contrario, a la vida parasitaria se ha llegado tras largo tiempo de evolución, en el que los parásitos han ido superando barreras y adaptándose a vivir en, o sobre sus hospedadores. Las queratitis por *Acanthamoeba* son

infrecuentes; pero se describe un aumento a nivel mundial relacionado con el uso creciente de lentes de contacto. El diagnóstico precoz y el tratamiento adecuado deben realizarse para evitar la pérdida de la visión. Se realizó una búsqueda de artículos publicados, con el objetivo de conocer sobre la *Acanthamoeba* como parásito y su afectación ocular. Se utilizó la plataforma Infomed, específicamente la Biblioteca Virtual de Salud.

**Palabras clave:** *Acanthamoeba*; parasitismo; queratitis.

---

## ABSTRACT

Parasitism is one of the most surprising phenomena among those occurring in animals. The number of known parasitic organisms is very high. There is a large number of species whose survival is related to that of others and depend on them to a greater or lesser degree. Such dependence does not imply that parasitic animals are either degenerate or deficient. On the contrary, parasitic life has been the result of a long process of evolution along which parasites have gradually overcome hurdles and have adapted to live in or on their hosts. *Acanthamoeba* keratitis is a rare disease, but a worldwide increase has been reported due to the growing use of contact lenses. Early diagnosis and appropriate treatment are required to prevent sight loss. A search was conducted for published papers with the purpose of learning about *Acanthamoeba* as a parasite and the related eye conditions. Use was made of the platform Infomed, specifically the Virtual Health Library.

**Key words:** *Acanthamoeba*; parasitism; keratitis.

---

Recibido: 25/03/2019

Aprobado: 30/06/2019

## INTRODUCCIÓN

La denominación “parásito” se ha utilizado para designar a organismos que buscan de otros para su subsistencia. Dentro de los géneros de amebas de vida libre que existen en la naturaleza, solo cuatro se han asociado con enfermedad humana: *Acanthamoeba*, *Balamuthia*, *Naegleria* y *Sappinia*. *Acanthamoeba* spp. y *Balamuthia mandillaris* son patógenos oportunistas que producen infección del sistema nervioso central, pulmones, senos paranasales y piel, principalmente en individuos inmunodeprimidos. *Balamuthia* se asocia también con infección en niños inmunocompetentes, y *Acanthamoeba* spp. puede producir queratitis que se presenta sobre todo en usuarios de lentes de contacto.<sup>(1)</sup>

### Clasificación Taxonómica

*Dominio:* Eukaryota.

*Reino:* Protozoa.

*Subreino:* Sarcomastigota.

*Filo:* Amoebozoa.

*Subfilo:* Lobosea clase (LC): Amoebaea.

*Orden:* Centramoebida.

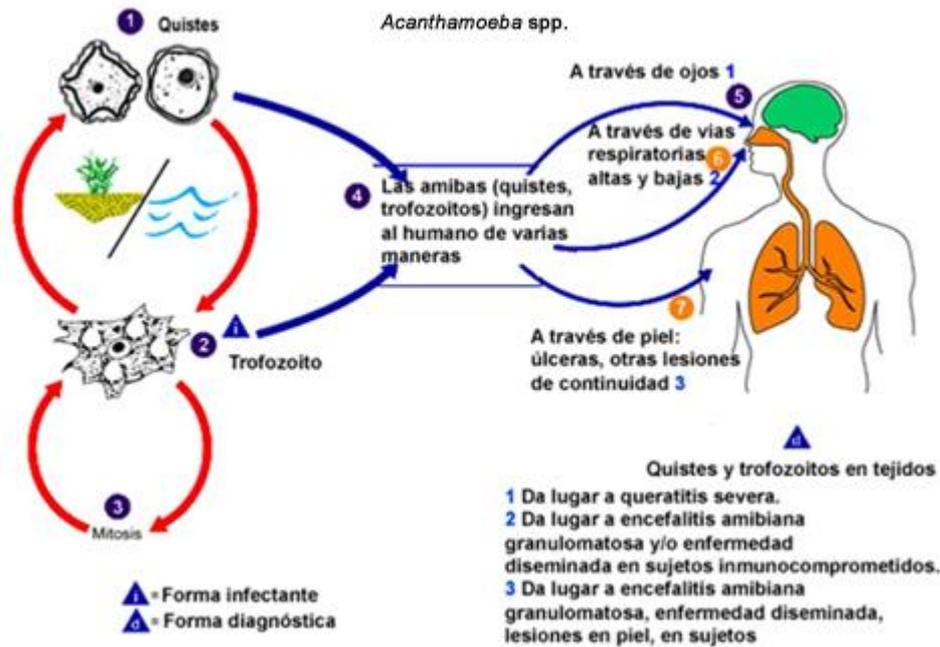
*Familia:* Acanthamoebidae.

*Género:* Acanthamoeba.

*Ciclo de vida:* Se representa en la figura 1.

Su morfología presenta dos estados: trofozoitos y quistes (Fig. 2). Los trofozoitos tienen un diámetro de 15-45  $\mu\text{m}$  y constituyen la forma activa; son mononucleados y presentan

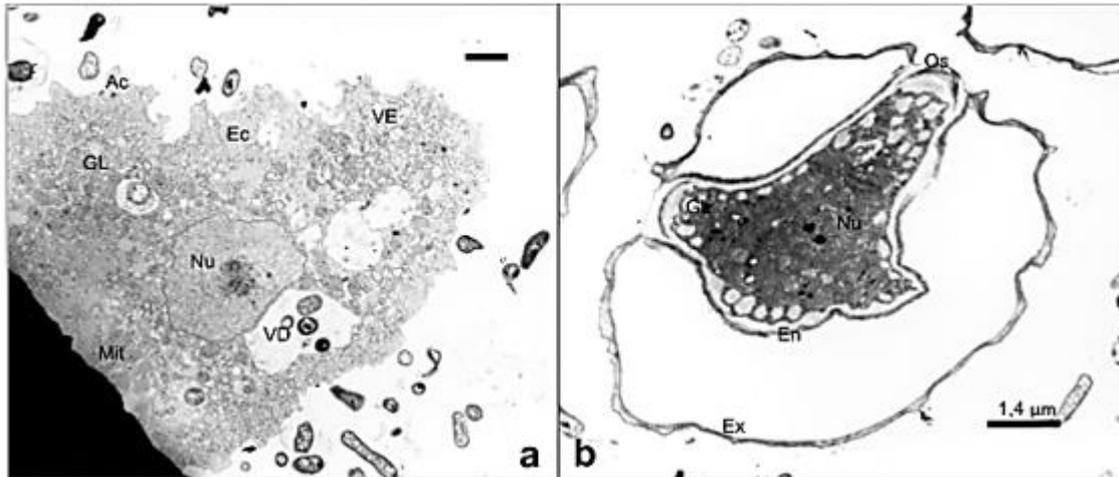
proyecciones citoplasmáticas (acantopodios) para la locomoción. Se alimentan mediante los pseudópodos de bacterias, algas, levaduras y partículas orgánicas ambientales, y de los queratocitos en la córnea. Tienen capacidad infecciosa y reproductiva.<sup>(2)</sup>



Tomado de: Gómez Marín JE. Protozoología Médica. Bogotá: Manual Moderno; 2010. p. 173-83.

**Fig. 1** - Representación esquemática del ciclo de vida de *Acanthamoeba* spp.

Los quistes tienen un diámetro de 10-25  $\mu\text{m}$ ; son de doble pared: la externa (ectoquiste) y la interna (endoquiste). Se forman en condiciones adversas como la falta de alimentos, la desecación, los cambios de temperatura y el pH. Sobreviven a la acción de desinfectantes, antibióticos, cloración y a temperaturas menores de 20 °C por varios años. En condiciones apropiadas se pueden transformar en trofozoitos, y sintetizan enzimas para la penetración y la destrucción tisular.<sup>(2,3,4)</sup>



Tomado de: Gertiser ML, Giagante E, Sgattoni E, Basabe N, Rivero F, Luján H, et al. Queratitis por *Acanthamoeba* sp., primer caso confirmado por aislamiento y tipificación molecular en Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2010;42:122).

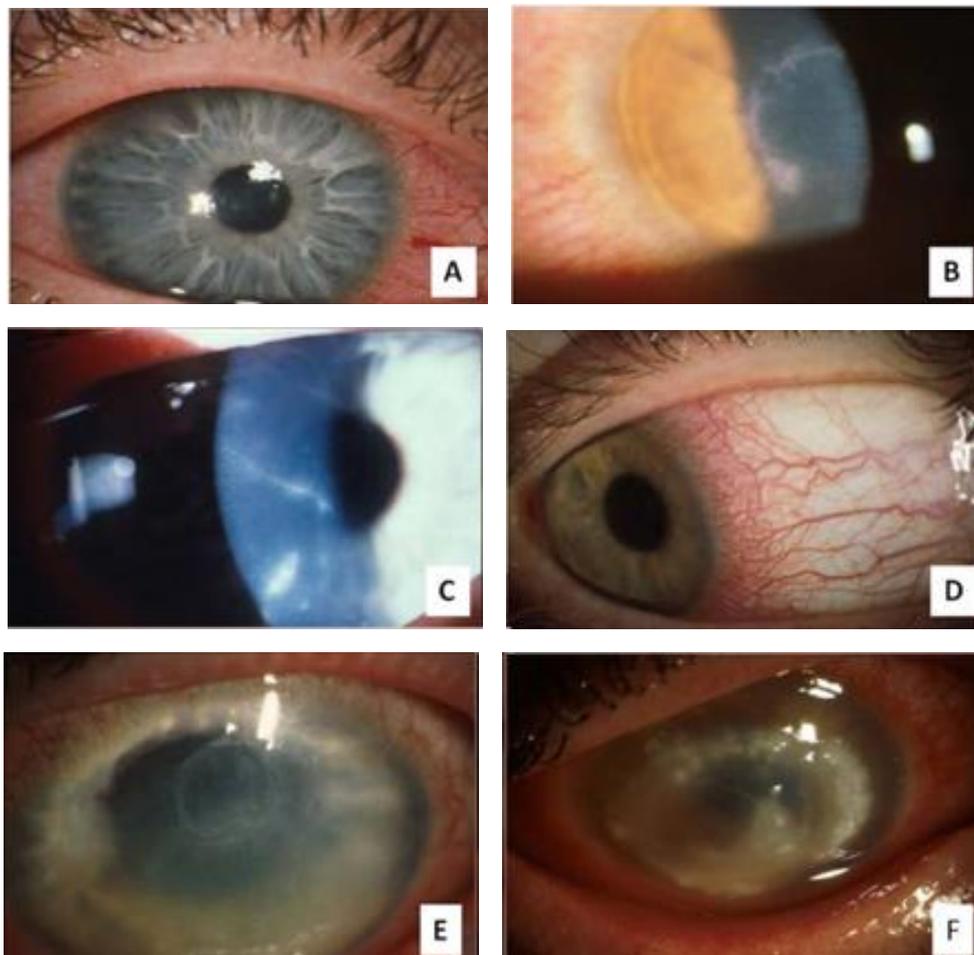
**Fig. 2** - Fotomicrografías de *Acanthamoeba* obtenidas por microscopía electrónica de transmisión). a) Trofozoitos aislado de la biopsia; b) quiste. Ac: acantópodos, Ec: ectoplasma, VE: vacuolas de exclusión de agua, GL: gotas de lípidos, Mit.: mitocondrias, Vd: vacuolas digestivas, Nu: núcleo, Ex: exoquiste; En: endoquiste, Os: ostiolo.

## GENERALIDADES DE LA QUERATITIS POR *ACANTHAMOEBA* Y SU MANEJO

En cuanto a su epidemiología, los quistes de *Acanthamoeba* son altamente resistentes y capaces de sobrevivir periodos prolongados en condiciones ambientales hostiles, incluyendo las aguas cloradas de las piscinas, el agua caliente de las cañerías y las temperaturas de subcongelación; de ahí su importancia epidemiológica.<sup>(3)</sup>

Los casos de queratitis por *Acanthamoeba* se ha incrementado en algunos países desarrollados, como los EE. UU., por el incremento de la población en riesgo de infección y la ocurrencia de brotes de infección, los que están relacionados con el uso de lentes de contacto y los cuidados y/o alteraciones en la calidad del agua o en los procedimientos para el tratamiento de esta. Aunque los procedimientos para el diagnóstico de esta enfermedad han mejorado, esto no explica por sí solo el incremento observado en la ocurrencia de casos. Las estrategias para la educación incluyen la educación de los pacientes y los profesionales, la mejoría de los agentes descontaminantes utilizados para el lavado de las LC y el agua de consumo.<sup>(4)</sup>

Las manifestaciones oculares son muy variables. Se presentan en dos etapas principales: la epitelial, cuyos síntomas son enrojecimiento, disminución de la visión, lagrimeo, fotofobia, secreción y dolor de diferente intensidad. Los síntomas se caracterizan por limbitis, queratopatía punteada, infiltrados epiteliales y subepiteliales, y lesiones dendriformes. Puede haber inflamación palpebral, de cámara anterior y esclera. La otra forma de manifestarse es la estromal, donde los síntomas se intensifican y se observan infiltrados anulares parciales o totales (neutrófilos), edema corneal, ulceración corneal, placas endoteliales, uveítis anterior con o sin hipopion. Cursa con complicaciones como absceso corneal, escleritis, glaucoma secundario, catarata, infección bacteriana secundaria, descemetocele, perforación corneal y endoftalmitis (Fig. 3).<sup>(2,5)</sup>

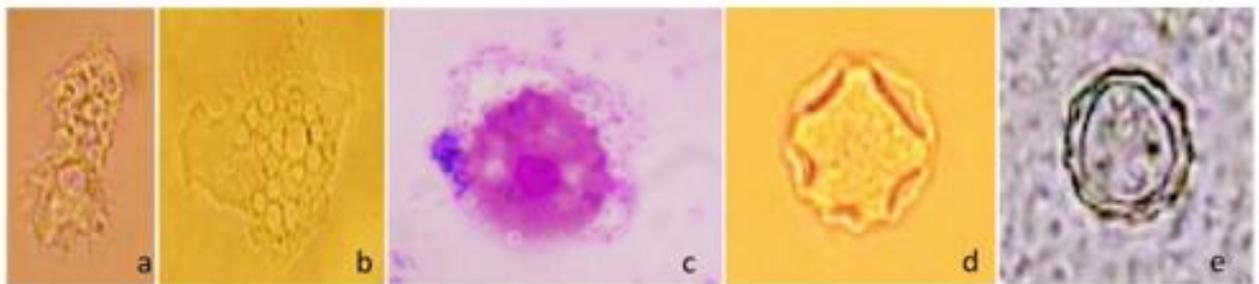


Tomado de: Dart JK, Saw VP, Kilvington S. *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis and treatment update. Am J Ophthalmol. 2009;148:487-99).

**Fig. 3** - Queratitis por *Acanthamoeba* (QA). A- QA en estadios tempranos que muestra opacidades epiteliales; B- QA en estadios tempranos con una epiteliopatía pseudodendrítica; C- Infiltrados perineurales en el estroma en una QA temprana; D- Limbitis en una QA temprana; E- sitio de la biopsia corneal de 3 mm en una QA, que también presenta un infiltrado en anillo; F- Infiltrado en anillo y escleritis severa en una QA avanzada.

El diagnóstico de laboratorio se basa principalmente en el análisis de las muestras tomadas de la córnea mediante raspado o biopsia, así como de las muestras de líquido de conservación y de las propias lentes de contactos.<sup>(5,6)</sup>

Es preciso realizar una visión en fresco de las muestras previas a la tinción de Gram, Giemsa y calcoflúor blanco. La visión en fresco permite observar trofozoitos y quistes; el Gram también permite visualizar otros agentes etiológicos, como bacterias y hongos, que acompañan a la infección amebiana. La tinción de Giemsa tiñe de azul los trofozoitos, mientras que los quistes aparecen refringentes (Fig. 4). Cuando se usa la tinción de calcoflúor blanco los quistes de *Acanthamoeba*, al igual que los hongos, aparecen con fluorescencia verde manzana.<sup>(3-6)</sup>



Tomado de: Gertiser ML, Giagante E, Sgattoni E, Basabe N, Rivero F, Luján H, et al. Queratitis por *Acanthamoeba* sp.: primer caso confirmado por aislamiento y tipificación molecular en Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2010;42:122).

**Fig. 4** - a) Trofozoitos de *Acanthamoeba* en fresco, b) aislados de la biopsia y del líquido de lavado, c) trofozoitos aislados de la biopsia teñidos con Giemsa, d y e) quistes de *Acanthamoeba* en fresco.

Cuando los resultados obtenidos por microscopia son negativos y existe una fuerte sospecha clínica de queratitis amebiana, se cultivan las muestras en un medio preparado con agar no nutritivo, al que se le añade en su superficie enterobacterias del tipo de *Escherichia coli* o *Enterobacter aerogenes*. La placa se incuba a 22 y 37 °C durante 48 horas antes de hacer la primera lectura con un microscopio óptico a un aumento de 100x. El seguimiento de las placas se suele mantener durante 2 semanas, ya que en este tiempo los quistes se exquisitan y los trofozoitos se multiplican activamente. Los cultivos son positivos en el 60 % de los casos, aproximadamente con una mayor frecuencia en fases iniciales.<sup>(5,7,8)</sup>

Si las muestras tomadas por raspado son negativas y la respuesta clínica al tratamiento es mala, se realiza una biopsia corneal; cuando no existe una zona amplia de ulceración, se utiliza un trépano de 3 mm para marcar un área que queda fuera del eje visual y se toma una biopsia corneal laminar con un cuchillete de Paufigue. Si existe una zona extensa de necrosis hística, se extirpa incluyendo algo de tejido sano en los bordes. La biopsia de exéresis facilita la epitelización y proporciona una muestra de buen tamaño, lo que permite confirmar el estado de la infección. Esto resulta particularmente útil antes de proceder a una queratoplastia.<sup>(2,3)</sup>

La inmunotinción con inmunoperoxidasa utilizando un anticuerpo policlonal para *Acanthamoeba* es el método de elección. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite realizar el diagnóstico con muestras pequeñas, y aunque incrementa la sensibilidad diagnóstica, requiere de laboratorios especializados.<sup>(9,10,11)</sup> En la actualidad, disponemos de otras técnicas diagnósticas alternativas como la citología de impresión y la microscopia confocal.<sup>(12)</sup>

La citología de impresión es una técnica no invasiva que permite recoger 1 o 2 capas más externas del epitelio de la superficie ocular: conjuntival bulbar, limbar y corneal, mediante la aplicación de unas tiras de papel de Millipore tras instilar colirio anestésico. Las tiras con las muestras tomadas se colocan sobre un portaobjetos y se fijan en etanol al 96 %. La tinción más habitual se realiza con PAS-hematoxilina. Permite diagnosticar el estado del limbo y la córnea antes de un trasplante limbar y su seguimiento, en tumores superficiales, para el diagnóstico diferencial de enfermedades autoinmunitarias (síndrome de Sjögren, penfigoide cicatricial, etc.), y para conocer el componente lagrimal deficitario, diagnosticar el tipo de conjuntivitis y evaluar el estado de la superficie ocular en pacientes con tratamientos tópicos y sistémicos crónicos. Se ha estudiado su uso en el diagnóstico de queratitis por *Acanthamoeba* en pacientes con cultivo positivo en EE.UU. En todos se demostró la existencia de quistes, e incluso algunos mostraron trofozoitos; por eso los autores proponen esta técnica para facilitar el diagnóstico precoz.<sup>(5,13)</sup>

El microscopio confocal obtiene imágenes ópticas de tejidos vivos de forma no invasiva. Fue desarrollado por *Marvin Minsky* en el año 1955 para estudiar las redes neuronales en el cerebro humano. El principio en el que se fundamenta es en la coincidencia de una fuente de luz emisora con el lente objetivo del microscopio y se enfoca en un área pequeña de tejido,

lo que evita la difusión de la luz, y con esto se obtiene una alta resolución lateral y axial. Permite determinar la existencia de distrofias corneales, infecciones (bacterias, hongos y amebas) y evalúa el estado endotelial mejor que el microscopio especular cuando la córnea está edematosa o turbia. Además de realizar el diagnóstico precoz en sospecha de queratitis por *Acanthamoeba*, esta técnica también es útil en casos en que la córnea ha sido sometida a múltiples tratamientos que podrían alterar el resultado de los cultivos y donde el pésimo estado corneal no permite obtener muestras suficientes para el diagnóstico de laboratorio.<sup>(14,15,16,17,18,19)</sup>

Su tratamiento se fundamenta en las biguanidas y las diamidinas (tópicas) como quisticidas, y son los antiamebianos más eficaces en la queratitis por *Acanthamoeba*.<sup>(10-11)</sup> Se empieza administrando una combinación de estas gotas en colirio cada hora, día y noche, durante 48 horas. En las 72 horas siguientes se sigue administrando una gota cada hora solo durante el día. Es aconsejable realizar un tratamiento inicial intensivo, porque los microorganismos pueden ser más sensibles antes de que los quistes hayan madurado del todo. Son frecuentes las reacciones tóxicas si se mantienen dosis tan altas, por lo que se reduce la frecuencia a una gota cada 3 horas y luego se adapta a cada caso en particular.<sup>(10,11,12,13)</sup>

Entre las diamidinas disponibles se cuentan el isetionato de propamidina y la hexamidina. Las dos biguanidas que se utilizan son la polihexametilénbiguanida (PHMB) al 0,02 % y la clorhexidina al 0,02 %. Se han descrito casos de fracaso del tratamiento a pesar de la sensibilidad *in vitro* al antiamebiano y al uso de preparaciones tópicas en dosis 200 veces superiores a la concentración quisticida mínima.<sup>(10,11,12,13)</sup>

Otros medicamentos antiamebianos por vía tópica son algunos aminoglucósidos, como la neomicina y la paromomicina. Los imidazoles, como el miconazol al 1 %, y el clotrimazol al 1 %.<sup>(34)</sup> Puede que el itraconazol por vía oral tenga algún efecto. La neomicina se utiliza mucho, pero es muy común que los quistes sean resistentes *in vitro*. La propamidina y los aminoglucósidos son tóxicos y a menudo dan lugar a una úlcera corneal tórpida que puede atribuirse erróneamente a la actividad de la enfermedad. Este es un problema particular en la queratitis amebiana, por el curso prolongado de la enfermedad y la lenta respuesta clínica al tratamiento.<sup>(14,15,16,17,18,19,20,21,22,23)</sup>

El uso de los corticoides es objeto de controversia. El tratamiento con estos medicamentos no es necesario en los casos iniciales que pueden responder rápidamente a los

antiamebianos. Sin embargo, si la inflamación persistente puede mejorar de manera espectacular con la adición de dosis bajas de corticoides tópicos, por ejemplo prednisolona al 0,5 % cuatro veces al día. Este tratamiento no se inicia hasta haber terminado dos semanas de administración de antiamebianos, cuando deben haberse eliminado la mayoría de los microorganismos. En caso de inflamación intensa, puede ser necesario administrar dosis más altas de corticoides en cualquier momento de la enfermedad, así como dexametasona al 0,1 %. El tratamiento con corticoides es compatible con la curación médica siempre y cuando sigan administrándose antiamebianos durante todo el tiempo indicado y varias semanas después de haberlo retirado. No deben suspenderse los corticoides tópicos hasta que la actividad inflamatoria desaparezca por completo. Los antiamebianos deben mantenerse durante 4-6 semanas después de haber retirado los corticoides, a un ritmo de cuatro aplicaciones diarias. Probablemente esto sea necesario para controlar el recrudescimiento de la infección activa a partir de quistes viables. Los signos persistentes de inflamación corneal en forma de infiltrados estromales gruesos, sin síntomas, pueden pasarse por alto y no necesitan tratamiento. Posiblemente sea una respuesta del huésped a antígenos amebianos residuales en quistes no viables.<sup>(14,15,16,17,18,19,20,21,22,23)</sup>

En el tratamiento de la limbitis se utiliza flurbiprofeno (AINE) 50-100 mg dos o tres veces al día por vía oral. Para la escleritis si no mejora con el flurbiprofeno, pueden administrarse corticoides en dosis altas (prednisolona, 80 mg/día), a veces con ciclosporina por vía general (37,5 mg/kg/día), para controlar el proceso. En estos casos puede resultar de ayuda completar el tratamiento con el antiamebiano itraconazol por vía general. Sin este tratamiento antiinflamatorio, puede que haya que proceder a una inyección retrobulbar de alcohol o a la enucleación para aliviar los síntomas. El tratamiento antiamebiano intensivo por vía tópica, por sí solo y sin tratamiento inmunosupresor, causa queratopatía tóxica y exagera la inflamación corneal y escleral.<sup>(14,15,16,17,18,19,20,21,22,23)</sup>

La queratoplastia puede ser necesaria para la rehabilitación visual tras queratitis por *Acanthamoeba*, en caso de cicatrices corneales o astigmatismo corneal irregular. Es obligatorio esperar hasta haber conseguido la curación médica, salvo que se produzca un absceso corneal fulminante, una perforación o una infección grave de un injerto reciente, porque el pronóstico del injerto es mejor en pacientes en los que la enfermedad está inactiva. Esto a veces requiere un tratamiento médico de hasta dos años de duración.<sup>(24,25,26,27)</sup>

Las recurrencias son muy frecuentes en las primeras dos semanas después de la intervención. El tratamiento antiamebiano debe prolongarse en el posoperatorio con fármacos y dosis que minimicen o eviten los signos de toxicidad. El tratamiento inicial posqueratoplastia requiere PHMB al 0,02 % entre 6 y 8 veces al día con un nivel suficiente de corticoides tópicos para controlar la inflamación. Este tratamiento debe mantenerse durante 3 semanas como mínimo, mientras se esperan los resultados del cultivo del espécimen de queratectomía del huésped; se divide este espécimen para histología y para cultivo en el momento de la intervención.<sup>(24,25,26)</sup>

Si se cultivan amebas viables a partir del espécimen de queratectomía, es prudente seguir administrando el tratamiento antiamebiano 4 veces al día, al tiempo que se necesitan dosis altas de corticoides durante 6 meses después de la intervención, ya que se han dado casos de recidiva de la queratitis por *Acanthamoeba* hasta 3 meses después de una queratoplastia inicialmente exitosa. Si el cultivo de la córnea extirpada al huésped es negativo al cabo de 3 semanas, admitimos que la mayor parte de las amebas viables han sido eliminadas con el tratamiento y reducimos gradualmente la administración tópica del antiamebiano para luego suspenderla al cabo de 1-3 meses.

Puede ser necesaria una inmunosupresión por vía sistémica con prednisolona (40-80 mg diarios), y con ciclosporina en el posoperatorio temprano de la queratoplastia para controlar la inflamación y prevenir el aflojamiento de la sutura, así como el rechazo del injerto.<sup>(21,22,23,24,25,26)</sup>

Otro tratamiento alternativo que actualmente se está teniendo en cuenta con buenos resultados es la terapia combinada de riboflavina y luz ultravioleta para aquellos casos resistentes al tratamiento médico habitual.<sup>(27,28)</sup>

Otro grupo de fármacos recientemente estudiados son las estatinas, que junto al voriconazol han demostrado un efecto fungicida, por los cambios que generan sobre la membrana amebiana, y han inducido apoptosis celular, e incluso activación de las caspasas-3 que presentan acción directa sobre la fragmentación del ADN amebiano.<sup>(29,30,31,32)</sup>

Los fármacos actualmente utilizados, que aún se encuentran a estudio, se han ido desarrollando sobre la base del conocimiento en profundidad de la patología y predicen un futuro terapéutico individualizado.<sup>(29,30,31,32)</sup>

El pronóstico en la actualidad se asocia a un mal pronóstico de diagnóstico tardío, erróneo o un tratamiento antimicrobiano inadecuado, el empleo de corticoides tópicos antes del diagnóstico o la presencia de resistencia a la terapéutica. Un tratamiento inicial inadecuado da lugar al enquistamiento, el cual deriva, a su vez, en resistencia al tratamiento y dificultades para erradicar la infección. La necesidad de una queratoplastia terapéutica u óptica se ha reducido mucho como consecuencia del desarrollo de protocolos para el tratamiento médico.<sup>(29-30)</sup>

En la prevención es preciso ocuparse especialmente de utilizar soluciones comerciales de suero fisiológico estéril. No debe utilizarse el agua del grifo. El cuidado del estuche de las lentes de contacto debe comprender la limpieza y el frotado periódico de todas las superficies internas con el limpiador de las lentes de contacto. Desinfectar con regularidad el estuche con agua muy caliente ayudará a matar los trofozoitos y los quistes. Una vez desinfectado, debe dejarse secar al aire. Las lentes de contacto deben desinfectarse con un sistema suficientemente eficaz.<sup>(31,32,33,34,35)</sup> La prevención en pacientes inmunodeprimidos es más difícil. A pesar de esto es conveniente la inspección periódica de estanques, filtros de aire, cañerías, entre otros.<sup>(31,32,33,34,35)</sup>

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gómez Marín JE. Protozoología Médica. Bogotá: Manual Moderno; 2010. p. 173-83.
2. Sarría Pérez CA. Amebas de vida libre. En: Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo JL, editores. Microbiología y Parasitología Médicas. Tomo III. Capítulo 85. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. p. 125-30.
3. Kanski JJ. Oftalmología Clínica. Editorial Harcourt; 2000;4:93-4.
4. Stehr-Green JK, Bailey TM, Visvesvara GS. The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *Am J Ophthalmol.* 1989;107:331-6.
5. Dart JK, Saw VP, Kilvington S. *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis and treatment update. *Am J Ophthalmol.* 2009;148:487-99.

6. Vivesvara GS. Pathogenic and opportunistic free-living amebae. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover FC, Tenover FC, editores. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press; 1995;1195-203.
7. John KJ, Head WS, Robinson RD, Williams TE, O'Day DM. Examination of the contact lens light microscopy: an aid in diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis. Rev Infect Dis. 1991;13:S425.
8. Radford CF, Minassian DC, Dart JKG. Disposable contact lens use as a risk factor for microbial keratitis. Br J Ophthalmol. 1998;82:1272-5.
9. Pfister DR, Cameron JD, Krachmer JH, Holland EJ. Confocal microscopy findings of *Acanthamoeba* keratitis. Am J Ophthalmol. 1996;121:119-28.
10. Gertiser ML, Giagante E, Sgattoni E, Basabe N, Rivero F, Luján H, et al. Queratitis por *Acanthamoeba* sp.: primer caso confirmado por aislamiento y tipificación molecular en Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2010;42:122-5.
11. Ledee DR, Hay J, Byers TJ, Seal DV, Kirkness CM. *Acanthamoeba griffini*. Molecular characterization of a new corneal pathogen. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1996;37:544-50.
12. Claerhout I, Goegebuer A, Van Den Broecke C, Kestelyn P. Delay in diagnosis and outcome of *Acanthamoeba* keratitis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2004;42:648-53.
13. Hammersmith KM. Diagnosis and management of *Acanthamoeba* keratitis. Curr Opin Ophthalmol. 2006;17:327-31.
14. Pasricha G, Sharma S, Garg P, Aggarwal RK. Use of 18S rRNA gene-based PCR assay for diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis in non-contact lens wearers in India. J Clin Microbiol. 2003;41:3206-11.
15. Petri WA, Ravdin JL. Free-living amebae. En: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, editores. Principles and practice of infectious disease. NY: Churchill Livingstone Inc.; 1997;2049-56.

16. Chew SJ, Beuerman RW, Assouline M, Kaufman HE, Barron BA, Hill JM. Early diagnosis of infectious keratitis with in vivo real time confocal microscopy. *CLAO J.* 1992;18:197-201.
17. Mastropasqua L, Nubile M. Normal Corneal Morphology. En: *Confocal Microscopy of the cornea.* Italy: University G. D'Annungio. Slack Incorporating; 2002:7-14.
18. Baudouin C, Bourcier T, Dupas B, Labbé A, Sonigo B. Principes techniques de la microscopie confocale. *Les Cahiers d'ophtalmologie.* 2007;110:16.
19. Shiraishi A, Uno T, Oka N, Hara Y, Yamaguchi M, Ohashi Y. *In vivo* and *in vitro* laser confocal microscopy to diagnose *Acanthamoeba* keratitis. *Cornea.* 2010;29:861-5.
20. Vaddavalli PK, Garg P, Sharma S, Sangwan VS, Rao GN, Thomas R. Role of confocal microscopy in the diagnosis of fungal and *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology.* 2001;118:29-35.
21. Lim N, Goh D, Bunce C, Xing W, Fraenkel G, Poole TR, Ficker L. Comparison of polyhexamethylene biguanide and chlorhexidine as monotherapy agents in the treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *Am J Ophthalmol.* 2008;145:130-5.
22. Larkin DFP, Kilvington S, Dart JKG. Treatment of *Acanthamoeba* keratitis with topical polyhexamethyl biguanide. *Ophthalmology.* 1992;99:185-91.
23. Sharma S, Garg P, Rao GN. Patient characteristics, diagnosis and treatment of non-contact lens related *Acanthamoeba* keratitis. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:1103-8.
24. Qian Y, Meisler DM, Langston RH, Jeng BH. Clinical experience with *Acanthamoeba* keratitis at the Cole eye institute, 1999–2008. *Cornea.* 2010;29:1016-21.
25. Mutoh T, Ishikawa I, Matsumoto Y, Chikuda M. A retrospective study of nine cases of *Acanthamoeba* keratitis. *Clin Ophthalmol.* 2010;4:1189-92.
26. Kashiwabuchi RT, de Freitas D, Alvarenga LS, Vieira L, Contarini P, Sato E, et al. Corneal graft survival after therapeutic keratoplasty for *Acanthamoeba* keratitis. *Acta Ophthalmol.* 2008;86:666-9.

27. Kitzmann AS, Goins KM, Sutphin JE, Wagoner MD. Keratoplasty for treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology*. 2009;116:864-9.
28. Khan YA, Kashiwabuchi RT, Martins SA, Castro-Combs JM, Kalyani S, Stanley P, et al. Riboflavin and ultraviolet light a therapy as an adjuvant treatment for medically refractive *Acanthamoeba* keratitis: report of 3 cases. *Ophthalmology*. 2011;118:324-31.
29. Espinosa Barberi, Miranda Fernández, Tandon Cárdenes. Nuevos tratamientos para la queratitis por *Acanthamoeba*: revisión de casos clínicos. *Arch. Soc. Canar. Oftal*. 2017;28:110-5.
30. Martín-Navarro Carmen M. López-Arencibia Atteneri, Sifaoui Ines. Statins and voriconazol induce programmed cell death in *Acanthamoeba castellanii*. *Antimicrob Agents Chemoter*. 2015;59:2817-24.
31. Lorenzo-Morales J, Khan Naveed A, Walochnik J. An update on *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite*. 2015;22:10.
32. Martín-Navarro CM, López Arencibia A, Arnalich-Montiel F. Evaluation of the *in vitro* activity of commercially available moxiflocin and voriconazol eye-drops against clinical strains of *Acanthamoeba*. *Arch Clin Exp Ophtalmol*. 2013;251:2111-7.
33. Shi W, Liu M, Gao H, Li S, Xie L. Perioperative treatment and prognostic factors for penetrating keratoplasty in *Acanthamoeba* keratitis unresponsive to medical treatment. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009;247:1383-8.
34. Kandori M, Inoue T, Shimabukuro M, Hayashi H, Hori Y, Maeda N, et al. Four cases of *Acanthamoeba* keratitis treated with phototherapeutic keratectomy. *Cornea*. 2010;29:1199-1202.
35. Gopinathan U, Sharma S, Garg P, Rao GN. Review of epidemiological features, microbiological diagnosis and treatment outcome of microbial keratitis: Experience of over a decade. *Indian J Ophthalmol*. 2009;57:273-9.

### Conflicto de intereses

Los autores del presente artículo declaran que no tienen conflicto de intereses.