



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

ASOCIACIÓN PROFESIONAL PARA LA CAPACITACIÓN CONTINUA



***IMPORTANCIA DE LA MENINGO ENCEFALITIS AMIBIANA
PRIMARIA EN MEXICO***

TESINA

PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO FARMACOBÍOLOGO

PRESENTA

Q.F.B MARIA GUADALUPE SALAS LIRA

ASESOR

JORGE HORACIO CERDA MARTINEZ

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBÍOLOGO

MORELIA, MICHOACÁN DE OCAMPO

OCTUBRE 2013

LA PRESENTE INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA SE REALIZÓ DURANTE EL DIPLOMADO TEÓRICO-PRÁCTICO DE PARASITOLOGÍA MÉDICA, REALIZADO DE NOVIEMBRE DE 2011 A AGOSTO DE 2012, ORGANIZADO POR LA ASOCIACIÓN PROFESIONAL PARA LA CAPACITACIÓN CONTINUA (APCC), Y AVALADO POR LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO, A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA, A QUIEN LE AGRADECEMOS INFINITAMENTE EL APOYO ACADÉMICO Y LOGÍSTICO BRINDADO.

AGRADECIMIENTOS.

“Los tiempos de Dios son perfectos.”

Dedico este trabajo a mis padres Rafael y Martha, mis hermanos Gerardo, Roció, Fernando. Por ser el viento bajo mis alas, cada uno de ellos aportó una parte importante en mi vida para ser hoy quien soy.

INDICE

OBJETIVOS.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	4
INTRODUCCIÓN.....	6
ANTECEDENTES.....	7
CRONOLOGÍA HISTÓRICA DE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE.....	10
EPIDEMIOLOGÍA DE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE.....	13
AGENTE INFECCIOSO.....	14
ASPECTOS CLÍNICOS.....	17
MENINGITIS AMIBIANA PRIMARIA.....	17
CICLO DE VIDA DE <i>NAEGLERIA FOWLERI</i>	18
VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE.....	23
COMPONENTES DEL SISTEMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA.....	24
DEFINICIONES BÁSICAS.....	26
DIAGNÓSTICO.....	27
PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO POR EL LABORATORIO DE CASOS INFECTADOS POR AMIBAS DE VIDA LIBRE	29

DIAGNOSTICO HISTOLÓGICO.....	31
TÉCNICAS INMUNOHISTOQUIMICAS	31
AISLAMIENTO,CULTIVO IDENTIFICADO	33
MUESTRAS SOLIDAS O PEQUEÑAS.....	33
TRATAMIENTO	34
CONCLUSIÓN.....	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

IMPORTANCIA DE LA MENINGO ENCEFALITIS AMEBINA PRIMARIA EN MEXICO.

OBJETIVOS:

Definir los lineamientos bibliográficos y operativos de prevención, control para establecer la vigilancia epidemiológica de la meningitis causada por amibas de vida libre (AVL.)

Determinar la presencia y especie de AVL relacionadas con los casos.

Contar con información sobre su ocurrencia y distribución, con el fin de que se puedan aplicar las medidas de prevención y control.

Las amibas de vida libre son los protozoarios que se han descubierto más recientemente con efectos letales; pueden invadir el sistema nervioso central, la piel y los ojos, causando la muerte o invalidez permanente; se han encontrado en la mucosa nasal y orofaríngea de individuos sanos; la vía de transmisión, o el transporte de trofozoítos o quistes se da a través del agua y el aire

Se desconoce la incidencia y prevalencia de la enfermedad en el mundo, pero se calcula que el riesgo de enfermar por meningitis amibiana primaria (MAP) es de un caso por cada 2.5 millones de exposiciones a agua contaminada en los meses en que la temperatura ambiental aumenta; también se sabe que es más frecuente en hombres que en mujeres (Martínez, 1991).

JUSTIFICACIÓN

La enfermedad causada por amibas de vida libre es grave dado el tipo de lesiones que produce, principalmente en el sistema nervioso, y por la alta letalidad de los casos.

Aspectos importantes para la disminución de la morbimortalidad son la identificación de zonas de riesgo, la detección de casos con su respectivo manejo, y las actividades de promoción a la salud, aunque esto no implica más que un reto, dado que en nuestro país se conocen pocos casos y casi todos fallecieron en no más de una semana de instaurada la enfermedad.

Lo anterior no se debe a deficiencias en los sistemas de notificación o a la vigilancia de enfermedades, sino al desconocimiento del personal de la salud de que algunos casos de infección del sistema nervioso pueden ser causados por amibas de vida libre, por lo que se reportan entonces otras causas (como son meningitis fulminante, meningitis bacteriana sin identificación del agente o cuya etiología está por determinarse). En 1989, en Mexicali el análisis de nueve defunciones reportadas como meningitis bacteriana estableció que, probablemente eran casos de meningitis por amibas de vida libre; un año más tarde se descubrieron cinco nuevos casos causados *por Naegleria fowleri*, en los que la fuente de infección fueron unos canales de agua de riego. De 1990 a 1993 se han confirmado ocho casos.

La morbilidad no depende exclusivamente del individuo infectado, sino de los factores de riesgo de la enfermedad. Es necesario y urgente conocer la situación de la enfermedad (áreas y factores de riesgo, casos, etc.) para implementar medidas de prevención y control que conlleven a una reducción de la morbilidad y secundariamente, tal vez, de la mortalidad.

Es conveniente realizar investigaciones en las áreas con mayor riesgo de la presencia de AVL en el país, para conocer el comportamiento de las especies circulantes, de los casos, así como para establecer las medidas necesarias para su prevención y posible control.

INTRODUCCION

Dentro de los protozoarios causantes de meningitis se encuentran las amibas de vida libre (AVL), que producen problemas oculares, cutáneos y del sistema nervioso central (SNC).

Las AVL son protozoarios del orden *Amoebida*; se han encontrado en una gran diversidad de hábitats: atmósfera, agua (albercas, lagos) y como flora normal en seres humanos. Estas amibas llaman la atención por su capacidad de causar enfermedad, e incluso la muerte, en el hombre y los animales. Por mucho tiempo las AVL fueron consideradas protozoarios sin importancia para la comunidad médica, hasta que algunas especies de *Naegleria* y *Acanthamoeba* mostraron la capacidad de causar meningoencefalitis aguda y crónica en el hombre y en los animales.

La infección causada por *Naegleria fowleri* se denomina Meningoencefalitis amebiana primaria (MAP), parasitosis *que* se presenta en individuos jóvenes y sanos, con el antecedente reciente de haber realizado actividades deportivas en el agua. Su principal hábitat es el agua de albercas (termales), grifos, lagos (asociada a los meses de verano con temperaturas ambientales elevadas); la composición química del agua, temperatura, pH y la acumulación de materia orgánica favorecen la multiplicación de las AVL. Aunque 0.5 partes por millón (ppm) de cloro pueden matar a *N. fowleri*, la cloración insuficiente de las aguas de albercas permite sobrevivir a un número suficiente de amibas.

La puerta de entrada de *N. fowleri* es la cavidad nasal, mediante inhalación de polvo o aspiración de agua o aerosoles contaminados con trofozoítos o quistes, los cuales pasan al Sistema Nervioso Central (SNC) por el neuroepitelio olfatorio; en virtud de la lesión primaria que se produce en el mismo, los síntomas respiratorios pueden ser resultado de hipersensibilidad o infección subclínica. El

periodo de incubación es de 2 o 3 y hasta 7 o 15 días, dependiendo del inóculo y de la patogenicidad de la cepa.

El cuadro clínico tiene un inicio súbito, con curso rápido y fulminante, caracterizado por cefalea frontal, bitemporal intensa, fiebre (de 38.2 a más de 40°C), náusea, vómito (proyectil), y signos de irritación meníngea: rigidez de nuca (Kernig y Brudzinski), encefalitis, fotofobia, edema cerebral, convulsiones, hipertensión intracraneal, confusión y coma. En la gran mayoría de los casos muere aproximadamente a las 48 o 72 horas (o hasta una semana después) del inicio del cuadro principalmente por paro cardiorrespiratorio y edema pulmonar.

ANTECEDENTES

El descubrimiento de que las amibas de vida libre producen meningoencefalitis letal, "*revolucionó el concepto tradicional de la parasitología*", el descubrimiento de que la amiba, al entrar por vía intranasal, podía invadir la mucosa olfatoria, migrar a cerebro y producir meningoencefalitis letal en ratones, fue una revelación impactante. Culbertson reportó los hallazgos patológicos y sugirió la posibilidad de que la exposición de los seres humanos a estas amibas podía provocar enfermedad.

Fowler y Carter 1965-1970 en Australia, reportaron los primeros cuatro casos en seres humanos de meningoencefalitis amebiana primaria por *Naegleria fowleri*; fueron diagnosticados por histopatología y con semejanzas a los cambios patológicos en animales descritos por Culbertson. En Florida, EUA, se identificaron los primeros tres casos, aislando en uno *N. fowleri*. Pereira y Armstrong reportaron aislamientos de *Hartmannella* en nariz, garganta y fluido bronquial. Richmond reportó en un estudio retrospectivo ocho casos de meningitis fatal; posteriormente se descubrieron cuatro casos más. Cerca de Checoslovaquia, se reportaron 16 casos (1962-1965), diagnosticados *postmortem*

por estudios clínicos, histopatológicos y epidemiológicos. Se identificaron más casos, la mayoría causados por *Naegleria*.

Dangeard 1900-1949 en Francia describió la mitosis de la amiba. *Naegleria* explicó las características morfológicas de *A.hartmanni*. Alexeieff 1938 estableció el género *Hartmannella* y el de *Naegleria*; un año más tarde propuso el nombre genérico *Naegleria* para las amibas que poseían la habilidad de transformarse transitoriamente en flagelados y que presentaban división nuclear "promitosis". Schaffer en EUA publicó una monografía con descripción y clasificación de las amibas de agua de mar.

En nuestro país se han reportado en la bibliografía tres casos de meningoencefalitis amibiana primaria; el primero fue un adolescente residente de Mexicali, B. C., que en 1978 falleció por un cuadro súbito de meningitis; el antecedente es que nadaba en agua de canales de riego y había sufrido un traumatismo nasal; el diagnóstico de meningoencefalitis se realizó *postmortem* con estudios histopatológicos. Posteriormente se reportó el caso de un adolescente en Huetamo, Michoacán, que trabajaba en un estanque de peces y murió por un cuadro súbito de meningitis.

El último fue de una niña residente de Monterrey, N. L., a quien se le administró el tratamiento correspondiente y que es la única que sobrevivió a la enfermedad en nuestro país.

En 1989 se estudió un brote de meningitis, probablemente causado por AVL, que tuvo lugar en Mexicali, B. C.; se investigó a nueve adolescentes que fallecieron, y que tenían como antecedente común haber nadado en canales de agua para riego. En esos canales se encontraron AVL de los géneros *Acanthamoeba*, *Willartia*, *Filamoeba*, *Rosculus* y *Naegleria* patógena. En 1990 se

confirmó el primer brote (5 casos) de meningoencefalitis amibiana primaria, en que se aisló *Naegleria fowleri* de los pacientes y en un canal de riego, en Mexicali, B. C.

En virtud de las condiciones en las que se ha tenido noticia del problema de AVL en nuestro país (brote en Mexicali, B.C.), ha surgido la necesidad de crear un sistema de vigilancia en el cual se consideren los lineamientos específicos para la detección de casos, estudio de áreas y factores de riesgo; y la implementación de medidas de prevención y control.

De acuerdo con la estructura del Sistema Nacional de Salud (SNS) y de la propia Secretaría de Salud (SSA), corresponde a la Dirección General de Epidemiología (DGE) la elaboración de normas y procedimientos para la vigilancia epidemiológica de situaciones de emergencia, así como su ejecución, supervisión y evaluación.

La Dirección de Información y Emergencias Epidemiológicas, a través del Departamento de Infecciones Respiratorias Agudas y Tuberculosis, es la responsable de la coordinación intersectorial e intrasectorial del programa. Participa también la Dirección de Epidemiología Aplicada (DEA) en diversos aspectos del manejo de la información y en las propuestas de solución a problemas específicos sobre las meningitis por AVL. Las muestras de casos tomadas para tipificación de las AVL se enviarán a la DGE.

CRONOLOGÍA HISTÓRICA DE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE

1755 Rosenhof observó por primera vez AVL en el microscopio y las llamó *Proteus pequeño*; más tarde, Lineo las clasificó como *Proteus Chaos*.

1800-1849 Publicación del trabajo *Amiba en Alemania* por Ehrenberg. Dujardin, en Francia, describió las *Limax amebas*; Gros, en Rusia, al encontrar amibas en la mucosa oral, las llamó *Amoeba gingivalis*.

1850-1899 F. Aleksandrovich, en Leningrado, descubrió *Entamoeba histolytica* en un paciente de 24 años con disenteria crónica. Flexner, en Virginia, reportó un absceso mandibular causado probablemente por AVL. Schardinger, en Viena, describió que las AVL tenían flagelos.

1900-1949 Dangeard en Francia describió la mitosis de la amiba. Naegler explicó las características morfológicas de *A. hartmanni*. Alexeieff estableció el género *Hartmannella* y el de *Naegleria*; un año más tarde propuso el nombre genérico *Naegleria* para las amibas que poseían la habilidad de transformarse transitoriamente en flagelados y que presentaban división nuclear "promitosis". Schaffer en EUA publicó una monografía con descripción y clasificación de las amibas de agua de mar.

1950-1954 Éste es el periodo más productivo en la investigación de las AVL. Singh estableció las bases de la clasificación taxonómica moderna de las AVL.

Mediante patrones de división nuclear. Nakanishi aisló AVL en un río de Japón; más tarde, Nakamura describió la capacidad fagocitaria de las AVL. De la Arena, en Cuba, aisló AVL del agua.

1958 Algunos cultivos de laboratorio eran invadidos por amibas, y la inoculación fortuita de animales reveló destrucción del tejido del sistema nervioso central y meningoencefalitis fatal. Ese mismo año, las amibas todavía se consideraban saprófitos no dañinos, hasta que Culbertson estableció las características patogénicas de *Acanthamoeba spp.*

El descubrimiento de que las AVL producen meningoencefalitis letal, "revolucionó el concepto tradicional de la parasitología", el descubrimiento de que la amiba, al entrar por vía intranasal, podía invadir la mucosa olfatoria, migrar a cerebro y producir meningoencefalitis letal en ratones, fue una revelación impactante. Culbertson reportó los hallazgos patológicos y sugirió la posibilidad de que la exposición de los seres humanos a estas amibas podía provocar enfermedad.

1965-1970 Fowler y Carter, en Australia, reportaron los primeros cuatro casos en seres humanos de meningoencefalitis amibiana primaria por *Naegleria fowleri*; fueron diagnosticados por histopatología y con semejanzas a los cambios patológicos en animales descritos por Culbertson. En Florida, EUA, se identificaron los primeros tres casos, aislando en uno *N. fowleri*. Pereira y Armstrong reportaron aislamientos de *Hartmannella* en nariz, garganta y fluido bronquial. Richmond reportó en un estudio retrospectivo ocho casos de meningitis fatal; posteriormente se descubrieron cuatro casos más. Cerva, en Checoslovaquia, reportó 16 casos (1962-1965), diagnosticados *postmortem* por estudios clínicos, histopatológicos y epidemiológicos. Se identificaron más casos, la mayoría causados por *Naegleria*.

1971-1980 Kenney, Robert, Rorke, Jager y Stamm reportaron los primeros casos de encefalitis en seres humanos, en los cuales se identificaron claramente como responsables a las amibas del género *Acanthamoeba*; la enfermedad producida por ésta se conoce como encefalitis amibiana granulomatosa (EAG).

1980-1992 Hasta el momento se han reportado más de 200 casos por meningoencefalitis amibiana primaria (MAP) y encefalitis amibiana granulomatosa (EAG) en el mundo. En México se han estudiado 9 casos.

Situación mundial de las aislamientos de *Naegleria fowleri*

Figura 1

Incidencia geográfica de las amebas de vida libre.



EPIDEMIOLOGÍA DE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE

LAS AMIBAS de vida libre (AVL) son los protozoarios que se han descubierto más recientemente con efectos letales; pueden invadir el sistema nervioso central, la piel y los ojos, causando la muerte o invalidez permanente; se han encontrado en la mucosa nasal y orofaríngea de individuos sanos; la vía de transmisión, o el transporte de trofozoítos o quistes se da a través del agua y el aire.

Se desconoce la incidencia y prevalencia de la enfermedad en el mundo, pero se calcula que el riesgo de enfermar por meningitis amibiana primaria (MAP) es de un caso por cada 2.5 millones de exposiciones a agua contaminada en los meses en que la temperatura ambiental aumenta; también se sabe que es más frecuente en hombres que en mujeres (Martínez, 1991).

La infección causada por *N. fowleri*, MAP, se presenta en individuos jóvenes y sanos, con el antecedente reciente de haber realizado actividades deportivas en el agua. Su principal hábitat es el agua de albercas (termales), grifos, lagos (asociada a los meses de verano con temperaturas ambientales elevadas); la composición química del agua, temperatura, pH y la acumulación de materia orgánica favorecen la multiplicación de las AVL. Aunque 0.5 partes por millón (ppm) de cloro pueden matar a *N. fowleri*, la cloración insuficiente de las aguas de albercas permite sobrevivir a un número suficiente de amibas.

Actualmente es insuficiente la información respecto de la respuesta inmunológica del organismo a la infección por *N. fowleri*; probablemente esto se debe a que los pacientes fallecen antes o al mismo tiempo en que se producen los niveles de anticuerpos detectables. Actualmente no se sabe si existen factores genéticos de otra índole que predispongan a la MAP.

Acanthamoeba es un protozoario que se ha reportado como "flora normal" en individuos sanos; se ha aislado en muestras de agua, aire, lentes de contacto,

materia fecal de aves, reptiles y mamíferos. La infección se ha observado en reptiles, perros, peces y seres humanos con enfermedades crónicas, o en individuos inmunocomprometidos (con transplantes, neoplasias, esplenectomía, deficiencia inmunitaria de células B, cirugías con infección y pérdida de órganos, radioterapia, tratamiento con corticoesteroides, SIDA, etc.). La infección se da en cualquier época del año aun sin exposición al agua. Por lo tanto, son obvias las aplicaciones que estos casos de infección por AVL tienen respecto de la salud pública.

AGENTE INFECCIOSO

La infección causada por *Naegleria fowleri* se denomina Meningoencefalitis amebiana primaria (MAP), parasitosis que se presenta en individuos jóvenes y sanos, con el antecedente reciente de haber realizado actividades deportivas en el agua. Su principal hábitat es el agua de albercas (termales), grifos, lagos (asociada a los meses de verano con temperaturas ambientales elevadas); la composición química del agua, temperatura, pH y la acumulación de materia orgánica favorecen la multiplicación de las AVL. Aunque 0.5 partes por millón (ppm) de cloro pueden matar a *N. fowleri*, la cloración insuficiente de las aguas de albercas permite sobrevivir a un número suficiente de amibas.

N. fowleri también ha recibido el nombre de *Naegleria aerobia*. Se han descrito otras especies como *N. gruberi*, *N. jadini*, *N. lovaniensis*, *N. australiensis*, *N. andersoni*, pero sólo de *N. fowleri* se ha demostrado que es patógena para el hombre.

En contraste con *Naegleria*, *Acanthamoeba* tiene dos estadios en su ciclo de vida: trofozoíto y quiste; el trofozoíto de *Acanthamoeba* presenta procesos espinosos (acantopodia); mide de 15 a 20 μm ; el citoplasma es granular, con

lisosomas, vacuolas y mitocondrias; tiene un núcleo largo y un nucléolo central denso, rodeado por una zona clara; en un medio desfavorable (bajo en nutrientes) se transforma en quiste. Éste puede tener una forma estrellada, hexagonal, poligonal o esférica; mide de 17 a 20 μm de diámetro y también se le han observado poros.

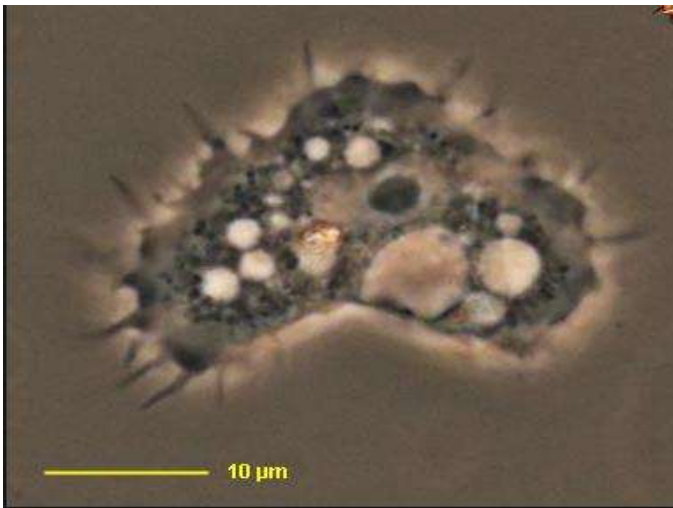


Figura 2 Acanthamoeba spp en estadio de trofozoito

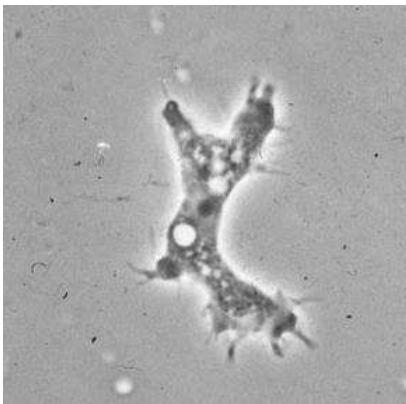


Figura 3 Nótese los pseudópodos

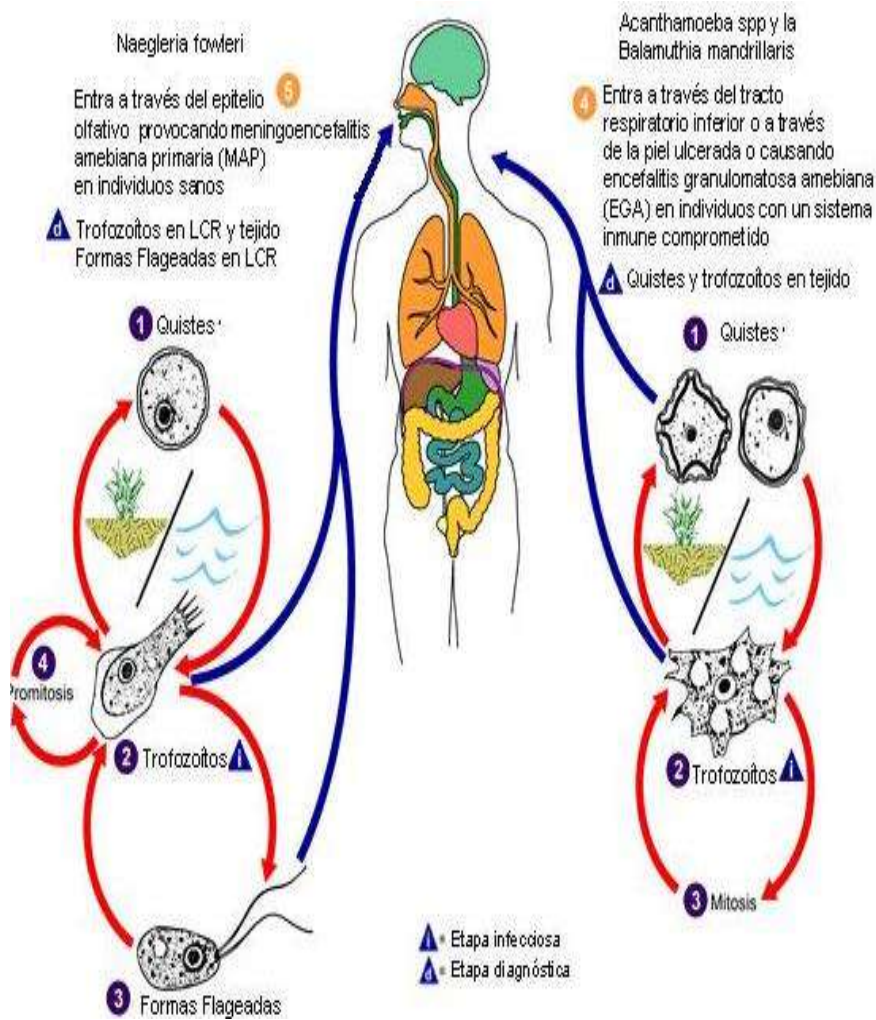


Figura 4. ciclo de vida naegleria fowleri, acantamoeba spp. Fuente CDC de Atlanta.

Es importante destacar la via de entrada,asi como saber que naegleria que es patogena a difencia de acantamoeba, es la unica que presenta formas flageladas.

ASPECTOS CLÍNICOS

MENINGITIS AMIBIANA PRIMARIA (MAP) (NAEGLERIA FOWLERI)

LA PUERTA de entrada de *N. fowleri* es la cavidad nasal, mediante inhalación de polvo o aspiración de agua o aerosoles contaminados con trofozoítos o quistes, los cuales pasan al Sistema Nervioso Central (SNC) por el neuroepitelio olfatorio; en virtud de la lesión primaria que se produce en el mismo, los síntomas respiratorios pueden ser resultado de hipersensibilidad o infección subclínica.

El periodo de incubación es de 2 o 3 y hasta 7 o 15 días, dependiendo del inóculo y de la patogenicidad de la cepa.

El cuadro clínico tiene un inicio súbito, con curso rápido y fulminante, caracterizado por cefalea frontal, bitemporal intensa, fiebre (de 38.2 a más de 40°C), náusea, vómito (proyectil), y signos de irritación meníngea: rigidez de nuca (Kernig y Brudzinski), encefalitis, fotofobia, edema cerebral, convulsiones, hipertensión intracraneal, progreso rápido a letargia, confusión y coma. La gran mayoría de los casos muere aproximadamente a las 48 o 72 horas (o hasta una semana después) del inicio del cuadro, principalmente por paro cardiorrespiratorio y edema pulmonar.

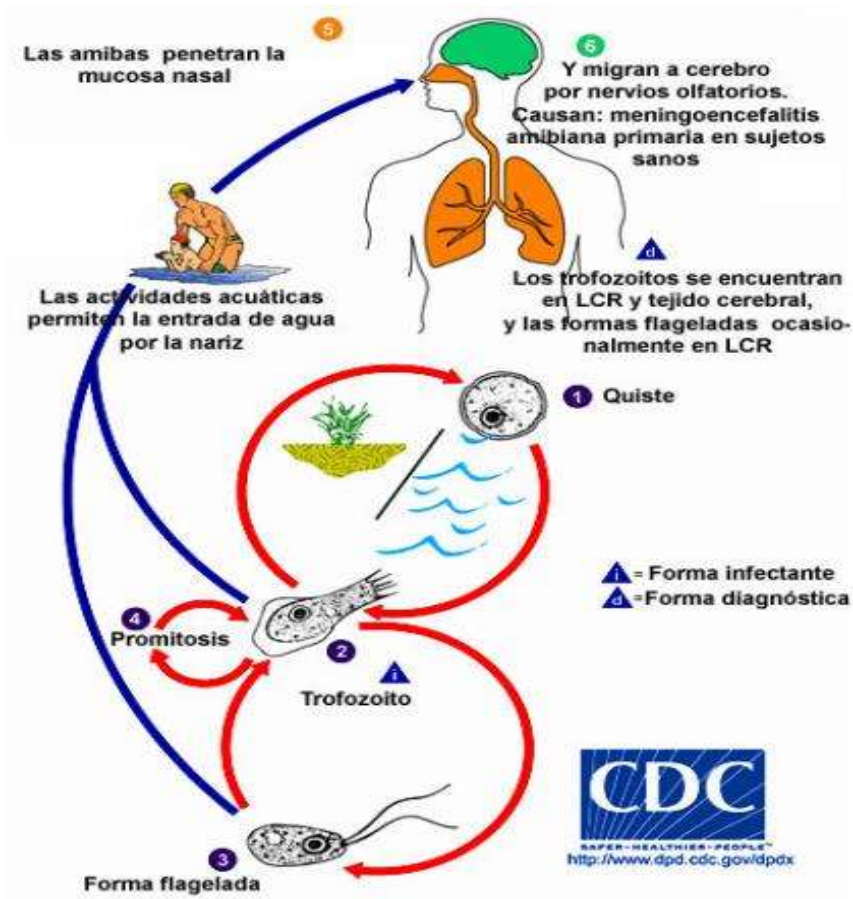
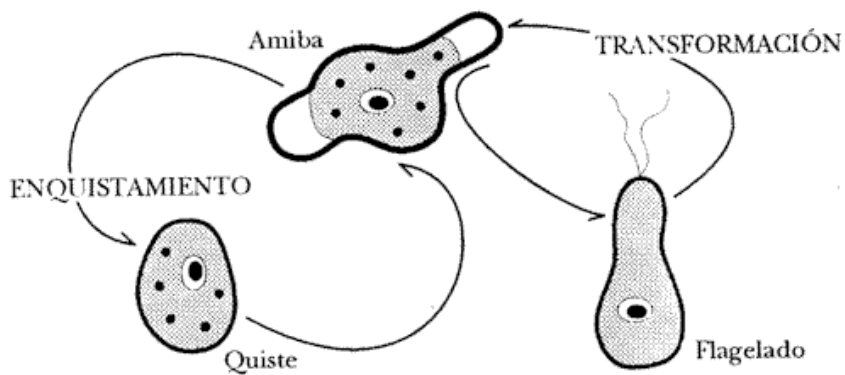


Figura 5. Ciclo de vida de *Naegleria fowleri* (fuete CDC de Atlanta).



Estadios de *Naegleria fowleri* fase infectante trofozoito (reproducción asexual).

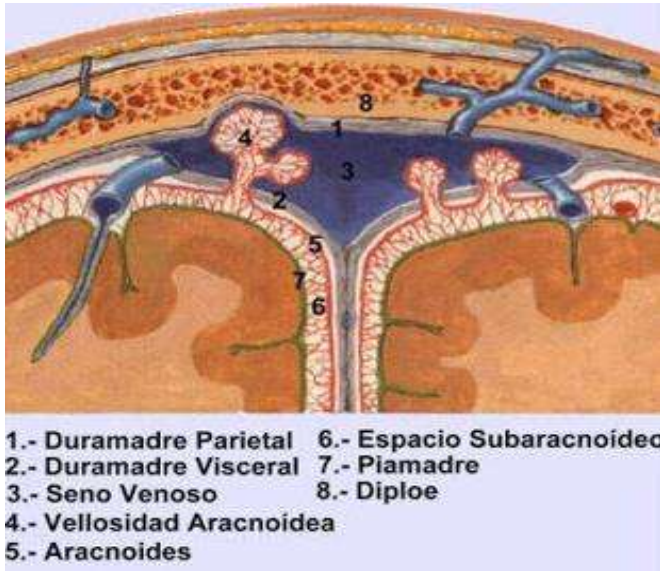


Figura 6

Estructuras anatómicas afectadas por *Naegleria fowleri*.

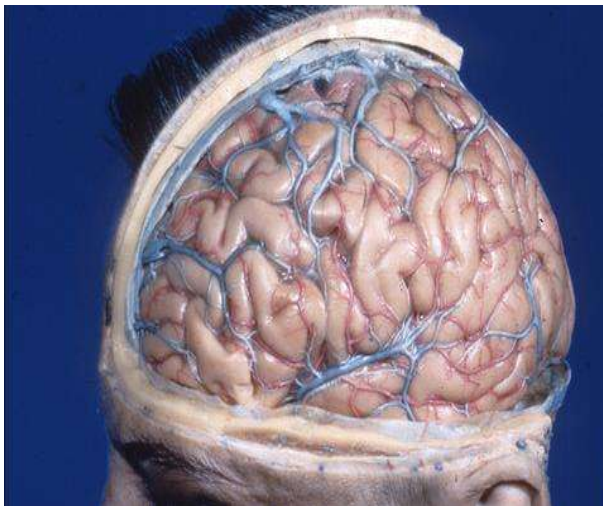


Figura 7 sistema nervioso central.

Ya una vez que la parasitosis se a instalado en las siguientes estructuras son las que se ven afectadas.

Las imágenes que se presentan son *Naegleria fowleri* en estadios de trofozoito. Obtenidas de LCR. Directo al microscopio. Pueden presentar pseudópodos anteriores de movimiento rápido de extremo romo (lobópodos).

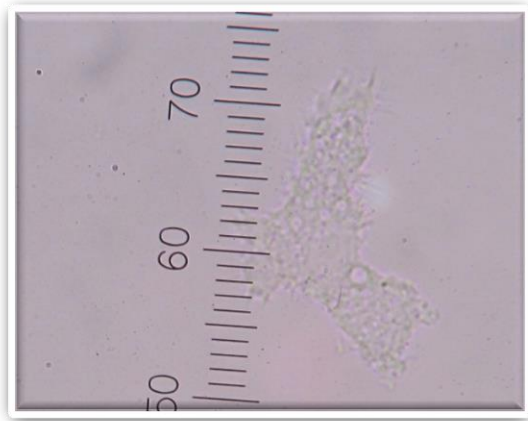


Figura 8

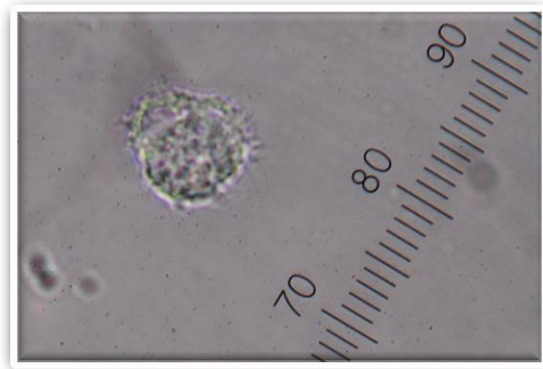


figura 8



Figura 9

Estadios de *Naegleria fowleri*. Fuente diplomado de parasitología teórico practico 2012.



Figura 10

Naegleria fowleri trofozoito de médula espinal teñida con tricrómico de gomori.

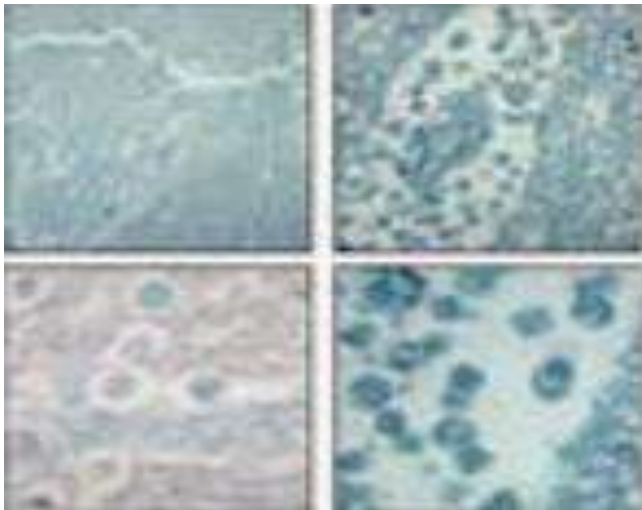


Figura 11

Naegleria fowleri en cerebro teñida con tricrómico de gomori

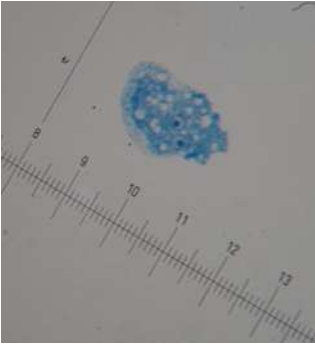


figura 12

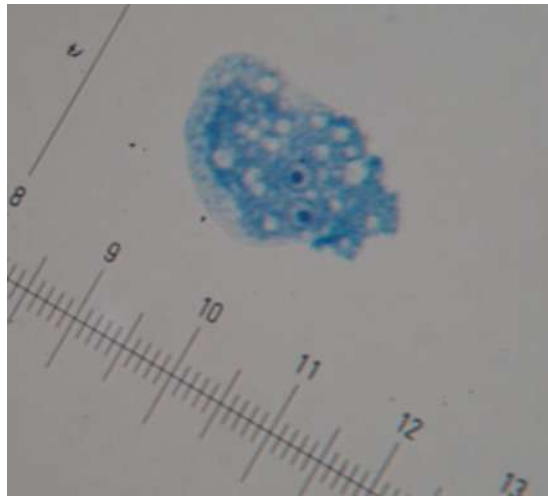


Figura 13

Muestra de LCR.

Naegleria floweri, en estadio de trofozoito teniña con tricrómico de gomori.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LAS MENINGITIS POR AMIBAS DE VIDA LIBRE

En virtud de las condiciones en las que se ha tenido noticia del problema de AVL en nuestro país (brote en Mexicali, B.C.), ha surgido la necesidad de crear un sistema de vigilancia en el cual se consideren los lineamientos específicos para la detección de casos, estudio de áreas y factores de riesgo; y la implementación de medidas de prevención y control.

De acuerdo con la estructura del Sistema Nacional de Salud (SNS) y de la propia Secretaría de Salud (SSA), corresponde a la Dirección General de Epidemiología (DGE) la elaboración de normas y procedimientos para la vigilancia epidemiológica de situaciones de emergencia, así como su ejecución, supervisión y evaluación.

La Dirección de Información y Emergencias Epidemiológicas, a través del Departamento de Infecciones Respiratorias Agudas y Tuberculosis, es la responsable de la coordinación intersectorial e intrasectorial del programa. Participa también la Dirección de Epidemiología Aplicada (DEA) en diversos aspectos del manejo de la información y en las propuestas de solución a problemas específicos sobre las meningitis por AVL. Las muestras de casos tomadas para tipificación de las AVL se enviarán a la DGE.

COMPONENTES DEL SISTEMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE MENINGITIS POR AVL

Las instituciones del SNS están preparadas para detectar, estudiar y controlar el problema en cualquier sitio y a gran escala. En cuanto a la epidemiológica, las acciones se dirigen básicamente a:

- 1) Crear un sistema de vigilancia de las meningitis por AVL, que incluya a todas las unidades de salud.

- 2) Elaborar y difundir las definiciones operacionales de caso, brote y defunción causadas por meningitis por AVL.

- 3) Establecer el grado de conocimiento que el personal médico tiene respecto del padecimiento, su manejo y su vigilancia epidemiológica.

- 4) Conocer la incidencia real de las meningitis por AVL en la población e identificar áreas de alto riesgo para poder medir con exactitud su frecuencia.

- 5) Instaurar un sistema de vigilancia activa en las unidades de segundo y tercer nivel de atención a la salud en todo el país, que son las que cuentan con mayores probabilidades de detectar casos probables; este sistema deberá funcionar como una red de unidades centinelas.

6) Apoyar localmente el estudio de casos y brotes, con el fin de señalar las posibles fuentes de infección y sugerir las medidas pertinentes de prevención y control.

7) Capacitar a los laboratorios para el estudio de especies de AVL y para el monitoreo de posibles fuentes de infección en las áreas de alto riesgo.

8) Instituir un programa de adiestramiento y capacitación continua para la vigilancia y control de las meningitis por AVL en las áreas de riesgo.

9) Apoyar a las instituciones encargadas de la prevención y control del padecimiento, para lograr el control oportuno de la aparición de casos y brotes, y para evitar su diseminación.

Para la vigilancia epidemiológica de las meningitis por AVL en México ya se han establecido definiciones de lo que debe entenderse por caso de meningitis por AVL, probable o confirmado, defunción por meningitis por AVL, y brote epidémico del padecimiento; dichas definiciones determinan la sensibilidad y especificidad del sistema, y deberán aplicarse invariablemente en todo el país. A continuación las expondremos.

DEFINICIONES BÁSICAS

caso probable. Toda persona con sintomatología de infección del sistema nervioso, que mediante estudio de líquido cefalorraquídeo muestre datos de infección bacteriana, y en la cual no se haya hecho un diagnóstico etiológico.

caso confirmado. Toda persona con cuadro clínico compatible con infección de sistema nervioso, y en la cual se identifiquen AVL con pruebas de laboratorio (observación directa de LCR, además de la tipificación de la especie de las AVL).

brote. Es la presencia de dos o más casos confirmados, asociados entre sí, en tiempo, lugar y personas, o con una posible fuente de infección común.

defunción. Todo certificado de defunción donde aparezca como causa básica o asociada el diagnóstico de meningitis por meningoencefalitis amibiana primaria (MAP), encefalitis amibiana granulomatosa (EAG), meningitis por AVL, meningitis por *Naegleria fowleri* o por *Acanthamoeba*.

Según las anteriores definiciones, frente a todo caso probable o confirmado, brote o defunción por meningitis por AVL, deberá iniciarse el estudio epidemiológico y hacerse la notificación correspondiente.

DIAGNÓSTICO

No existe diferencia entre las MAP y las meningitis causadas por bacterias; el líquido cefalorraquídeo (LCR) presenta características semejantes a las de las infecciones bacterianas (cuadro 1), aunque el examen directo de LCR es el procedimiento diagnóstico más eficaz y oportuno; frecuentemente las amibas se confunden con leucocitos, por lo que es necesario observar con un mayor aumento para poder diferenciarlas. El diagnóstico se puede establecer en una unidad de emergencia, obteniendo LCR de la región lumbar o punción de cisterna; se prefiere que se use el centrifugado con el fin de concentrar los trofozoítos (1500 rpm durante 15 minutos).

La tomografía axial computarizada (TAC) muestra obliteración de cisterna, hemisferios y espacio subaracnoideo; con un medio de contraste se observa un ensanchamiento de dichas regiones.

Las pruebas serológicas no son de utilidad en el diagnóstico de *N. fowleri*, pues los pacientes fallecen rápido y no se logra detectar la respuesta inmune.

Finalmente, el diagnóstico se hace por cultivo de *N. fowleri* en LCR, y la demostración de trofozoítos mediante biopsia de tejido cerebral.

En los casos de EAG, el aislamiento e identificación de trofozoítos de *Acanthamoeba* y de los quistes en el LCR representan el método diagnóstico efectivo; el examen del LCR es diagnóstico, aunque se debe valorar estrictamente la punción lumbar por causa de la hipertensión cerebral.

La biopsia de tejido cerebral puede presentar necrosis de tejido asociada a una reacción inflamatoria compuesta de linfocitos, células gigantes multinucleares, células plasmáticas y leucocitos polimorfonucleares libres.

Los trofozoítos característicos y los quistes amibianos pueden localizarse en la zona perivascular y en el tejido necrótico. Puede ser de utilidad la tomografía computarizada.

La infección por *Acanthamoeba* puede manifestarse como queratitis, y aunque no es tema de este documento, es importante señalarlo como un problema de salud.

El cultivo, aislamiento e identificación de las AVL es un procedimiento necesario para elaborar el diagnóstico y establecer la clasificación taxonómica de los casos de MAP y EAG; las muestras que se tomen para el estudio de laboratorio pueden ser:

- a) Líquido cefalorraquídeo (LCR).
- b) Tejido cerebroespinal.
- c) Secreciones nasales.
- d) Lesiones de la piel, pulmón y tejido ocular.
- e) Agua y aire.

La vigilancia epidemiológica de las meningitis causadas por AVL se llevará a cabo en áreas identificadas como de riesgo o donde se confirme la circulación de las AVL ya referidas como patógenas; la vigilancia será permanente, y se intensificará en los meses de mayor temperatura ambiental (verano). Se afianzará una estrecha vigilancia epidemiológica en todas las unidades de salud, ya sea institucionales o particulares (hospitales, centros de salud, clínicas, laboratorios, etc.), a las que acuda la población general a demandar atención médica por esta enfermedad, según los criterios de clasificación de caso.

Asimismo se realizarán estudios en población abierta, con el objeto de determinar las áreas en riesgo.

PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO DE CASOS INFECTADOS POR AMIBAS DE VIDA LIBRE

RECOMENDACIONES PARA LA TOMA, MANEJO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

Para el aislamiento e identificación de las amibas que causan enfermedades del sistema nervioso central (SNC) y queratitis, entre otras, se deben obtener muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y del tejido (tomado por biopsia de las áreas afectadas). Las muestras deben obtenerse en forma aséptica. Es recomendable que las muestras se mantengan a temperatura ambiente y que no sean congeladas o refrigeradas. Las muestras deben ser procesadas rápidamente en condiciones de esterilidad, y el personal que las maneje deberá tomar las precauciones apropiadas, como el uso de guantes y cubrebocas. El LCR y el material de biopsia restante debe almacenarse a -20°C para la detección de antígenos y/o anticuerpos por técnicas inmunoquímicas. Los tejidos no utilizados, así como los obtenidos de autopsias, deben conservarse en regulador neutro con formaldehído al 10%, para exámenes histológicos futuros.

EXAMEN DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

El procedimiento más importante para el diagnóstico rápido de la meningoencefalitis amibiana primaria (MAP) y para la encefalitis amibiana granulomatosa (EAG) es el examen microscópico directo del LCR por medio de preparaciones en fresco y buscando amibas móviles. En el LCR las amibas se pueden confundir fácilmente con leucocitos, pero se identifican por la presencia del típico nucléolo central esférico, característico de estas amibas. Para distinguir entre los dos géneros (*Naegleria* y *Acanthamoeba*) lo cual es relativamente sencillo, se toman en cuenta el tamaño y la forma del trofozoíto, así como el modo de locomoción y el tipo de pseudópodos de las amibas.

La confirmación de la presencia de amibas en el LCR se obtiene con la tinción de preparaciones permanentes de LCR, usando los colorantes apropiados. Las tinciones más recomendadas son la Wright, la de Giemsa, la tricrómica de Wheathey y la de hematoxilina.

Con las tinciones de Giemsa o Wright, las amibas presentan un citoplasma retráctil, ligeramente teñido de azul, con un núcleo tenue de color rosáceo. Con la tinción de hematoxilina férrica el núcleo se tiñe de negro y el citoplasma de un color azulado o grisáceo. Con la tinción tricrómica, los elementos nucleares de la amiba se tiñen de rojo, mientras que el citoplasma se observa de color verdeazulado.

Las preparaciones de LCR de pacientes con meningoencefalitis se tiñen rutinariamente con la técnica de Gram en muchos laboratorios clínicos; sin embargo la tinción de Gram es de poco uso en el diagnóstico de la MAP y EAG, porque la fijación por calor antes de la tinción hace que las amibas se tiñan pobremente y pierdan sus características distintivas.

Fuente: J.M.N.Martinez,Free amebas:

natural history,prevention,diagnosis,pathology and treatment of disense, Boca raton CRC presess 1985.

LCR	NORMAL	MEAP
ASPECTO	TRANSPARENTE	OPALINO,TURBIO,PURULENTO
CELULAS	0-10	AUMENTADAS
TIPO	MONOCITOS	PMN
GLUCOSA	40 - 80	≤40
PRESION(mg/H ₂ O)	50 -200	≥ 200
PROTEINAS	15 - 45 mg/dl (lumbar)	AUMENTADAS

DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO

Ya que la enfermedad amibiana del SNC se confunde clínicamente con meningitis bacteriana y que en muchos de los pacientes las amibas no se identifican *premortem* en el LCR, la etiología amibiana de la enfermedad en todos estos casos, sólo se puede confirmar después del examen microscópico del tejido cerebral fijado en formaldehído. Las secciones de tejido cerebral son teñidas rutinariamente en la mayoría de los laboratorios de patología clínica con hematoxilina y eosina (HE), platamethenamina de Gomori (GMS) y ácido peryódico de Schiff (PAS). En las secciones de tejidos bien fijados y teñidos, las amibas pueden identificarse fácilmente por su característica morfológica nuclear. Los quistes casi nunca se encuentran en el tejido cerebral de los pacientes con MAP causada por *N. fowleri*, a diferencia del tejido cerebral de pacientes con EAG, causada por *Acanthamoeba* spp, donde son vistos ocasionalmente. Tanto los trofozoítos de *Naegleria* como los de *Acanthamoeba* presentan las mismas características tintoriales en las muestras de las secciones de tejidos. En la tinción con HE el citoplasma de ambos tipos de amibas aparece azulado, mientras que los elementos nucleares se tiñen de color púrpura.

TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

Las secciones histológicas teñidas rutinariamente con HE, PAS, GMS, o con tinción tricrómica, no proveen suficiente información para permitir la identificación final de las especies de amibas implicadas, especialmente en el caso de la EAG; en estos casos las técnicas inmunoquímicas, como la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la prueba de inmunoperóxidos (IP), resultan ser muy útiles en la determinación correcta de la especie de las amibas participantes.

La utilidad y aplicabilidad de las técnicas inmunohistoquímicas depende, sin embargo, de la preservación de la actividad antigénica y del mantenimiento de la integridad morfológica de las amibas en las secciones de tejido fijadas, así como de la calidad de los antisueros usados. Los antisueros contra las especies deseadas de amibas generalmente se producen por medio de cultivos en tejidos de conejos.

Antigénicamente las amibas de los géneros *Naegleria* y *Acanthamoeba* son muy diferentes, por lo que el antisuero de *N. fowleri* no reacciona con ninguna de las de *Acanthamoeba*, y viceversa. Algunos miembros del género *Acanthamoeba*, sin embargo, especialmente *A. castellanii*, *A. hiysodes* y *A. polyphaga*, son antigénicamente similares; de ahí que el antisuero producido contra *A. castellanii* dará reacción cruzada con los otros, los producidos contra las otras dos especies (*A. hiysodes* y *A. polyphaga*). En estos casos, la adsorción selectiva de los antisueros o la dilución de éstos ayudan a la especificidad de las pruebas; las ventajas de la prueba de inmunoperoxidasa respecto de la inmunofluorescencia indirecta son que la primera no necesita equipo especial (como el microscopio de fluorescencia) y que las preparaciones permanentes pueden almacenarse por tiempo indefinido. Las desventajas son que los reactivos o son carcinogénicos o son corrosivos, por lo que debe tenerse un cuidado especial al manejarlos.

AISLAMIENTO, CULTIVO E IDENTIFICACIÓN

Para el aislamiento de las AVL a partir de productos biológicos (LCR, biopsia, exudado, etc.) se emplean cajas de Petri con Agar nutritivo adicionado de una cepa de *Escherichia coli* donde se coloca la muestra y se incuban a temperatura ambiente.

Por la gran diversidad de hábitats y sitios en los que se encuentran estas amibas, los tipos de muestras de las que se han aislado son también diversas, como agua, arena, lodo, plantas acuáticas, aire, alimentos, tejidos, exudados y LCR. Al momento de la recolección debe registrarse la temperatura y los datos del lugar en que tomó la muestra; las muestras deben mantenerse a una temperatura entre 20 y 35°C y procesarse antes de 24 horas.

MUESTRAS SÓLIDAS O PEQUEÑAS

Para el caso de muestras como arena, lodo, plantas acuáticas, alimentos, tejidos y LCR, la siembra se hará directamente sobre las placas de Agar nutritivo con una cepa de *Escherichia coli*. La cantidad debe de ser tal que permita el examen microscópico a través de la caja; Deben, tomarse por triplicado para ser incubadas a 37, a 42 y a 45°C, cada una.

Para el aislamiento de estas amibas a partir ya sea del medio ambiente o de productos biológicos, los pasos a seguir son:

- 1) concentración de la muestra.
- 2) siembra en medios de cultivo monoaxiánicos, y axianización.

A partir de los cultivos monoaxiánicos es posible implementar otros criterios de identificación, aparte del morfológico, como son:

- a) prueba de tolerancia a la temperatura.
- b) prueba de transformación ameboflagelar.
- c) pruebas inmunológicas como inmunodifusión doble, inmunolectroforesis e inmunofluorescencia indirecta.
- d) pruebas bioquímicas como isoelectroenfoque en agarosa de isoenzimas y proteínas totales, y
- e) pruebas de patogenicidad por inoculación en animales de laboratorio y en cultivos de tejidos.

TRATAMIENTO.

El tratamiento es agresivo, con fármacos de alta toxicidad, ineficaz en la mayoría de los casos. Esto puede ser ocasionado al diagnóstico equivocado.

Se han utilizado combinaciones de: anfotericina B (intravenosa, intratecal) al cual es sensible esta amiba.

Miconazol, ketoconazol, fluconazol,

Rifampicina y sulfisoxazol.

Uno de los reportes de México hace mención de un niño de 10 años, tratado efectivamente con anfotericina B, fluconazol y rifampicina.(Vargas-ZepedaJ,*etal.*,2005).

La azitromicina ha resultado efectiva *in vitro* (cultivo celular) e *in vivo* (modelo en ratón). (Da Rocha-Azevedo, *et al.* 2009).

Conclusión:

Las actividades de fomento a la salud son muy importantes, pues ayudan a prevenir y controlar los brotes. Se debe insistir en promover el conocimiento de la enfermedad, los riesgos para enfermar, las medidas de prevención y control en las zonas consideradas de alto riesgo (casos confirmados, albercas, canales, lagos, estanques, etc.). Las anteriores actividades se deben apoyar con materiales como trípticos, folletos, posters, videos, mensajes en medios de comunicación, etc., que deben intensificarse durante el verano. Dichas actividades se deberán realizar en estrecha colaboración con la comunidad, pues su participación es de suma importancia.

En las áreas donde exista riesgo de circulación de AVL (*Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba*) se deberá supervisar y vigilar (por las áreas de competencia y responsabilidad correspondientes) la concentración de cloro residual y la calidad microbiológico del agua, específicamente en áreas de recreo (albercas públicas y albercas particulares). En las posibles fuentes de infección de AVL donde no exista la posibilidad de clorar el agua, es necesario incrementar las campañas de promoción a la salud dirigidas a la población que acude a realizar actividades acuáticas, y promover el manejo adecuado de aguas contaminadas.

Bibliografía.

1. Adamas RD. Victor M. Roper AH. Principios de neurología sexta edición en castellano Mc Graw - Hill- interamerican, 1999.
2. Lyndsay KW.; Bone I.; Callander R neurología y Neurocirugía Ilustrada. Versión Española Angeles Peiro 1993.
3. Osebach Rk; Zeidman SM. Infections in Neurological Surgery. Diagnosis and Management. Lipicott - Raven Publishers. 1999
4. Carlos Santiago. Abraham Arana. Pablo Lorenzana. Neurología sexta edición (falta editorial buscarla en internet).
5. Carlos Santiago Uribe Uribe, Abraham Arana Chacón, Pablo Lorenzana Pombo. Neurología Fundamentos de medicina sexta edición. Corporativo para investigaciones Biológicas, 2002.
6. Rina Girard de Kaminsky .M Sc. Darian Matute Metodos para laboratorio de atención primaria de salud. Universidad nacional autónoma de honduras. Segunda edición 2003.
7. A. Martínez-Palomo (editor), *Amibiasis*, Editorial Médica Panamericana, México, 1989.
8. E. Beltrán, *Notas de historia protozoológica. IV. "Las amibas parásitas"*, *Anales de la Sociedad Mexicana de Historia de la Ciencia y de la Tecnología (México)* 4: 259-308, 1974.
9. *Clinical Microbiology Reviews*, July 2002 p.342 -345. copyright 2002 American Society for Microbiology All Rights Reserved
10. Paz María Salazar Schettino. Margarita Cabrera Bravo. Martha Bucio Torres. Irene de Haro Arteaga. Diagnóstico morfológico de las parasitosis. Tercera edición. Editorial Mendez Editores 2011.
11. American Society for Microbiology. All Rights Reserved *Journal of Clinical Microbiology*, 2007 p.564 - 567.
12. Yoder JS, Straif-Bourgeois S, Roy SL, Moore TA., Visvesvara GS, Ratard RC, Hill VR, (...), Beach MJ. Primary amebic meningo-encephalitis deaths

- associated with sinus irrigation using contaminated tap water. *Clin Infect Dis.* 2012;55(9):e79-e85.
13. Kemble SK, Lynfield R, DeVries AS, Drehner DM, Pomputius WF 3rd, Beach MJ, Visvesvara GS, da Silva AJ, Hill VR, Yoder JS, Xiao L, Smith KE, Danila R. Fatal *Naegleria fowleri* Infection Acquired in Minnesota: Possible Expanded Range of a Deadly Thermophilic Organism. *Clin Infect Dis.* 2012;54(6): 805-809. doi:10.1093/cid/cir961
 14. Lopez C, Budge P, Chen J, Bilyeu S, Mirza A, Custodio H, Irazuzta J, Visvesvara G, Sullivan KJ. Primary Amebic Meningoencephalitis: A Case Report and Literature Review. *Pediatr Emerg Care.* 2012 Mar;28(3):272-276. (Únicamente resumen. Solicitar).
 15. Cervantes-Sandoval I, Serrano-Luna JJ, Garcia-Latorre E, Tsutsumi V, Shibayama M. Mucins in the host defence against *Naegleria fowleri* and mucinolytic activity as a possible means of evasion. *Microbiology* 2008; 154:3895-3904. DOI 10.1099/mic.0.2008/019380-0
 16. Marciano-Cabral F, Cabral GA. The immune response to *Naegleria fowleri* amebae and pathogenesis of infection. *FEMS Immunol Med Microbiol,* 2007;51 (2):243-259. 10.1111/j.1574-695X.2007.00332.x
 17. Lares Villa F, De Jonckheere JF, De Moura H, Rechi Iruretagoyena A, Ferreira E, Fernández G, Ruíz Matus C, Visvesvara GS. Five Cases of Primary Amebic Meningoencephalitis in Mexicali, Mexico: Study of the Isolates. *J Clin Microbiol* 1993; 685 - 688.
 18. Rocha-Azevedo BR, Jamerson M, Cabral GA, Marciano-Cabral F. *Acanthamoeba culbertsoni*: Analysis of amoebic adhesion and invasion on extracellular matrix components collagen I and laminin-1. *Exp Parasitol,* sept 2010;126(1): 79-84.
 19. Webster D, Umar I, Kolyvas G, Bilbao J, Guiot MC, Duplisea K, Qvarnstrom Y, Visvesvara GS. Treatment of granulomatous amoebic encephalitis with voriconazole and miltefosine in an immunocompetent soldier. *Am J Trop Med Hyg.* 2012 Oct;87(4):715-8. doi: 10.4269/ajtmh.2012.12-0100.

20. Aichelburg AC, Walochnik J, Assadian O, Prosch H, Steuer A, Pernecky G, et al. Successful treatment of disseminated *Acanthamoeba* sp. infection with miltefosine. *Emerg Infect Dis* [serial on the Internet]. 2008 Nov
21. Bravo F, Gotuzzo E. Amebiasis de vida libre. *Dermatol Pediatr Lat* 2005; 3(1):67-70. Caso clínico. Lesiones cutáneas.
- Dunnebacke TH, Schuster FL, Yagi S, Booton GC. *Balamuthia mandrillaris* from soil samples. *Microbiology*, Sep 2004;150(Pt 9): 2837-42.