

Vo Bo 11234
41
E52



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudios de Postgrado

Hospital Oftalmológico de Ntra. Sra. de la Luz

"AISLAMIENTO DE ACANTHAMOEBA EN LENTES DE CONTACTO, ESTUCHES Y SOLUCIONES PRESERVADORAS DE USUARIOS DEL DEPARTAMENTO DE LENTES DE CONTACTO DEL HOSPITAL OFTALMOLOGICO DE NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ"

T E S I S

Que para obtener el Diploma en la
Especialidad de Cirujano Oftalmólogo
p r e s e n t a

DRA. MARIA HILDA RENTERIA GARCIA

Asesor: Dra. Enedina Jiménez Cardoso
Dr. Humberto Wong Chavarría

México, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	PAG.
1.- INTRODUCCION	1
2.- OBJETIVOS	13
3.- MATERIAL Y METODOS	14
3.1.- MEDIOS DE CULTIVO	14
3.2.- REACTIVOS Y SOLUCIONES	15
3.3.- EQUIPO DE LABORATORIO	16
3.4.- MUESTREO	16
3.5.- AISLAMIENTO DE LAS AMIBAS	17
3.6.- IDENTIFICACION	17
3.7.- CULTIVOS	18
4.- RESULTADOS	20
5.- DISCUSION	27
6.- CONCLUSIONES	31
7.- BIBLIOGRAFIA	33

I N T R O D U C C I O N

DESDE QUE EN 1755 ROSEL VON ROSENHOF¹ DESCRIBIÓ UN MICROORGANISMO AMEBOIDEO UNICELULAR DE APROXIMADAMENTE 200 MICRAS DE LARGO, EL CUAL ERA VISTO A SIMPLE VISTA, Y NOMBRADO POR LINNE² EN 1758 VOLVOX CHAOS, EL CUAL MOSTRABA CAMBIOS EN SU ASPECTO POR LO QUE SE APLICÓ EL NOMBRE DE PROTEUS. UN SIGLO DESPUÉS DUJARDIN³ EN 1841 FUÉ EL PRIMERO EN DESCRIBIR UNA AMIBA LIMAX, MICROORGANISMO UNICELULAR, LA CUAL OBSERVÓ EN 1836 EN AGUAS DEL RIO SENA. MAS TARDE PAGE⁴ DESCRIBE AMIBAS DE AGUA DULCE ENGLOBALANDOLAS EN EL RUBRÓ DE LIMAX HARTMANNELLA; ÉSTA AMIBA ENCONTRADA TAMBIÉN POR PENARD⁵ EN 1890 Y POR CASH Y HOPKINSON⁶ EN 1905.

EN 1900 DANGEARD DESCRIBE UNA AMIBA CON MITOSIS COMÚN, DENOMINÁNDOLA AMIBA HYALINA. WALKER⁷ EN 1908 HIZO UN ESTUDIO DETALLADO DE AMIBAS DE VIDA LIBRE DESCRIBIÉNDO 38 VARIETADES DE ELLAS QUE AHORA SE CONOCEN. EN 1930 CASTELLANI⁸ MENCIONÓ LA PRESENCIA DE UNA AMIBA ESPECIAL EN CULTIVOS DE CRYPTOCOCCUS PARAROSEUS. DOUGLAS CLASIFICÓ ESTA AMIBA COMO ALEXEIEFFI HARTMANNELLA, CASTELLANI PASO ESTA CEPA EN EL VOLKONSKY QUIEN LA CLASIFICÓ EN EL SUBGRUPO DE ACANTHAMOEBA HARTMANNELLA.

EPIDEMIOLOGICAMENTE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE SON COSMOPOLITAS, PUEDEN PROPAGARSE POR EL SUELO, EL AGUA Y LA ATMÓSFERA; ASÍ COMO EN EL TRACTO DIGESTIVO DE MAMÍFEROS, AVES Y PECES, PASANDO DE UN HUÉSPED A OTRO; PUDIENDO SER MUY VIRULENTAS⁹ O TENER VECTORES, SIENDO VEHICULOS PERFECTOS

LAS ALBERCAS Y CASAS CON PISO DE TIERRA.

LAS AMIBAS SE ENCUENTRAN TANTO EN LA NATURALEZA, LOS RÍOS O LAGOS ASÍ COMO TAMBIÉN EN EL AGUA POTABLE. DE ACUERDO A UN ESTUDIO REALIZADO POR RONDANELLI¹⁰ Y COLABORADORES EN MUESTRAS DE AGUA POTABLE DE TODO EL MUNDO, ENCONTRÓ QUE EL 10% DEL TOTAL DE LA MUESTRA CONTENÍA AMIBAS.

LA PATOGENICIDAD DE ÉSTAS AMIBAS HA SIDO CLARAMENTE ESTABLECIDA POR CERVA¹¹ EN AGUAS DE ALBERCAS. RONDANELLI Y COLABORADORES HAN AISLADO CEPAS DE ACANTHAMOEBA CASTELLANI DE ALBERCAS ALGUNAS PATÓGENAS PARA EL RATÓN¹², OBSERVÁNDOSE TAMBIÉN PATOGENICIDAD DE ÉSTAS EN HUMANOS¹³.

ARMSTRONG Y PEREIRA AISLARON ACANTHAMOEBA CASTELLANII EN CULTIVOS DE TEJIDOS INOCULADOS POR LO QUE FUERON LLAMADOS VIRUS RYAN¹⁴.

RONDANELLI ESTUDIO EL TRACTO GASTROINTESTINAL HUMANO¹⁵ AISLANDO 3 CEPAS DE VAHLKAMPFIA SP. Y 6 DE ACANTHAMOEBA SP. CARTER EN UNA PREPARACIÓN DE APÉNDICE HUMANO MOSTRÓ ACANTHAMOEBA. ESTO ES INTERESANTE PORQUE LOS PAJAROS Y LOS ROEDORES VISITAN FRECUENTEMENTE EL AGUA ALMACENADA DE LOS TUBOS. ANIMALES DE SANGRE FRIA COMO SERPIENTES, RANAS Y TORTUGAS TAMBIÉN LLEVAN AMIBAS Y PUEDEN SER CONTAMINANTES. ESTE FACTOR FUE ESTABLECIDO POR BOVEE¹⁶ Y COLABORADORES, FRANK Y BOSCH¹⁷ Y FRANCK¹⁸. DWIVEDI Y SINGH¹⁹ AISLARON ACANTHAMOEBA SP., DE INFECCIONES PULMONARES EN GANADO DE LA

INDIA, MACCONNEL Y KING²⁰ CONFIRMARON ESTA INVESTIGACION. AYERS KLY Y COLABORADORES²¹ AISLARON ACANTHAMOEBA SP. DE MÚLTIPLES FOCOS HEMORRÁGICOS EN UN PERRO PASTOR. RICHARDS²² LA NOTIFICÓ EN ALGUNOS MOLUSCOS. RODANELLI¹⁰ ENCONTRÓ ALGUNAS EN OSTIONES. ASÍ QUE ES UN HECHO QUE LA AMIBA PUEDE PROSPERAR EN CUALQUIER LUGAR TENIENDO CONTACTO CON HOMBRES Y ANIMALES. ASÍ ALEXEIEIEFF²³ LO NOTIFICÓ EN 1912, LA AMIBA PUEDE VIVIR EN CUALQUIER LUGAR CON LA BACTERIA.

RONDANELLI¹⁰ EN MUESTRAS DE AGUA DE ALBERCAS GUARDADAS POR 3 AÑOS OBSERVÓ QUE NO SÓLO LOS QUISTES PODIAN RECOBRAR SU FORMA TROFOZOÍTICA, SINO QUE LIBERAN MICOBACTERIA EN LA CUAL ELLAS SE HOSPEDABAN, ÉSTO HACE QUE SEAN MÁS PELIGROSAS COMO VECTORES.

TODO ESTÓ EXPLICA PORQUE LA ACANTHAMOEBA PUEDE ENCONTRARSE EN SOLUCIONES SALINAS Y LENTES DE CONTACTO EN SUS DOS FASES. LA PRIMERA ASOCIACIÓN ENTRE QUERATITIS POR ACANTHAMOEBA Y EL USO DE LENTES DE CONTACTO FUE HECHA EN 1984²⁴, AUMENTANDO SU INCIDENCIA EN AÑOS SIGUIENTES A 1985²⁵ Y POSTERIORMENTE EL CENTRO DE CONTROL DE ENFERMEDADES DE LOS E.U. REPORTÓ 208 CASOS DE QUERATITIS POR ACANTHAMOEBA DE 1973-1988, SIENDO EL 85% EN USUARIOS DE LENTES DE CONTACTO; PERSONAS QUE PREPARABAN EN FORMA CASERA SU SOLUCIÓN SALINA²⁶, CON AGUA DESTILADA Y TABLETAS DE SAL²⁷.

LOS QUE NO PREPARABAN SOLUCIONES CASERAS, TENIAN EL ANTECEDENTE DE HABER ADQUIRIDO LA INFECCIÓN POSTERIOR A LA

UTILIZACIÓN DE SUS LENTES DE CONTACTO ESTANDO EN ALBERCAS, LAGOS, TINAS Ó SECUNDARIO A TRAUMA CORNEAL²⁸.

TAMBIÉN SE HA ASOCIADO LA QUERATITIS POR ACANTHAMOEBA A LENTES DE CONTACTO RIGIDOS, PERMEABLES AL GAS Y MIXTOS RIGIDOS E HIDROFILICOS^{29,30,31,32}.

LA TAXONOMIA DE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE NO HA SIDO BIEN ESTABLECIDA. LOS DOS GÉNEROS QUE SE CONOCEN CONTIENEN ESPECIES PATÓGENAS Y PERTENECEN A DOS DIFERENTES FAMILIAS.

LA DIFERENCIA DE ESPECIES EN EL GÉNERO ACANTHAMOEBA HA PERMANECIDO EN UN ESTADO DE PROLIFERACIÓN POR AÑOS Y MUCHAS DESCRIPCIONES HAN SIDO BASADAS EN DIFERENCIAS MORFOLÓGICAS MENORES. EL USO DE TÉCNICAS MÁS REFINADAS, TALES COMO ANÁLISIS ISOENZIMÁTICO HA MOSTRADO ALGUNOS SINONIMIAS EN LAS ESPECIES, MIENTRAS QUE OTRAS CEPAS PERTENECEN A ESPECIES INDEFINIDAS.

LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE DE TIPO TERMÓFILO, SON CONOCIDAS COMO AMIBAS LIMAX DEBIDO A LA FORMA DE MOVIMIENTO QUE PRESENTAN EN FORMA LIMACOIDE.

SON AMIBAS TÍPICAMENTE UNINUCLEADAS, NO PRESENTAN VERDADERO FLUJO BIDIRECCIONAL DEL CITOPLASMA Y NO ES CONOCIDO EL ESTADO FLAGELAR; EMITEN VARIAS O MUCHAS FINAS Y FLEXIBLES PROYECCIONES CITOPLASMÁTICAS LLAMADAS ACANTOPODIOS QUE LES SIRVEN PARA ADHERIRSE AL SUSTRATO Y PARA SU DESPLAZAMIENTO, SE REPRODUCEN POR MITOSIS COMÚN.

PRESENTAN 2 FASES EN SU CICLO DE VIDA, EL ESTADO DE TROFOZOÍTO DURANTE EL CUAL SE ALIMENTAN Y REPRODUCEN Y EL ESTADO DE QUISTE O FORMA DE RESISTENCIA A CONDICIONES ADVERSAS DEL MEDIO.

EL TROFOZOÍTO TIENE UN DIÁMETRO DE 15 A 40 MILIMICRAS. SU SUPERFICIE CELULAR ES IRREGULAR POR LA PRESENCIA DE LOPOPODIOS ALREDEDOR DE 1 Ó 2 MILIMICRAS DE DIÁMETRO Y ALGUNOS ACANTOPODIOS QUE SON PROYECCIONES DE LOS ANTERIORES. UNA MEMBRANA (PLASMALEMMA) DE 9 NANÓMETROS DE GROSOR LIMITA LA CÉLULA. DEBAJO DEL PLASMALEMMA UNA CORTEZA ECTOPLÁSMICA SE DIFERENCIA CLARAMENTE DEL ENDOPLASMA. LA CORTEZA, LOPOPODIOS Y ACANTOPODIOS CONSISTEN DE ORGANELOS LIBRES HYALOPLÁSMICOS QUE CONTIENEN PARTÍCULAS GLICÓGENAS, RIBOSOMAS, HACES DE FILAMENTOS Y MICROVESÍCULAS. EL SISTEMA CITOMEMBRANOSO CONTIENE EL APARATO DE GOLGI FORMADO POR 1 Ó 2 DICTIOSOMAS. EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO RUGOSO CONSTA DE CANALES TUBULARES DE 500 NANÓMETROS DE LONGITUD. ALREDEDOR DEL NÚCLEO Y LA CISTERNA ELONGADA. EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO LISO CONSISTE DE ELEMENTOS VESICULARES. UNA VACUOLA CONTRÁCTIL ÚNICA Y EXCÉNTRICA. VACUOLAS DIGESTIVAS DE 1 A 3 MILIMICRAS LAS CUALES VARIAN EN TAMAÑO Y SON NUMEROSAS. LA MITOCONDRIA ES ESFEROIDAL U OVOIDAL. PRESENTA CENTRIOLOS COMO SATÉLITES. INCLUSIONES CITOPLASMÁTICAS REPRESENTADAS POR DOS GRUPOS DE GLÓBULOS LÍPIDOS Y DE GRÁNULOS DE GLICÓGENO. SU NÚCLEO DE FORMA ESFEROIDAL ES DE 6.5 MILIMICRAS

DE DIÁMETRO ENVUELTO POR POROS DIAFRAGMÁTICOS DE 100 NANÓMETROS.

EL QUISTE CON UN DIÁMETRO DE 8 A 20 MILIMICRAS CONTIENE UNA PARED DE ESTRUCTURA COMPLEJA QUE CONSISTE EN UN EXOQUISTE DE 0.3 A 0.5 MILIMICRAS DE GROSOR FORMADA POR VARIAS CAPAS CONCENTRICAS DE MATERIAL FIBRILAR Y DE UN ENDOQUISTE GRANULO FILAMENTOSO DE 0.1 A 0.2 MILIMICRAS DE GROSOR. ESTE MUESTRA UNA LINEA EXTERNA POLIÉDRICA O ESTRELLADA SEPARADA DEL PLASMALEMA POR UNA BRECHA DELGADA. EL EXOQUISTE MUESTRA UN CONTORNO FESTONEADO SEPARADO DEL ENDOQUISTE POR UN ESPACIO ANCHO Y REGULAR, ELECTROTRANSPARENTE EN CORRESPONDENCIA DE LOS OSTIOLES. EN ESTAS REGIONES EXO Y ENDOQUISTE COALESCEN Y FORMAN EL BORDE DE LOS OSTIOLES LOS CUALES ESTÁN CUBIERTOS POR UNA CAPA EXOQUISTICA Y POR UN OPÉRCULO. DURANTE ESTADIOS TEMPRANOS DE ENQUISTAMIENTO SE OBSERVA UNA CORTEZA HYALOPLÁSMICA LA CUAL DESAPARECE EN EL QUISTE MADURO.

EL SISTEMA CITOMEMBRANOSO COMPUESTO DE APARATO DE GOLGI, RETÍCULO ENDOPLÁSMICO RUGOSO, VACUOLA CONTRÁCTIL, VACUOLAS DIGESTIVAS. LA MITOCONDRIA DESAPARECE EN EL QUISTE MADURO. CONTIENE ADEMÁS INCLUSIONES CITOPLASMÁTICAS Y UN NÚCLEO CON DIÁMETRO DE 5.5 MILIMICRAS EN CUYO INTERIOR SE ENCUENTRA UN NÚCLEOLO DE 1.5 MILIMICRAS. PRESENTAN ENQUISTAMIENTO POR REMOSIÓN DEL OPÉRCULO AL PUNTO DE CONTACTO ENTRE ENDO Y ECTOQUISTE.

LA ACANTHAMOEBA PERTENECE AL REINO PROTISTA, SUBREINO PROTOZOA, PHYLUM SARCOMASTIGOPHORA, SUBPHYLUM SARCODINA, SUPERCLASE RHIZOPODA, CLASE LOBOSEA, SUBCLASE GYMNAMOEBA, ORDEN AMOEBIDA, SUBORDEN ACANTHAPODINA, FAMILIA ACANTHAMOEBIDAE, GÉNERO ACANTHAMOEBA.

LAS AMIBAS DEL GÉNERO ACANTHAMOEBA SON FÁCILMENTE RECONOCIDAS PERO LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES ES MÁS DIFÍCIL. LAS CEPAS RELACIONADAS SON ENGLOBALADAS BAJO EL NOMBRE GENÉRICO DE HARTMANNELLA, ACANTHAMOEBA Y MAYORELLA, PERO PAGE⁵⁵ UNA VEZ MÁS A TODAS LAS REDEFINIÓ CON EL GÉNERO ACANTHAMOEBA. MIENTRAS QUE SAWYER Y GRIFFIN³⁴ PROPUSIERON LA FAMILIA ACANTHAMOEBIDAE PARA AMIBAS CON LAS CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO ACANTHAMOEBA.

AHORA LA FAMILIA ACANTHAMOEBIDAE COMPRENDE 3 GÉNEROS: ACANTHAMOEBA, COMANDONIA Y PROTOACANTHAMOEBA.

PARA IDENTIFICAR LAS DIFERENTES ESPECIES DE ACANTHAMOEBA PUSSARD Y PONS PROPONEN LA IDENTIFICACIÓN DE LA MORFOLOGÍA DEL QUISTE, Y ASÍ SE HAN PROPUESTO 3 GRANDES GRUPOS:

MORFOLOGICAMENTE EL GRUPO I COMPRENDE CEPAS DE ACANTHAMOEBA CON QUISTES DE DIÁMETRO PROMEDIO IGUAL O MAYOR DE 18 MILIMICRAS. EL QUISTE SE CARACTERIZA POR UN ENDOQUISTE ESTRELLADO RODEADO POR UN ECTOQUISTE MÁS O MENOS REDONDO. LAS CEPAS NO CRECEN A 37°C CON BACTERIAS Y SON DIFÍCILES DE CRECER BAJO CONDICIONES AXÉNICAS. ES CONSIDERADO NO PATOGENICO³⁵.

1.- ACANTHAMOEBA ASTRONYXIS. RAY Y HAYES 1954. EN ÉSTA ESPECIE LOS BRAZOS DEL ENDOQUISTE ESTAN CASI TODOS EN EL MISMO PLANO, EN NÚMERO MENOR DE 6³⁶.

2.- ACANTHAMOEBA COMANDONI. PUSSARD 1964. ESTAS ESPECIES TIENEN 6 A 9 BRAZOS EN EL ENDOQUISTE³⁶.

3.- ACANTHAMOEBA ECHINULATA. PUSSARD Y PONS 1977. EL NÚMERO DE BRAZOS EN EL ENDOQUISTE DE ÉSTA ESPECIE VARIA ENTRE 12 Y 14 SITUADOS EN DIFERENTES PLANOS³⁶.

LOS QUISTES DE LAS CEPAS PERTENECIENTES AL GRUPO II, SE CARACTERIZAN POR UN ENDOQUISTE ESTRELLADO, ONDULADO, TRIANGULAR O CUADRANGULAR CON UN CONTORNO SEGUIDO POR EL ECTOQUISTE. EL DIÁMETRO PROMEDIO DEL QUISTE ES MENOR DE 18 MILIMICRAS. ESTE GRUPO COMPRENDE MUCHAS ACANTHAMOEBAS SPP.

1.- ACANTHAMOEBA CASTELLANI. DOUGLAS 1930. VOLKONSKY 1931. ESTAS ESPECIES FUERON CONSERVADAS POR PAGE³⁷ EN 1967, EN BASE A LA MORFOLOGÍA DEL QUISTE. PARECE SIN EMBARGO QUE LA CEPA DE NEFF³⁸ LA CUAL ES MUY USADA NO CORRESPONDE EN ISOENZIMAS AL AISLAMIENTO ORIGINAL DE CULTIVOS FERMENTADOS³⁹. TIENE DIFERENTES PATRONES ISOENZIMÁTICOS Y DIFERENTES NIVELES DE PATOGENICIDAD^{40,41}.

3.- ACANTHAMOEBA POLYPHAGA. PUSCHKAREV 1913. PAGE 1967. ESTAS ESPECIES SEPARADAS DE CASTELLANI POR PAGE³⁷ SE BASAN EN EL NÚMERO DE BRAZOS DEL ENDOQUISTE³⁶. EN LA AISLACIÓN DE POLYPHAGA PAGE³⁷ ENCONTRÓ CEPAS TALES COMO P 23 EN LA CUAL

EL ECTOQUISTE ES MÁS DELGADO. PUSSARD Y PONS³⁶ SEPARARON ESTAS CEPAS Y LAS DIVIDIERON EN DOS ESPECIES DIFERENTES.

4.- ACANTHAMOEBA LUGDUNENSIS Y QUINA. PUSSARD Y PONS 1977. PUSSARD Y PONS³⁶ SEPARARON CEPAS CON PARED QUISTICA NO RETICULADA DE POLYPHAGA Y DIFERENCIARON CEPAS CON UN NÚMERO PROMEDIO DE BRAZOS EN EL ENDOQUISTE DE 7, NO MENORES DE 5, NOMBRÁNDOLAS LUGDUNENSIS Y QUINA RESPECTIVAMENTE. DE JONCKHEERE⁴² ENCONTRÓ LA ISOENZIMA Y PATRONES DE PROTEÍNAS TOTALES DE AMIBAS DE ESPECIES SIMILARES, TENIÉNDOLAS SEPARADAS DE CEPAS PATÓGENAS EN LUGDUNENSIS Y NO PATÓGENAS EN QUINA. EL TIPO DE ISOENZIMA DE LUGDUNENSIS-QUINA SE HA ENCONTRADO EN AISLACIONES PATOGÉNAS Y NO PATOGÉNAS DE ALDERCAS Y AGUAS DE POZO (DE JONCKHEERE).

5.- ACANTHAMOEBA RHYSODES. SINGH 1952. EN UN ESTUDIO DE JONCKHEERE⁴² INVESTIGÓ CEPAS DE RHYSODES CONSERVADAS POR PUSSARD Y PONS, ENCONTRÓ QUE SON DIFERENTES DE CASTELLANI PERO MÁS RELACIONADAS A DIVIONENSIS.

ACANTHAMOEBA DIVIONENSIS. PUSSARD Y PONS 1977. ESTAS ESPECIES DIFERENCIADAS DE PARADIVIONENSIS EN BASE AL NÚMERO DE BRAZOS EN EL ENDOQUISTE DOS³⁶. PATRONES DE PROTEÍNAS TOTALES DE ESPECIES PARADIVIONENSIS Y DIVIONENSIS FUERON IDÉNTICAS. POR LO QUE LA PRIMERA ES CONSIDERADA SINÓNIMO DE DIVIONENSIS. AUNQUE DIFERENTE EN VIRULENCIA³⁵ ÉSTAS ESPECIES ESTAN MÁS RELACIONADAS A RHYSODES CON LA CUAL FORMAN SUBGRUPO³⁶.

6.- ACANTHAMOEBA GRIFFINI, SAWYER 1971. ESTAS ESPECIES TIENEN UNA SALINIDAD⁴³ DEL 27%. EN ESTE MEDIO LOS QUISTES ESTRELLADOS SE OBSERVAN CON TINCIONES ESPECIALES SEGUN PUSSARD Y PONS³⁶ Y, LLEGARON A LA CONCLUSION DE QUE GRIFFINI ESTA MAS RELACIONADA A RHYSODES QUE A CASTELLANI Y POLYPHAGA. LA CEPA TIENE ISOENZIMAS EN CANTIDAD ÚNICA Y NO ES PATÓGENA PARA EL RATÓN³⁵.

7.- ACANTHAMOEBA TRIANGULARIS. PUSSARD Y PONS 1977. LA DESCRIPCIÓN DE ESTA ESPECIE ESTA BASADA EN UN NÚMERO MENOR DE 4 BRAZOS EN EL ENDOQUISTE³⁶. TIENE QUISTE TRIANGULAR Y SE ADAPTAN DIFÍCILMENTE A CRECIMIENTOS AXÉNICOS³⁵. NO ES PATÓGENA PARA EL RATÓN³⁵.

8.- ACANTHAMOEBA TUBIASHI. LEWIS Y SAWYER 1979. LOS QUISTES DE ESTA ESPECIE SON GRANDES, CON DIAMETRO PROMEDIO DE 22 MILÍMICRAS. ES DIFÍCIL DE ADAPTAR A CONDICIONES AXÉNICAS Y NO PUEDE SER COMPARADA POR EXÁMENES BIOQUÍMICOS.

9.- ACANTHAMOEBA HATCHETTI. SAWYER, VISVESVARA Y HARKE, 1977. SON DE AGUA DE MAR⁴⁴, SE RELACIONA MORFOLOGICAMENTE CON TRIANGULARIS, CRECE A 40°C, ES PATÓGENA PARA EL RATON Y TIENE ISOENZIMAS ÚNICAS. HA SIDO AISLADA DE AGUAS DE ALBERCAS, TRIANGULARIS TIENE LAS MISMAS ISOENZIMAS Y OTRAS CARACTERÍSTICAS DE HATCHETTI.

LOS QUISTES DE ACANTHAMOEBAS PERTENECIENTES AL GRUPO III SE CARACTERIZAN POR UN ENDOQUISTE MUY REDONDEADO, RODEADO POR UN ECTOQUISTE DELGADO, EL CUAL ALGUNAS VECES ES DIFÍCIL DE

DETECTAR. DE LAS 4 ESPECIES RECONOCIDAS EN ESTE GRUPO 3 SON PATÓGENAS EN ANIMALES EXPERIMENTALES: SON DIFÍCILES DE SEPARAR POR MORFOLOGÍA BÁSICA.

1.- ACANTHAMOEBA PALESTINENSIS. REICH 1933. ESTA ES UNA ESPECIE NO PATÓGENA. SE DIFERENCIA FÁCILMENTE DE LAS OTRAS TRES, PORQUE NO CRECEN A 40°C.

2.- ACANTHAMOEBA PUSTULOSA. ES CONSIDERADA SINÓNIMO JUNIOR DE PALESTINENSIS. USANDO OTRAS TÉCNICAS DE SEPARACIÓN COSTAS Y GRIFFITHS⁴⁵ ENCONTRARON ISOENZIMAS DIFERENTES PARA PALESTINENSIS Y PUSTULOSA.

3.- ACANTHAMOEBA CULBERTSONI. SINGH Y DAS, 1970. CON EL TIPO DE CEPA A-I DE CULBERTSONI HA SIDO LA PRIMERA ACANTHAMOEBA PATOGENICA EN INFECCIONES EXPERIMENTALES. EN TODAS LAS INVESTIGACIONES ESTA CEPA HA MOSTRADO SER LA MÁS ABERRANTE^{35,39,46,47}. ESTO ES QUE SÓLO ACANTHAMOEBA SPP CONOCIDA NO DA BANDAS ISOENZIMÁTICAS ALCDH⁴². TIENE ANTÍGENOS E ISOENZIMAS IDÉNTICAS⁴⁶. POR ANÁLISIS ISOENZIMÁTICO SE DIFERENCIA MORFOLÓGICAMENTE DE ACANTHAMOEBA LENTICULATA.

4.- ACANTHAMOEBA LENTICULATA. MOLET Y ERMOLIEFF-BRAUN, 1976. HA SIDO SEPARADA DE CULBERTSONI POR DIFERENCIAS ANTIGÉNICAS. SE DISTINGUEN FÁCILMENTE POR ANÁLISIS ISOENZIMÁTICO^{39,42}, CRECEN A 40°C Y SON ALTAMENTE VIRULENTAS POR EL RATÓN.

5.- ACANTHAMOEBA ROYREBA. WILLAERT, STEVENS Y TYNDALL, 1977. SÓLO SE CONOCE UNA ESPECIE DE ESTA CEPA, ES SEPARADA DE

OTRAS ESPECIES EN BASE A LA MORFOLOGIA Y DIFERENCIAS ANTIGÉNICAS⁴⁸. SE HA AISLADO DE CULTIVOS DE TEJIDO MALIGNO, AUNQUE SE DESCRIBE COMO NO PATOGENICA⁴⁸; SU PATOGENICIDAD SE HA DEMOSTRADO EN RATONES³⁵.

OBJETIVOS

DETERMINAR EXISTENCIA O INEXISTENCIA DE ACANTHAMOEBA EN:

1.- LENTES DE CONTACTO DE CUALQUIER TIPO.

2.- ESTUCHES DE LENTES DE CONTACTO.

3.- SOLUCIONES PRESERVADORAS DE LENTES DE CONTACTO.

DE USUARIOS DEL DEPARTAMENTO DE LENTES DE CONTACTO DEL
HOSPITAL OFTALMOLÓGICO DE NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ.

MATERIAL Y METODOS

MEDIOS DE CULTIVO.

PARA EL TESTIGO CONTROL SE UTILIZÓ UNA CEPA DE ACANTHAMOEBA DONADA POR EL P. CYMA. UIICE. UNAM, ENEP IZTACALA.

LA CEPA DE BACTERIA UTILIZADA FUÉ E. COLI PROPORCIONADA POR EL LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO. "FEDERICO GOMEZ"

PARA EL AISLAMIENTO DE AMIBAS, SE EMPLEARON CAJAS DE PETRI, DE DENMARK Y FRASCOS DE CRISTAL CON TAPÓN DE ROSCA CON AGAR NO NUTRITIVO CONTENIENDO EN LA SUPERFICIE UNA CAPA DE BACTERIA E. COLI VIVA. ESTE MEDIO CONOCIDO COMO (NNE) CONSISTE EN UNA SOLUCIÓN SALINA DE NEFF MODIFICADA (PAGE, 1976) CON AGAR-AGAR O AGAR BACTERIOLÓGICO (DIFCO) AL 1.5%.

EL MEDIO NNE SE PREPARÓ PESANDO LOS COMPONENTES DE LA SOLUCIÓN SALINA DE NEFF MODIFICADA: NaCl 0.12 GR., $\text{MgSO}_4/\text{H}_2\text{O}$ 0.004 GR., $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.004 GR., Na_2HPO_4 0.142 GR., KH_2PO_4 0.136 GR., MÁS AGAR-AGAR 15 GR. DISOLVIÉNDOLOS EN UN LITRO DE AGUA DESTILADA (DE JONCKHEERE, 1977) ESTERILIZÁNDOSE EN AUTOCLAVE A 15 LIBRAS DE PRESIÓN DURANTE 15 MINUTOS.

LA CAPA DE BACTERIAS QUE COMPLETA EL MEDIO NNE, SE AGREGÓ DISTRIBUYENDO E. COLI SOBRE LA BASE CON ASA PREVIAMENTE FLAMEADA Y EN MEDIO ESTÉRIL, INCUBÁNDOSE A 37°C DURANTE 24 A 48 HRS.

ANTES DE UTILIZAR LA BACTERIA QUE SE EMPLEÓ PARA EL MEDIO NNE, FUÉ CULTIVADA EN UNA PLACA DE AGAR CON EOSINA Y AZUL DE

METILENO AL 2.5.% (MEDIO EMB), PARA CONFIRMAR QUE NO PRESENTABA COLONIAS DE ALGUNA OTRA BACTERIA QUE PUDIERA CONTAMINAR LOS CULTIVOS ULTERIORES DE AMIBAS.

EL MEDIO NNE SE ENVASÓ EN FRASCOS CON TAPÓN DE ROSCA CON CAPACIDAD DE 7 ML., AGREGANDO 2.7 ML., DE AGAR COMPUESTO A CADA UNO ESTERILIZANDOLOS A 15 LIBRAS DE PRESION DURANTE 15 MINUTOS ADICIONANDO A CADA FRASCO UNA CAPA DE E. COLI VIVA PARA POSTERIORMENTE CULTIVAR 10 A 15 GOTAS DE SOLUCIÓN PRESERVADORA DE LENTES DE CONTACTO; EN LAS CAJAS DE DENMARK DE CUATRO COMPARTIMENTOS CON CAPACIDAD DE 1.5 ML CADA UNA, SE AGREGÓ EL MEDIO SÓLIDO (NN) CON E. COLI PREVIAMENTE ESTERILIZADO, CULTIVÁNDOSE DOS FRAGMENTOS DE CADALENTE DE CONTACTO, UN TESTIGO NEGATIVO Y OTRO POSITIVO EN CADA UNO DE LOS COMPARTIMENTOS; ADEMÁS PARA EL CULTIVO DE ESTUCHES DE LENTES DE CONTACTO SE ENVASÓ EL MEDIO NNE PREVIAMENTE ESTERILIZADO EN LOS MISMOS ADICIONÁNDOLES UNA CAPA DE E. COLI A CADA UNA DE LAS 3 MUESTRAS DE CULTIVOS SE LES ADICIONO MEDIO LIQUIDO PREPARADO CON LOS MISMOS COMPONENTES DE (NNE) A EXCEPCIÓN DEL AGAR BACTERIOLÓGICO EL CUAL SE GUARDÓ EN FRASCOS GOTERO COLOR AMBAR ESTERILIZANDOLOS 15 MINUTOS A 15 LIBRAS, PARA UTILIZARLOS A RAZÓN DE 3, 0.5 Y 1 ML. RESPECTIVAMENTE, EN CADA MUESTRA CUANDO ASÍ SE REQUIRIÓ. REACTIVOS Y SOLUCIONES.

TODO EL MATERIAL UTILIZADO EN EL MANEJO Y CULTIVO DE AMIBAS FUE DESINFECTADO Y ESTERILIZADO.

TODAS LAS SUBSTANCIAS MENCIONADAS PARA PREPARAR LOS MEDIOS DE CULTIVO SE PESARON UTILIZANDO BALANZA ANALITICA.

EL PROCEDIMIENTO DE MUESTRAS Y EL MANEJO EN CONDICIONES DE ASEPSIA DE LOS CULTIVOS PARA HACER RESIEMBRAS, PREPARACIONES MICROSCÓPICAS O PARA REALIZAR ALGUNAS PRUEBAS A PARTIR DE ÉSTOS, SE LLEVÓ A CABO EN UNA CAMPANA DE FLUJO LAMINAR, EQUIPADA CON LÁMPARA DE LUZ ULTRAVIOLETA.

EQUIPO DE LABORATORIO.

EL CRECIMIENTO DE LAS AMIBAS FUE OBSERVADO DIRECTAMENTE EN LAMINILLAS, PLACAS O FRASCOS DE CULTIVO, MEDIANTE EL EMPLEO DE UN MICROSCOPIO INVERTIDO MARCA OLYMPUS (INVERTOSCOPIO) UTILIZANDO OCULARES 10 Y 16 X; MIENTRAS QUE LAS PREPARACIONES SE OBSERVARON EMPLEANDO UN MICROSCOPIO DE CONTRASTE DE FASES CON OCULARES 10 X Y OBJETIVOS DE 10 Y 40 X. ESTE MICROSCOPIO SE EMPLEÓ TAMBIÉN PARA OBSERVAR EL CRECIMIENTO DE AMIBAS (TROFOZOITOS Y QUISTES).

MUESTREO

LAS MUESTRAS ESTUDIADAS FUERON 150, DE LAS CUALES 65 INCLUYERON LENTES DE CONTACTO TANTO HIDROFÍLICOS COMO SEMIRÍGIDOS EN PROPORCIÓN DE 49/16 RESPECTIVAMENTE; NO SE INCLUYERON RÍGIDOS O MIXTOS, POR NO ENCONTRARLOS. SÓLO 10 ESTUCHES DE LENTES DE CONTACTO FUERON MUESTREADOS TODOS ESTOS DESECHADOS POR LOS USUARIOS, Y 75 SOLUCIONES PRESERVADORAS DE LENTES DE CONTACTO ÚTILES ENTRE LAS QUE SE ENCONTRARON: TIMEROSAL, GLUCONATO DE CLORHEXIDINA, HIDRÓGENO

HIDRÓGENO PEROXIDASA Y EDTA ÚTILES AL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA, DE USUARIOS DEL DEPARTAMENTO DE LENTES DE CONTACTO DEL HOSPITAL OFTALMOLÓGICO DE NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ.

LA MUESTRA SE CULTIVO EN EL CASO DE LENTES DE CONTACTO, FRACCIONANDO ESTÉ EN 4 SEGMENTOS COLOCANDO UNO EN CADA COMPARTIMENTO DE LA CAJA DE DENMARK QUE CONTENÍA EL MEDIO NNE. PARA LOS ESTUCHES DE LENTES DE CONTACTO SE PREPARÓ EL MEDIO NNE EN LOS MISMOS. LAS SOLUCIONES PRESERVADORAS FUERON MUESTREADAS TOMANDO 10 GOTAS DE CADA SOLUCIÓN LAS CUALES FUERON SEMBRADAS EN FRASCOS DE CRISTAL CON TAPÓN DE ROSCA QUE CONTENÍAN EL MEDIO NNE PREVIAMENTE ESTERILIZADO. A TODAS LAS MUESTRAS SE LES ADICIONÓ MEDIO LÍQUIDO CONSTITUIDO CON LOS MISMOS COMPONENTES QUE EL SÓLIDO A EXCEPCIÓN DEL AGAR, LAS TRES MUESTRAS SE CONSERVARON EN INCUBADORAS A TEMPERATURAS ENTRE 28 Y 37°C.

AISLAMIENTO DE LAS AMIBAS.

LAS MUESTRAS FUERON PROCESADAS SIGUIENDO EL MÉTODO CITADO POR DE JONCKHEERE (1977) YA DESCRITO, PARA EL AISLAMIENTO DE AMIBAS DE VIDA LIBRE.

IDENTIFICACION

LAS AMIBAS DEL GÉNERO ACANTHAMOEBA AISLADAS, FUERON IDENTIFICADAS DIRECTAMENTE AL SER OBSERVADAS EN LOS CULTIVOS, A LAS 24,48 Y 72 HRS. 50, 100 Y 150 DÍA POR MICROSCOPIA INVERTIDA O CONTRASTE DE FASES. SE VIÓ SI LOS

QUISTES ERAN ESTRELLADOS Ó POLÉDRICOS, UNINUCLEADOS CON UNA DOBLE PARED Y POSTERIORMENTE, MEDIANTE PREPARACIONES A PARTIR DE SUBCULTIVOS SE OBSERVÓ LA FORMACIÓN DE FINOS PSEUDÓPODOS Ó FILÓPODOS POR PARTE DE LOS TROFOZITOS (PAGE, 1966, 1976).

CULTIVOS.

LAS AMIBAS AISLADAS SE CULTIVARON EN MEDIO DE AGAR NN/ADICIONADO CON E. COLI DURANTE TODO EL ESTUDIO. ESTE MEDIO SE PREPARÓ PERIÓDICAMENTE (CADA 30 DÍAS) PARA HACER SUBCULTIVOS (RESIEMBRAS) UNA VEZ QUE LOS TROFOZOITOS SE ENQUISTARAN.

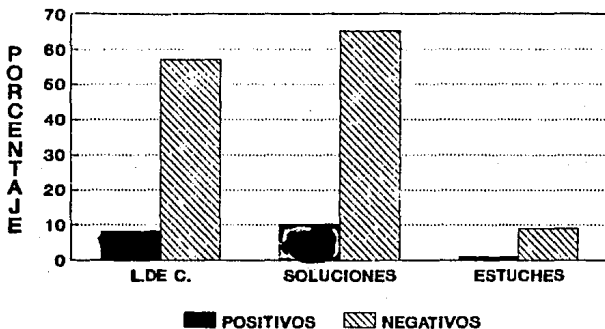
PARA LOS SUBCULTIVOS SE CORTÓ UN CUADRITO DE AGAR DE LA PLACA DE PETRI Ó 3-4 GOTAS DEL CULTIVO DEL FRASCO O DE LA CAJA DE DENMARCK CONTENIENDO TROFOZOITOS O QUISTES Y SE TRANSFIRIÓ A UN FRASCO CON MEDIO NN ADICIONADO CON E. COLI COLOCÁNDOLO EN FORMA INVERTIDA EN EL CASO DEL CUADRITO, E INSTILADA EN EL SEGUNDO Y TERCER CASO. PARA ÉSTO CADA PLACA DE CULTIVO SE OBSERVÓ AL INVERTOSCOPIO PARA LOCALIZAR LAS AMIBAS Y SEÑALAR EL SITIO EN EL CUAL CORTAR EL CUADRITO DE 1 CM² APROXIMADAMENTE Y TRANSFERIRLO AL NUEVO MEDIO (DE JONCKHEERE, 1977) Ó EXTRAYÉNDO LA MUESTRA CONCENTRADA DEL FONDO. DESPUÉS DE RESEMBRAR LAS NUEVAS PLACAS SE INCUBARON A 37°C DURANTE 24 Y 48 HRS. ASEGURÁNDOSE POSTERIORMENTE MEDIANTE EL INVERTOSCOPIO QUE LA POBLACIÓN AMIBIANA SE HABÍA DESARROLLADO. LAS CAJAS CONTENIÉNDO LAS CEPAS, SE

MANTUVIERON A TEMPERATURAS ALTERNAS ENTRE 28o Y 37oC EN INCUBADORAS PARA CONSERVAR POR MÁS TIEMPO ESTOS CULTIVOS.

RESULTADOS

DE LAS 150 MUESTRAS CULTIVADAS SE AISLARON 19 CEPAS DE ACANTHAMOEBA QUE CORRESPONDEN AL 12.66% GLOBAL ENTRE LENTES DE CONTACTO, ESTUCHES Y SOLUCIONES PRESERVADORAS, COMO SE OBSERVA EN LA (GRAFICA 1).

RESULTADOS L. DE C., ESTUCHES Y SOLUCIONES



% GLOBAL 12.66

Gráfica 1.

DE LAS 65 MUESTRAS DE LENTES DE CONTACTO, FUERON 49 LENTES HIDROFÍLICOS DE LOS CUALES SE AISLARON 6 CEPAS DE ACANTHAMOEBA LO CUAL CORRESPONDIÓ AL 12.24% DEL TOTAL DE LA MUESTRA; DE 16 LENTES SEMIRIGIDOS SE CULTIVÓ ACANTHAMOEBA EN 2 QUE CORRESPONDE AL 12.5% DE ÉSTA MUESTRA. (TABLA 1).

RESULTADOS

LENTES DE CONTACTO	POSITIVOS	%	NEGATIVOS	%
HIDROFÍLICOS	6/49	12.2	43/49	87.8
SEMIRIGIDOS	2/16	12.5	14/16	87.5

TABLA 1.

DE LAS 75 SOLUCIONES PRESERVADORAS ESTUDIADAS, SE OBSERVO ACANTHAMOEBA EN 10 QUE CORRESPONDE AL 13.3% DEL TOTAL DE ESTA MUESTRA. LOS RESULTADOS FUERON ASI: SE AISLO ACANTHAMOEBA DE 7 SOLUCIONES QUE CONTENIAN TIMEROSAL AL (0.0015%) CORRESPONDIENDO AL 70%; 2 SOLUCIONES DE HIDROGENO PEROXIDASA AL (1%) CON UN PORCENTAJE DEL 20%; 1 SOLUCION DE EDTA AL (0.1%) CONTAMINADA CON ACANTHAMOEBA MOSTRANDO UN PORCENTAJE DEL 10%; SOLUCIONES DE GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL (0.004% Y 0.005%) FUERON NEGATIVAS PARA ACANTHAMOEBA. LOS RESULTADOS DE OBSERVAR EN LA (TABLA 2).

RESULTADOS

SOLUCIONES	POSITIVO	%	NEGATIVO	%
TIMEROSAL	7/30	23.3	23/30	76.7
EDTA	1/15	6.6	14/15	93.4
HIDROGENO PEROXIDASA	2/15	13.3	15/15	86.7
GLUCONATO DE CLORHE- XIDINA.	0/15	0.0	15/15	100

TABLA 2

EN CUANTO A LOS ESTUCHES SE ENCONTRÓ SOLAMENTE UNO CONTAMINADO CON ACANTHAMOEBA DE UNA MUESTRA DE 10 CORRESPONDIENDO AL 10% DE LA MISMA. VER (TABLA 3).

RESULTADOS ESTUCHES

POSITIVOS	1/10	10%
-----------	------	-----

NEGATIVOS	9/10	90%
-----------	------	-----

TABLA 3

LAS 19 CEPAS AISLADAS FUERON INCUBADAS A 28 Y 37°C EN MEDIOS NO AXÉNICOS DE AGAR NNE ADAPTÁNDOSE Y CRECIENDO EN ÉSTE, PRESENTANDO UN TAMAÑO PROMEDIO ENTRE 22 Y 30 MILÍMICRAS PARA LOS TROFOZOITOS Y DE 13 A 19 MILÍMICRAS PARA LOS QUISTES. DE ACUERDO A SU MORFOLOGÍA TANTO LOS TROFOZOITOS REDONDEADOS COMO LOS ALARGADOS PRESENTARON ACANTOPODIOS CARACTERÍSTICOS DEL GÉNERO ACANTHAMOEBA. FIGURAS I Y II.

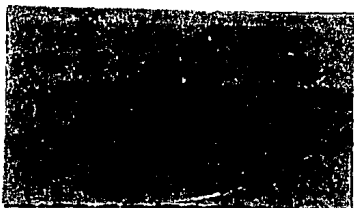


FIG. I TROFOZOITOS DE ACANTHAMOEBA
TINCIÓN CON LUGOL (X 40)

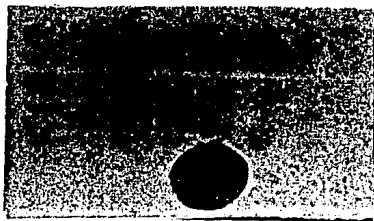


FIG. II TROFOZOITOS DE ACANTHAMOEBA
TINCIÓN CON LUGOL (X 40)

LOS QUISTES MOSTRARON UNA DOBLE PARED EN DONDE EL ENDOQUISTE PRESENTABA FORMA POLIÉDRICA O REDONDEADA SEGUIDA POR UNA PARED EXTERNA O ECTOQUISTE EN TODAS LAS CEPAS; Y EN LOS QUISTES MADUROS SE OBSERVÓ UNA FORMA MAS RUGOSA CON ONDULACIONES Y PLEIEGUES REGULARES, CARACTERÍSTICA DE ÉSTE GÉNERO. FIGURAS III Y IV.



FIG. III QUISTE DE ACANTHAMOEBA
TINCIÓN CON LUGOL (X 40)



FIG. IV QUISTES DE ACANTHAMOEBA
TINCIÓN CON LUGOL (X 40)

LAS CEPAS AISLADAS DE ACANTHAMOEBA PERTENENCEN A LOS 3
GRUPOS DESCRITOS POR PUSSARD Y PONS. FIGURAS V, VI Y VII.

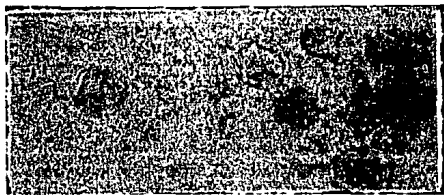


FIG. V QUISTES DE ACANTHAMOEBA ASTRONYXIS
GPO. I TINCIÓN CON LUGOL (X 40)



FIG. VI QUISTES DE ACANTHAMOEBA POLYPHAGA
GPO. II TINCIÓN CON LUGOL (X 40)

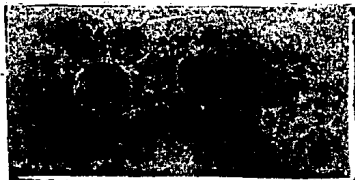


FIG. VII QUISTES DE ACANTHAMOEBA CULBERTSONI
GPO. III TINCIÓN CON LUGOL (X 40)

DISCUSION

LOS DATOS ECOLÓGICOS COMO SON LA DISTRIBUCIÓN DE ÉSTOS PARÁSITOS, EL TIPO DE MEDIO EN QUE SE ENCUENTRAN, ASÍ COMO LAS CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS DE SU HÁBITAT DEBEN TOMARSE EN CUENTA PARA RELACIONAR LA PRESENCIA DE AMIBAS DE VIDA LIBRE EN UN LUGAR DETERMINADO.

MORFOLÓGICAMENTE SÓLO SE PUEDE REALIZAR UN DIAGNÓSTICO PRECISO DE ÉSTAS AMIBAS HASTA EL NÍVEL DE GÉNERO, SIENDO NECESARIO ANÁLISIS ISOENZIMÁTICO, DE PROTEÍNAS TOTALES, DE DNA, PRUEBAS DE PATOGENICIDAD ETC., PARA IDENTIFICAR AMIBAS A NÍVEL DE ESPECIE.

COMO YA SABEMOS ÉSTOS PARÁSITOS SE ENCUENTRAN EN LA NATURALEZA Y TEJIDOS EN DOS FORMAS: UNA UNINUCLEADA, LA CUAL PRESENTA ACANTOPODIOS MÓVILES LLAMADA TROFOZOITO, EL CUAL MIDE DE 15 A 45 MILÍMICRAS DE DIÁMETRO Y SE REPRODUCE POR MITOSIS CONVENCIONAL; Y LA OTRA UNA FORMA QUISTICA DE DOBLE PARED QUE MIDE ENTRE 10 A 25 MILÍMICRAS DE DIÁMETRO, CON UNA PARED EXTERNA REDONDEADA Y UNA INTERNA ESTRELLADA O POLIGONAL, LA CUAL ES RESISTENTE A CONDICIONES ADVERSAS DE CONGELACIÓN, DESECACIÓN, CLORACIÓN DEL AGUA Y A UNA VARIEDAD DE AGENTES ANTIMICROBIANOS.

LA ASOCIACIÓN ENTRE QUERATITIS POR ACANTHAMOEBA Y EL USO DE LENTES DE CONTACTO, SEAN ÉSTOS HIDROFÍLICOS, RÍGIDOS, O MIXTOS^{49,50,51}, ESTA YA FIRMEAMENTE ESTABLECIDA.

PENSAMOS QUE LAS SOLUCIONES PRESERVADORAS DE LENTES DE CONTACTO, SEAN ÉSTAS AGUA DEL TUBO, SALINAS PREPARADAS EN CASA Ó SOLUCIONES QUÍMICAS, ASÍ COMO LA EXPOSICIÓN DEL USUARIO DE LENTES DE CONTACTO A AGUAS DE ALBERCA, RÍOS, LAGOS, ETC, CONTAMINAN LOS LENTES LOS CUALES ACTÚAN COMO VEHÍCULO LLEVANDO EL ORGANISMO A LA SUPERFICIE DEL OJO Y SI SE PRESENTAN LOS FACTORES DE RIESGO YA DESCRITOS PUEDE PRODUCIRSE ÉSTA PATOLOGÍA CORNEAL.

JOHN, DESAI, AND SAHM⁵² DEMOSTRARON QUE LOS TROFOZOITOS Y LOS QUISTES DE ACANTHAMOEBA PUEDEN ADHERIRSE A LOS LENTES DE CONTACTO HIDROFÍLICOS DESPUÉS DE SER EXPUESTOS, Y PUEDE SER QUE ESPECIES DE ACANTHAMOEBA SE ADHIERAN A LOS LENTES DE CONTACTO DESPUÉS DE SER EXPUESTOS A SOLUCIONES CONTAMINADAS USADAS PARA IRRIGAR, ENJUAGAR O GUARDAR TEMPORALMENTE LOS LENTES.

DONZIS⁵³ Y COLABORADORES DEMOSTRARON QUE LA ACANTHAMOEBA ES UN CONTAMINANTE INUSUAL DE LENTES DE CONTACTO Y SOLUCIONES EN PACIENTES QUIENES NO TIENEN QUERATITIS AMÉBICA. LA PRESENCIA DE QUISTES AMÉBICOS EN LA SUPERFICIE DE LOS LENTES ES UNA FUERTE EVIDENCIA PARA SUPONER ESTA PATOLOGÍA EN PACIENTES QUIENES TIENEN UNA LESIÓN CORNEAL CARACTERÍSTICA. EN EL ESTUDIO REALIZADO POR JOHN DART⁵⁴ Y COLABORADORES EN EL HÁBITAT DE PACIENTES USUARIOS DE LLNTES DE CONTACTO CON QUERATITIS MICROBIANA ASOCIADA E USUARIOS DE LENTES DE CONTACTO ASINTOMÁTICOS; EN LOS CUALES SE COLECTÒ AGUA DEL

TUBO DE BAÑO, COCINA Y DRENAJE; SE OBSERVÓ QUE EN EL 60% DE LA MUESTRA DEL AGUA DEL TUBO DE BAÑO HUBO CRECIMIENTO DE AMIBAS NO PATÓGENAS Y EN 23% OCURRIÓ EN EL AGUA DE LA COCINA. EL AGUA DEL BAÑO PUEDE CONSIDERARSE COMO UNA POSIBLE FUENTE DE CONTAMINACIÓN DE LENTES DE CONTACTO CON AMIBAS.

EN OTRO ESTUDIO REALIZADO POR ROBERT E. SILVANY⁵⁵ Y COLABORADORES DONDE SE EVALÚA LA EFECTIVIDAD DE SOLUCIONES PRESERVADORAS DE LENTES DE CONTACTO PARA MATAR TROFOZOITOS Y QUISTES DE ACANTHAMCEBA CASTELLANII Y POLYPHAGA. LAS SOLUCIONES PRESERVADORAS FUERON EXAMINADAS CON CRECIMIENTO DE ORGANISMOS AXÉNICOS Y NO AXÉNICOS POR INTERVALOS DE 30 MINUTOS A 24 HORAS. LA CLORHEXIDINA (0.001% Y AL 0.005%), POLIAMINOPROPIL BIGUANIDA (0.005%), EL CLORURO DE BENZALCONIO (0.001% Y 0.004%) Y EL PEROXIDO DE HIDROGENO AL 3% FUERON PRESERVADORES EFECTIVOS, CONCENTRACIONES MENORES DE ÉSTOS FUERON MENOS EFECTIVOS. EL TIMEROSAL (0.001% Y 0.004%), ACIDO SÓRBICO (0.1%), SORBATO DE POTASIO (0.13%), EDTA (0.1%), BIGUANIDA POLIAMINOPROPIL (0.00005%) Y POLICUATERNIO-1 (0.001%), NO FUERON EFECTIVOS.

SIN EMBARGO EL TIMEROSAL AL 0.004% COMBINADO CON EDTA FUE EFECTIVO. LOS PRESERVADORES FUERON MÁS EFECTIVOS CUANDO SE EXAMINARON CON ORGANISMOS PREPARADOS AXÉNICAMENTE QUE CUANDO SE EXAMINARON ORGANISMOS COCULTIVADOS.

OTRO ESTUDIO LLEVADO A CABO POR KILVINGTON⁵⁶ Y COLABORADORES DEL EFECTO DE LOS DESINFECTANTES DE LENTES DE CONTACTO SOBRE

QUISTES DE ACANTHAMOEBA Y CONOCIENDO QUE ÉSTOS PUEDEN SOBREVIVIR AL TRATAMIENTO CON ALGUNOS QUIMICOS. REALIZARON UN ESTUDIO PARA VALORAR LA ACTIVIDAD DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA (0.004%); PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (0.1-3%) Y TIMEROSAL (0.0025%) SOBRE QUISTES DE ACANTHAMOEBA POLYPHAGA Y CASTELLANI AISLADAS CLINICAMENTE. SE OBSERVÓ QUE EL GLUCONATO DE CLOREHEXIDINA Y EL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN CONCENTRACIÓN MAYOR DE 0.1% DESTRUYERON LOS QUISTES DE ACANTHAMOEBA DADOS POR PERÍODOS LARGOS; NO ASI EL TIMEROSAL QUE FUE INEFECTIVO.

FREITAS D⁵⁷. Y COLABORADORES, VALORARON LA SUCEPTIBILIDAD DE ACANTHAMOEBA SP. Y DOS SISTEMAS DE DESINFECCIÓN QUÍMICA (EDTA Y TIMEROSAL) Y TERMAL A 80°C, ÉSTE MEDIO FUÉ ÚTIL PARA ERRADICAR CUALQUIER FORMA DE ACANTHAMOEBA, CULBERTSONI, CASTELLANII, POLYPHAGA, ASTRONYXIS Y SP. EN LENTES DE CONTACTO INFECTADOS; SIN EMBARGO, EDTA NO FUÉ EFECTIVA PARA MATAR ACANTHAMOEBA CULBERTSONI Y SP. EN UN SEGUNDO ESTUDIO UNA SUSPENSIÓN DE QUISTES Y TROFOZOITOS DE ACANTHAMOEBA DE CADA ESPECIE FUERON COLOCADOS DIRECTAMENTE EN CONTACTO CON LOS DIFERENTES SISTEMAS DE DESINFECCIÓN, LAVADO DE MUESTRAS 3 VECES OBSERVÁNDOSE QUE LA DESINFECCIÓN TERMAL ERRADICÓ TODO TIPO DE PROTOZOARIOS; EDTA NO FUÉ EFECTIVO PARA MATAR ACANTHAMOEBA CULBERTSONI Y SP., EL TIMEROSAL EFECTIVO EN EL PRIMER ESTUDIO PARA MATAR ACANTHAMOEBA SP, NO LO FUÉ EN EL SEGUNDO.

CONCLUSIONES

LA EXISTENCIA DE ACANTHAMOEBA EN LOS TRES TIPOS DE MUESTRAS ESTUDIADOS SE EXPLICA EN VIRTUD DE LAS CONDICIONES FISICO-QUÍMICAS DEL MEDIO EN QUE CRECE ESTE PARASITO; ADEMÁS CONOCIENDO QUE ESTOS PROTOZOARIOS SON COSMOPOLITAS NO ES DIFÍCIL PENSAR ENCONTRARLOS EN TODO TIPO DE MEDIO O SIENDO VEHÍCULOS OCASIONANDO ENFERMEDAD SI SE PRESENTAN FACTORES DE RIESGO COMO SON: DISRUPCIÓN DEL EPITELIO CORNEAL POR EL LENTE, ADHERENCIA DEL MICROORGANISMO AL LENTE, CONTAMINACIÓN DEL LENTE O DE SOLUCIONES UTILIZADAS PARA SU LIMPIEZA Y PRESERVACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE SUCEPTIBILIDAD DEL HUÉSPED.

LOS LENTES DE CONTACTO HIDROFÍLICOS EN NUESTRO ESTUDIO FUERON LOS MAYORMENTE CONTAMINADOS CON ACANTHAMOEBA; NO OBSTANTE ÉSTO, EN NUESTRA MUESTRA LOS LENTES SEMIRÍGIDOS PRESENTARON PORCENTAJE SIMILAR DE CONTAMINACIÓN QUE LOS ANTERIORES; PERO ÉSTO NO ES SIGNIFICATIVO DEBIDO A QUE LA MUESTRA ESTUDIADA ES MUY PEQUEÑA. LAS SOLUCIONES PRESERVADORAS MÁS CONTAMINADAS FUERON EN PRIMER LUGAR LAS QUE CONTENIAN TIMEROSAL AL (0.0015%), OBSERVANDO QUE LA EDTA QUE ES UNA SOLUCIÓN QUELANTE TAMBIÉN PUEDE CONTAMINARSE CON ACANTHAMOEBA EN CONCENTRACIONES MENORES (0.1%); ASÍ COMO LA HIDRÓGENO PEROXIDASA EN MENOR CONCENTRACIÓN (1%) YA QUE A MAYOR CONCENTRACIÓN SE PENSARÍA QUE ANIQUILARÍA AL PARÁSITO.

QUE ANIQUILARIA AL PARÁSITO. EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA FUÉ EL MAS EFECTIVO EN CONCENTRACIONES AL (0.04% Y 0.005%) AL NO PERMITIR CRECIMIENTO NI DE TROFOZOITOS NI DE QUISTES DE ACANTHAMOEBA PROBABLEMENTE POR LA SUBSTANCIA CLORADA QUE CONTIENE LA CUAL NO PERMITE LA REPRODUCCIÓN DE ESTE PROTOZOARIO.

LA AISLACIÓN DE CEPAS DEL GÉNERO ACANTHAMOEBA EN NUESTRO ESTUDIO FUÉ DEL 12.56% DEL TOTAL DE LA MUESTRA LO CUAL CORRESPONDE A LO YA DESCRITO EN LA LITERATURA INTERNACIONAL. LA MORFOLOGÍA DE LAS CEPAS DE ACANTHAMOEBA ASÍ COMO SU MORFOMETRÍA SUGIEREN QUE PERTENECEN A LOS TRES GRUPOS DE ACANTHAMOEBA DESCRITOS EN LA CLASIFICACIÓN DE PUSSARD Y PONS (1977) DE ACUERDO A LAS CARACTERÍSTICAS DEL QUISTE CON PRESENCIA DE ENDO Y ECTOCISTOS SIMILARES A LOS YA MENCIONADOS PARA ESTOS TRES GRUPOS.

LA DETERMINACIÓN A NIVEL DE ESPECIE DE ACANTHAMOEBA POR MEDIO DE ESTUDIOS MÁS SOFISTICADOS COMO EL ANÁLISIS ISOENZIMÁTICO, DE PROTEÍNAS TOTALES Y DE DNA CON MEDIOS AXÉNICOS SERIA EL MÁS ADECUADO PARA LLEGAR A CLASIFICAR ÉSTE GÉNERO A NIVEL DE ESPECIE.

R E F E R E N C I A S

- 1.- VON ROSEHOF R.- MONTAL. HERAUSGEGEBENE INSEKTENBELUSTIGUNGEN. 1975; 3: 622.
- 2.- LINNAEUS.- SYSTEMA NATURAE. ED. 1758; 10: 821.
- 3.- DUJARDIN F. HISTOIRE NATURELLE DES ZOOPHYTES INFUSOIRES LIBRAIRIE ENCYCLOPÉDIQUE DE RORET. PARIS. 1841.
- 4.- PAGE F.C.-HARTMANNELLA LIMAX: THE ORIGINAL LIMAX AMOEDA TRANS. ANN. MICROCC. SOC. 1969; 88: 191-204.
- 5.- PENARD E.- LES RHIZOPODES DE LA FAUNE PROFONDE DANS LE LAC LEMAN. MEN. SOC. PHYS. HIST. NAT. GENEVE. 1980; 31: 1-42.
- 6.- CASH. J., HOPKINSON J.- THE BRITISH FRESHWATER RHISOPODE AND HELIOZOA. I. ROY. SOC., LONDON. 1905.
- 7.- WALKER E.- THE PARASITIC AMOEBAE OF THE INTESTINAL TRACT OF MAN AND OTHER ANIMALS. J. MED. RES. 1908; 17: 379-459.
- 8.- CASTELLANI A.- AN AMOEBIA FOUND IN CULTURES OF YEAST. PRELIMINARY NOTE. J. TROP. MED. HYG. 1930; 33: 160

- 9.- DE JOCKHEERE J.F.- GROWTH CHARACTERISTICS, CYTOPATHIC EFFECT IN CELL CULTURE, AND VIRULENCE IN MICE OF 36 -- TYPESTRAINS BELONGING TO 19 DIFFERENT ACANTHAMOEBA SPP APPL. ENVIRON. MICROBIOL. 1980; 39: 681-685.
- 10.- RONDANELLI E. GUIDO. INFECTIOUS DISEASES, AMPHIZOIC AMOEBA HUMAN PATHOLOGY. 1987. ED. PICCIN NUOVA LIBRERIA. S.P.A., PADUA. PAG. 1-279.
- 11.- CERVA L.- STUDIES OF LIMAX AMOEBA IN SWIMMING POOL. IDROBIOLOGIA. 1971; 38: 141-161.
- 12.- JADIN J.B., WILLAERT E.- AU SUJET DE LA DISPERSION DES AMIBES DU GROUPE LIMAX. PROTISTOLOGICA. 1972; 8: 505-508.
- 13.- SAWYER TK, VISVESVARA GS, HARKE BA,- PATHOGENIC AMOEBAS FROM BRACKISH AND OCEAN SEDIMENTS, WITH A DESCRIPTION - OF ACANTHAMOEBA HATCHETTI, N SP. SCIENCE 1977; 196: -- 1324-5.
- 14.-ARMSTRONG J., PEREIRA M.- IDENTIFICATION OF "RYAN VIRUS" AS AN AMOEBA OF THE GENUS HARTMANNELLA. BRIT. MED. J. - 1967; 1: 212-214.
- 15.- JADIN J.B., WILLAERT E., HERMANNE J.- PRÉSENCE D'AMIBES LIMAX DANS L'INTESTIN DE L'HOMME ET DES ANIMAUX ARSOM BULL. SÉANCE. 1973; 3: 520-526.

- 16.- BOVÉE E.C., WILSON E.E., TELFORD S.P., SOME AMOEBAE AND AMOEBEA FLAGELLATES INQUILINIC IN FLORIDA REPTILES. J. - PROTOZOOL 1961; 8: SUPPL. 15.
- 17.- FRANK W., BOSCH I.- ISOLIERUNG VON AMOEBEA DES TYPES -- HARTMANNELLA. ACANTHAMOEBEA UND NAEGLERIA AUS KALTBLÜTERM Z. PARASITENK. 1972; 40: 159-150.
- 18.- FRANK W., LIMAX AMOEBEA FROM COLD-BLOODED VERTEBRATES. - ANN. SOC. BELGE MÉD. TROP. 1974; 54: 345-349.
- 19.- DWIVEDI J., SINGH B.N. PULMONARY LESIONS IN AN INDIAN - BUFFALO ASSOCIATED WITH ACANTHAMOEBEA SP. IND. J. MICRO- BIOL. 1965; 5: 31-34.
- 20.- MAC CONNELL E.E., KING J.H.- HARTMANNELLOSIS. BULL. PATH VET. 1968; 5: 1-6.
- 21.- AYERS K.M., BILLUPS L.H., GARNER F.M.- ACANTHAMOEBIASIS IN A DOG. VET. PATH. 1972; 9: 221-226.
- 22.- RICHARDS C.- ACANTHAMOEBEA AS A TISSUE INVADER OF FRESH- WATER MOLLUSKS. J. PROTOZOOL. 1962; 9: 14.
- 23.- ALEXEIEFF A.- SUR LES CARACTÈRES CYTOLOGIQUES ET LA -- SYSTÉMATIQUE DES AMIBES DU GROUPE LIMAX (NAEGLERIA NOV. GEN.) BULL. SOC. ZOOL. (FRANCE) 1912; 37: 55-74.

- 24.- MOORE MB, McCULLEY JP, LUCKENBACH MW, ET AL. ACANTHA -
MOEBA KERATITIS ASSOCIATED WITH SOFT CONTACT LENSES. AM
OPHTHALMOL. 1985; 100: 395-403
- 25.- ACANTHAMOEBA KERATITIS ASSOCIATED WITH CONTACT LENSES-
UNITED STATES. M.M.W.R. 1986; 35: 405.
- 26.- COHEN, ELISABETH J; PARLATO, CYNTHIA J; ARENTSEN, JUAN
J. ET. AL. MEDICAL AND SURGICAL TREATMEN OF ACANTHA-
MOEBA KERATITIS. AM. J. OPTHALMOL. 1987: 103: 615-625
- 27.- STEHR-GREEN, JEANETTE K; BAILEY, THEODORE M; VISVES-
VARA, GOVINDA S. THE EPIDEMIOLOGY OF ACANTHAMOEBA -
KERATITIS IN THE UNITED STATES. AM. J. OPTHALMOL. -
1989; 107: 331-336.
- 28.- BETH MORRE, MARY. ACANTHAMOEBA KERATITIS. ARCH. - -
OPHTHALMOL 1988; 106: 1181-1183.
- 29.- MOORE, M.B., McCULLEY, J.P., NEWTON, C., COBO, L. M.,
FOULKS, G.N., O'DAY, D.M., JOHN, K.J., DRIEBE, W.T.,
WILSON, L.A., EPSTEIN, R. J., AND DOUGHMAN, D., J.:
ACANTHAMOEBA KERATITIS. A GROWING PROBLEM IN SOFT -
AND HARD CONTACT LENS WEARERS. OPTHALMOLOGY 1987;-
1987: 94.

- 30.- KOENING, S.B., SOLOMON, J.M., HYDIUK, R.A., SUCHER, R.A., AND GRADUS, M.S.: ACANTHAMOEBA KERATITIS - - ASSOCIATED WITH GAS-PERMEABLE CONTACT LENS WEAR. AM. J. OPHTHALMOL. 1987; 103-832.
- 31.- STEHR-GREEN, J.K., BAILEY, T.M., BRANDT, F.H., CARR, J. H., BOND, W. W., AND VISVESVARA, G. S.: ACANTHAMOEBA -- KERATITIS IN SOFT CONTACT LENS WEARERS. A CASE CONTROL-STUDY. JAMA. 1987; 257: 57.
- 32.- MOORE, M.B., MCCULLEY, J.P., LUCKENBACH, M., GELENDER, H., NEWTON, C., McDONALD, M.B., AND VISVESVARA, G.S.: ACANTHAMOEBA KERATITIS ASSOCIATED WITH SOFT CONTACT - LENSES. AM. J. OPHTHALMOL. 1985; 100: 396.
- 33.- PAGE, F.C.- RE-DEFINITION OF THE GENUS ACANTHAMOEBA -- WITH DESCRIPTION OF THREE SPECIES. J. PROTOZOOL. 1967; 14: 709-724.
- 34.- SAWYER T.K., GRIFFIN J.L.- A PROPOSED NEW FAMILY, - - ACANTHAMOEBA N. FAM. (ORDER AMOEBIDA), FOR CERTAIN - - CYST-FORMING FILOSE AMOEBAE. TRANS. AMER. MICROS. SOC. 1975; 94: 95-98.
- 35.- DAGGETT P.M., SAWYER T.K., NERAC T.A.- DISTRIBUTION AND POSSIBLE INTERRELATIONSHIPS OF PATHOGENIC AND NONPATHOGENIC ACANTHAMOEBA FROM AQUATIC ENVIRONMENTS. MICROB. - ECOL. 1982; 8: 371-386.

- 36.- PUSSARD M., PONS R.- MORPHOLOGIE DE LA PAROI KYSTIQUE ET TAXONOMIE DU GENRE ACANTHAMOEBA (PROTOZOA. AMOEBIDA). PROTISTOLOGICA. 1977; 13: 557-598.
- 37.- PAGE F.C.- RE-DEFINITION OF THE GENUS ACANTHAMOEBA WITH DESCRIPTION OF THREE SPECIES. J. PROTOZOOL. 1967; 14: 709-724
- 38.- NEFF R.J.- PURIFICATION, AXENIC CULTIVATION, AND DESCRIPTION OF A SOIL AMOEBEA, ACANTHAMOEBA SP. J. PROTOZOOL. 1957; 4: 176-182.
- 39.- VISVESVARA G.S., MIRRA S.S., BRANDT F.H., MOSS D.M., MATHEWS H. M., MARTINEZ A. J.- ISOLATION OF TWO STRAINS OF ACANTHAMOEBA CASTELLANII FROM HUMAN TISSUE AND THEIR PATHOGENICITY AND ISOENZYME PROFILES. J. CLIN. MICROBIOL. 1983; 18: 1405-1412.
- 40.- DE JONCKHEERE J.F.- GROWTH CHARACTERISTICS, CYTOPATHIC EFFECT IN CELL CULTURE, AND VIRULENCE IN MICE OF 36 TYPESTRAINS BELONGING TO 19 DIFFERENT ACANTHAMOEBA SPP. APPL. ENVIRON. MICROBIOL. 1980; 39: 681-685.
- 41.- DE JONCKHEERE J.F.- ISOENZYME AND TOTAL PROTEIN ANALYSIS BY AGAROSE ISOELECTRIC FOCUSING, AND TAXONOMY OF THE GENUS ACANTHAMOEBA J. PROTOZOOL. 1983; 30: 701-706.

- 42.- SAWYER T.K.- ACANTHAMOEBA GRIFFINI, A NEW SPECIES OF -
MARINE AMOEBA. J. PROTOZOOLOG. 1971; 18: 650-654.
- 43.- SAWYER T.K., VISVESVARA G.S., HARKE B.A.- PATHOGENIC
AMOEBAE FROM BRACKISH AND OCEAN SEDIMENTS, WITH A -
DESCRIPTION OF ACANTHAMOEBA HATCHETTI, N. SP. SCIENCE
1977; 196: 1324-1325.
- 44.- COSTAS M., EDWARDS S.W., LLOYD D., GRIFFITHS A. J., -
TURNER G.- RESTRICTION ENZYME ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL
DNA OF MEMBERS OF THE GENUS ACANTHAMOEBA AS AN AID IN -
TAXONOMY. FEMS MICROB. LETTERS 1985; 17: 231-234.
- 45.- TYNDALL R.L., WILLAERT E., STEVENS A., NICHOLSON A.-
PATHOGENIC AND ENZYMATIC CHARACTERISTICS OF ACANTHA-
MOEBA ISOLATED FROM CULTURED TUMOR CELLS. PROTISTOLO-
GICA. 1979; 15: 17-22.
- 46.- WILLAERT E., STEVENS A.R. INDIRECT IMMUNOFLUORESCENT -
IDENTIFICATION OF ACANTHAMOEBA CAUSING MENINGOENCEPHA-
LITIS. PATH. BIOL. 1976; 24: 545-547.
- 47.- WILLAERT E., STEVENS A.R., TYNDALL R.L.- ACANTHAMOEBA-
ROYRESA SP. NOV. FROM A HUMAN TUMOR CELL CULTURE. J. -
PROTOZOOLOG. 1978; 25: 1-14.
- 48.- ORMEROD, L.D., AND SMITH, R.E.: CONTACT LENS-ASSOCIATED
MICROBIAL KERATITIS. ARCH. OPHTHALMOL. 1986; 104: 79,

- 49.- PARKER, W.T., AND WONG, S.K.: KERATITIS ASSOCIATED WITH DISPOSABLE CONTACT LENSES. AM. J. OPHTHALMOL. 1989; -- 107: 79.
- 50.- KAUFMAN, H.E.: PROBLEMS ASSOCIATED WITH PROLONGED WEAR SOFT CONTACT LENSES. OPHTHALMOLOGY. 1979; 86: 411.
- 51.- KOENIG, S.B., SALOMON, J.M., HYNDIUK, R.A., SUCHER, R.A., AND GRADUS, M. S.: ACANTHAMOEBA KERATITIS ASSOCIATED WITH GAS-PERMEABLE CONTACT LENS WEAR. AM. J. - OPHTHALMOL. 1987; 103-852.
- 52.- JOHN, T., DESAI, D., AND SAHM, D.: ADHERENCE OF ACANTHAMOEBA CASTELLANII CYSTS AND TROPHOZOITES TO UNWORN SOFT CONTACT LENSES. AM. J. OPHTHALMOL. 1989; 108-658.
- 53.- DONZIS, P.B., MONDINO, B.J. WEISSMAN, B.A., AND BRUCKNER, D.A.: MICROBIAL CONTAMINATION OF CONTACT LENS CARE SYSTEMS. AM. J. OPHTHALMOL. 1987; 104: 325-
- 54.- DART, J., SEAL, D.V., STAPLETON, F.: POSSIBLE ENVIRONMENTAL SOURCES OF ACANTHAMOEBA KERATITIS IN CONTACT - LENS WEARERS. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ACANTHAMOEBA - AND THE EYE. 1980; 19
- 55.- SILVANY, R.E.B.S., DOUGHERTY J. M., MCCULLER, J.P.: -- EFFECT OF CONTACT LENS PRESERVATIVES ON ACANTHAMOEBA. - OPHTHALMOLOGY. 1991; 98: 654-857.

- 56.- KILVINGTON, J, DAVIES D. J. G., MEAKIN, B.J., AND AN --
THONY Y.: EFFECT OF CONTACT LENS DESINFECTANTS AGAINST-
ACANTHAMOEBA CYSTS. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ACANTHA-
MOEBA AND THE EYE. 1989; 25;
- 57.- FREITAS, D., BELFORT, R., FORONDA, A.S.; SUCÉPTIBILITY-
OF ACANTHAMOEBA SPP. TO SOFT CONTACT LENS DISINFECTION-
SYSTEMS. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ACANTHAMOEBA AND -
EYE. 1989; 24