

## **Imagenología diferencial por microscopia confocal *in vivo* entre la epitelopatía por *Acanthamoeba* y la queratitis por herpes simple**

*In vivo* confocal microscopy imaging for the differential diagnosis of *Acanthamoeba* epitheliopathy and herpes simplex keratitis

María del Carmen Benítez Merino<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0773-3680>

Silvia María López Hernández<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6266-2347>

Alexeide de la C Castillo Pérez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8319-6592>

Madelyn Jareño Ochoa<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7280-8138>

Justo L Noriega Martínez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4304-3898>

<sup>1</sup>Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer". La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [mcarmenbm@infomed.sld.cu](mailto:mcarmenbm@infomed.sld.cu)

### **RESUMEN**

La queratitis por *Acanthamoeba* es una infección corneal de baja incidencia, condicionada por varios factores, pero con manifestación clínica variada y sintomatología típica. En su fase epitelial debe ser diferenciada de otras queratitis, específicamente de la queratitis por herpes simple, por la similitud entre ambas en cuanto a las características de la lesión corneal. La microscopia confocal *in vivo* constituye una alternativa diagnóstica. Es una biopsia fotográfica en cuyas imágenes podemos describir los quistes y trofozoítos de *Acanthamoeba* desde etapas iniciales, que nos ayudan a diferenciarla de otros tipos de queratitis e iniciar el tratamiento precoz. Se realizó una búsqueda de artículos publicados, con el objetivo de mostrar las imágenes por microscopia confocal de la fase epitelial de la infección corneal por *Acanthamoeba* y herpes simple. Se utilizó la plataforma Infomed, específicamente la Biblioteca Virtual de Salud.

**Palabras clave:** Microscopia confocal *in vivo*; *Acanthamoeba*; herpes simple; queratitis.

## ABSTRACT

*Acanthamoeba* keratitis is a low-incidence corneal infection caused by several factors and characterized by a variety of clinical manifestations and typical symptoms. In its epithelial phase, it should be differentiated from other keratitis, particularly from herpes simplex keratitis, due to the similar characteristics of the corneal lesion. *In vivo* confocal microscopy is a diagnostic alternative consisting in a photographic biopsy showing images of *Acanthamoeba* cysts and trophozoites since their initial stages, thus allowing differentiation from other types of keratitis and the initiation of early treatment. A search was conducted of published papers with the purpose of showing confocal microscopy images of the epithelial phase of *Acanthamoeba* and herpes simplex corneal infection. Use was made of the platform Infomed, specifically the Virtual Health Library.

**Key words:** *In vivo* confocal microscopy; *Acanthamoeba*; herpes simplex; keratitis.

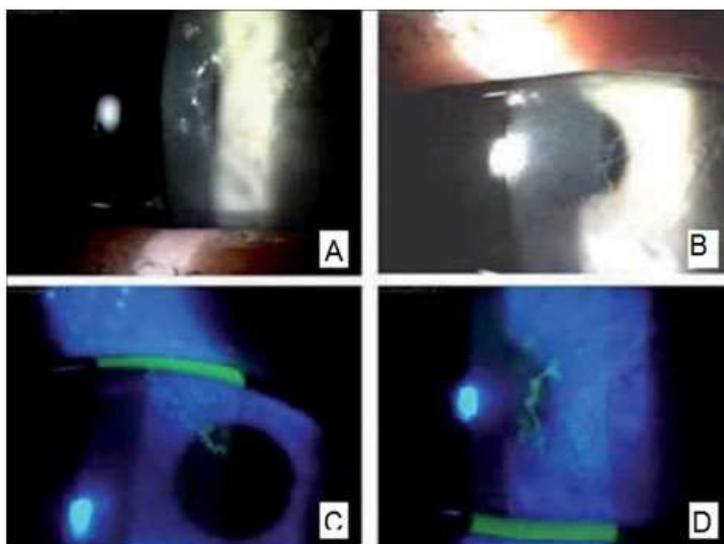
Recibido: 31/05/2020

Aceptado: 07/07/2020

## Introducción

La queratitis por *Acanthamoeba* (QA) es una infección de la córnea difícil de tratar que predomina en portadores de lentes de contacto (LC). Su incidencia aumentó a principios del año 1980 con la generalización del uso de LC blandos y la incorrecta higienización, entre otros factores de riesgo. Disminuyó hacia 1990 con el desarrollo de novedosos productos de desinfección para LC.<sup>(1)</sup> El gran problema de los pacientes con QA es la dificultad para realizar el correcto diagnóstico en la fase temprana y comenzar el tratamiento precoz para evitar el avance de la enfermedad con la consiguiente pérdida de la visión.

Los signos clínicos tempranos de la infección corneal por *Acanthamoeba* son los infiltrados subepiteliales, queratitis pseudodendrítica y neuroqueratitis radial, pero a menudo puede confundirse con una queratitis causada por herpes simple (Fig. 1) o puede estar presente como infección oportunista en pacientes con queratitis herpética.<sup>(2,3,4,5,6)</sup>



Fuente: Martone G. *In Vivo* Confocal microscopy in bilateral herpetic keratitis: A Case Report. *Europ J. Ophthalmol.* 2008;18(6). p. 994-7.

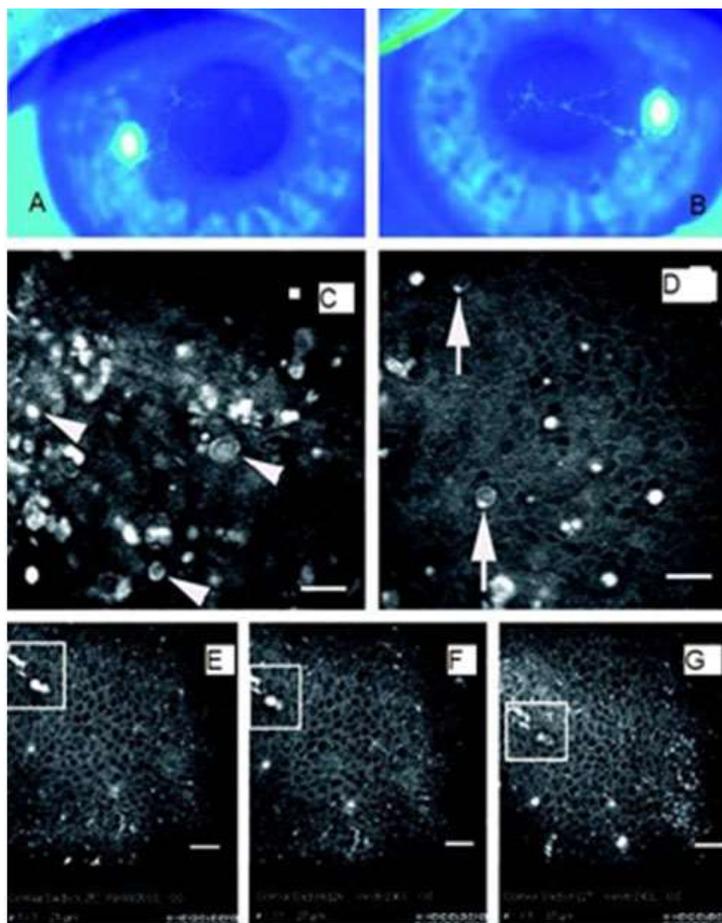
**Fig. 1** – A y B: examen en lámpara de hendidura en ambos ojos. C y D: úlcera corneal por herpes simple. Dendrita presente en tinción con fluoresceína (ambos ojos).

El dolor ocular desproporcional a los signos clínicos encontrados aparece cuando la infección alcanza la capa de fibras nerviosas, pero en la fase epitelial pudiera no cursar con dolor severo.<sup>(3,4)</sup> La QA debe ser considerada, además, en el diagnóstico diferencial de algunas queratitis inexplicables, aun de corta duración, como también se han encontrado tempranamente los quistes de *Acanthamoeba* en pacientes trasplantados por esta infección parasitaria.<sup>(5,6)</sup> En una queratitis de causa desconocida, la microscopia confocal *in vivo* (MCIV) combinada con los cultivos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el estudio histológico son necesarios.<sup>(5)</sup> Esto conlleva una demora en el tratamiento temprano y específico de los casos infectados. *Bacon, Frazer y Dart*<sup>(7)</sup> reportan que entre el 30 y el 60 % del resultado de los cultivos y de los análisis de laboratorio demoran dos semanas aproximadamente.

La biomicroscopia en lámpara de hendidura es aún invaluable en la clínica, pero tiene la limitación de una magnificación de 40X que no permite establecer detalles para una correlación clínico-patológica a nivel celular. El surgimiento de la microscopia confocal *in vivo* (MCIV), en los primeros tiempos con resolución limitada, ha tenido un desarrollo tecnológico (HRT II-RCM, CONFOSCAN S4 y otras versiones),<sup>(5,6)</sup> como herramienta investigativa en Oftalmología para el estudio de los cambios celulares durante el proceso de curación de la córnea.<sup>(7,8)</sup> Es una técnica no invasiva, que permite la visualización directa de patógenos en tiempo real. Varias investigaciones han demostrado su excelente

sensibilidad y especificidad en la detección de los quistes y trofozoítos con alta resolución en casos de QA como alternativa diagnóstica temprana y para evaluar la efectividad del tratamiento.<sup>(9,10)</sup> Múltiples son los estudios realizados por la MCIV durante los brotes de QA hacia los años 1980-1990, que hoy nos permiten conocer y describir las características morfológicas de los quistes y trofozoítos de la *Acanthamoeba* en la córnea afectada por esta infección.

La revista *Clinical and Experimental Ophthalmology* (2009)<sup>(11)</sup> reporta un estudio de dos casos con el módulo de HRT II Rostock Cornea Module (*Heidelberg Engineering Heidelberg, Germany*). Uno de ellos en su fase epitelial no presentó dolor y el diagnóstico se basó en el resultado de la microscopia confocal, donde los autores describen los quistes de *Acanthamoeba* intraepitelial y con infiltración dendrítica como anillos en forma de sello y puntos brillantes (“*signet rings*” and “*bright spots*”) en adición al ya descrito quiste de doble pared,<sup>(7)</sup> líneas o formación de racimos de quistes.<sup>(7)</sup> La transición de puntos brillantes a anillos de sello se muestra en la figura 2 (E-G). Estas ilustraciones representan el nivel al cual fueron escaneados los quistes. En cuanto a los puntos brillantes, no siempre son específicos de la *Acanthamoeba*, pero no deberían ser ignorados cuando se sospecha QA.



Fuente: *In vivo* confocal microscopy in the diagnosis and management of *Acanthamoeba keratitis* showing new cystic forms. Clin Experim Ophthalmol. 2009;37:737–54. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2009.02128.x.

**Fig. 2** - A y B: lesión pseudodendrítica en ambos ojos (fotografía en lámpara de hendidura con tinción de fluoresceína). C: microscopía confocal *in vivo* (IVMC) muestra quistes de *Acanthamoeba* de doble pared y puntos brillantes (“*bright spots*”) previo al tratamiento. D: IVMC muestra quistes en forma de sello (“*signet ring cysts*”). E: IVMC a la profundidad de 25 mm, donde aparecen quistes de doble pared y puntos brillantes (“*bright spots*”). F: en la misma área a 27 mm de profundidad aparecen quistes de doble pared. G: IVMC a 31 mm de profundidad en la parte superior, donde se observan quistes de doble pared y más abajo “*Signet ring*”.

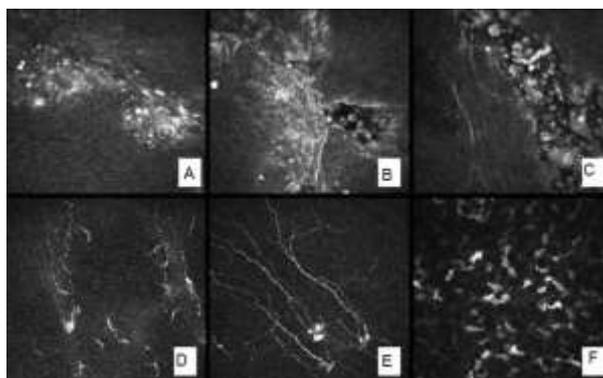
*Parmar* y otros<sup>(12)</sup> reportaron la identificación de quistes y trofozoítos por MCIV en 54 de 63 casos diagnosticados clínicamente de QA en 10 años de estudio, y describen iguales características en los quistes de doble pared y en los puntos brillantes.

En el estudio publicado por *Atsushi* y otros,<sup>(13)</sup> se identificaron los quistes y trofozoítos de *Acanthamoeba* en todos los casos diagnosticados de QA por MCIV con HRT II-RCM (*Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany*). En cuatro de ellos los estudios de

laboratorio y de cultivo habían sido negativos. En seis de los nueve casos estudiados en la fase pseudodendrítica se describen puntos de alta reflectividad de bordes poligonales, rodeados de un área de baja reflectividad morfológicamente identificados como quistes de *Acanthamoeba*. En dos de los 9 casos observaron los trofozoítos como organismo pleomorfo de alta reflectividad.

La queratitis por *Herpes Simple* (QHS) es la infección corneal que causa pérdida visual más común en muchos países, y se caracteriza por recurrencias.<sup>(14)</sup> La infección primaria puede ser subclínica en la mayoría de los casos, y generalmente unilateral. La QHS bilateral es rara; se ha descrito en pacientes con atopias, sistema inmune comprometido y jóvenes.<sup>(15)</sup> Se han publicado varios casos de QHS que han sido estudiados por MCIV.<sup>(16,17)</sup>

*Martone*<sup>(15)</sup> reporta un caso de QHS bilateral donde describe las imágenes logradas por MCIV, y observa un epitelio irregular y distorsionado con depósitos de alta reflectividad entre las células; partículas de diferentes tamaños y formas, así como áreas hiperreflectivas lineales localizadas en los bordes de la lesión herpética. También múltiples y posibles células de *Langerhans* son visibles en la zona anterior a la membrana de Bowman; anomalías en la capa de fibras nerviosas muy reflectivas; algunos depósitos alrededor y abundantes queratocitos en el estroma anterior (Fig. 3).

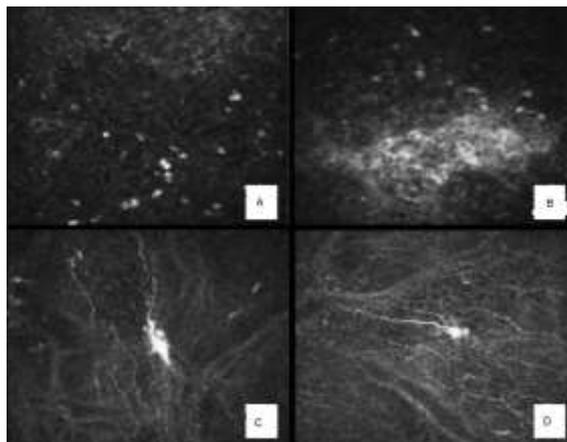


Fuente: Martone G. *In Vivo* Confocal microscopy in bilateral herpetic keratitis: A Case Report. *Europ J. Ophthalmol.* 2008;18(6). p. 994-7.

**Fig. 3** - Examen por microscopia confocal *in vivo*. A: Epitelio distorsionado e irregular con depósitos de alta reflectividad entre las células (30  $\mu$ m). B y C: Abundantes formaciones hiperreflectivas de varios tamaños y formas lineales a nivel de los bordes de la lesión herpética (40  $\mu$ m); D: Múltiples células no epiteliales. Posiblemente células de *Langerhans* fueron observadas anterior a la capa de Bowman (60  $\mu$ m). E: Nervio anormal aparece muy reflectivo y

tortuoso con depósitos reflectivos alrededor de las fibras (65  $\mu\text{m}$ ). (F): Abundantes queratocitos encontrados en el estroma anterior (90  $\mu\text{m}$ ).

La Figura 4 representa las imágenes del mismo caso después del tratamiento antiviral. Se describen partículas reflectivas y el tejido cicatrizal irregular extendido desde el epitelio basal hasta la membrana de Bowman, así como zonas hiperreflectivas de gran diámetro presentes aun a lo largo de las fibras nerviosas.



Fuente: Martone G. *In Vivo* Confocal microscopy in bilateral herpetic keratitis: A Case Report. *Europ J. Ophthalmol.* 2008;18(6). p. 994-7.

**Fig. 4** - Examen de microscopia confocal *in vivo* después de tratamiento antiviral. A y B: Partículas reflectivas y tejido cicatrizal irregular hiperreflectivo extendido desde el epitelio basal y la membrana de Bowman en el ojo derecho (50  $\mu\text{m}$ ). C y D: Zonas hiperreflectivas de amplio diámetro están presentes a lo largo de las fibras (60  $\mu\text{m}$ ).

Hideaki Yokogawa y otros<sup>(18)</sup> publican el estudio de cuatro ojos de cuatro pacientes con QHS con lesión dendrítica. Estos ojos fueron examinados por biomicroscopia y MCIV, donde las imágenes fueron organizadas y mapeadas con subsecuentes montajes. Describen en todos los casos en la zona de la lesión dendrítica la presencia de células epiteliales irregulares hiperreflectivas rodeadas de células epiteliales elongadas. En tres de los casos identificaron depósitos hiperreflectivos en el centro de la lesión. El estroma corneal mostró un patrón de panal en dos de los casos y fueron observadas células inflamatorias a nivel del endotelio corneal.

La MCIV juega un rol importante como medio diagnóstico e investigativo alternativo que nos ayuda en el diagnóstico diferencial por imágenes entre la fase epitelial de la QA y la QHS, especialmente cuando la QA cursa por la fase pseudodendrítica donde, con tinción de fluoresceína, la biomicroscopia muestra en muchas ocasiones una imagen similar a la

QHS y enmascara incluso otros tipos de queratitis infecciosas,<sup>(19,20)</sup> sobre todo cuando no se tienen los resultados de laboratorio y los cultivos en tiempo o estos son negativos. La infiltración dendrítica, los anillos en forma de sello y puntos brillantes (“*signet rings*” and “*bright spots*”) y los quistes de doble pared en la epitelopatía por *Acanthamoeba* se diferencian bien de las imágenes hiperreflectivas irregulares de diferentes tamaño y formas que se distribuyen en los bordes de la lesión herpética en la QHS, además de la persistencia de zonas hiperreflectivas alargadas descritas a lo largo de las fibras nerviosas aun después del tratamiento antiviral.

Establecer una correcta interpretación de las imágenes logradas por MCIV ante la duda de una QA en fase temprana juega un papel importante por su enmascaramiento. El conocimiento de las características morfológicas de los trofozoítos y quistes de *Acanthamoeba* para su identificación es la clave del éxito en su diagnóstico diferencial.<sup>(21,22)</sup>

## Referencias bibliográficas

1. Patel D, Rayner S, McGhee CN. Resurgence of *Acanthamoeba* keratitis in Auckland, New Zealand: a 7-year review of presentation and outcomes. Clin Experim Ophthalmol. 2010;38:15-20.
2. 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(8):2.
3. Kobayashi A, Ishibashi Y, Oikawa Y. *In vivo* and *ex vivo* laser confocal microscopy findings in patients with early-stage *Acanthamoeba* keratitis. Cornea. 2008;27:439-45.
4. Kobayashi A. *In vivo* laser confocal microscopy findings of radial keratoneuritis in patients with early stage *Acanthamoeba* keratitis. Ophthalmology. 2013;120(7):1348-53.
5. Wang YE, Tepelus TC, Vickers LA, Baghdasaryan E, Gui W, Huang P, Lee OL. Role of *in vivo* confocal microscopy in the diagnosis of infectious keratitis. Internat Ophthalmol. 2019;39(12):2865-74.
6. Loay D, Arne V, Philipp A, et al. Confocal microscopy as an early relapse marker for *Acanthamoeba* keratitis. Clin Anat. 2018;31:60-6.
7. Bacon AS, Frazer DG, Dart JK. A review of 72 consecutive cases of *Acanthamoeba* keratitis. Eye. 1993;7:719-25.

8. Suxia L, Jiang B. Clinical features and serial changes of *Acanthamoeba* keratitis: an *in vivo* confocal microscopy study. *Eye*. 2020;34:327-34.
9. Fust A, Toth J, Simon G, et al. Specificity of *in vivo* confocal cornea microscopy in *Acanthamoeba* keratitis. *Eur J Ophthalmol*. 2017;27:10-5.
10. Roth M, Daas L, Mackenzie CR, et al. Development and assessment of a simulator for *in vivo* confocal microscopy in fungal and *Acanthamoeba* keratitis. *Cur Eye Res*. 2020;45(12):1484-9. DOI: <https://doi.org/10.1080/027113683.2020.1772830>
11. Alomar T, Matthew M, Donald F, Maharajan S, Dua HS. *In vivo* confocal microscopy in the diagnosis and management of *Acanthamoeba* keratitis showing new cystic forms. *Clin Experim Ophthalmol*. 2009;37:737-54.
12. Parmar DN, Awwad ST, Petroll WM. Tandem scanning confocal corneal microscopy in the diagnosis of suspected *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology*. 2006;113:538-47.
13. Atsushi S, 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(8):2.
14. Pepose JS. External ocular herpes virus infections in immunodeficiency. *Curr Eye Res*. 1991;10: 87-93.
15. Martone G. Microscopia confocal *in vivo* en queratitis herpética bilateral. *Europ J Ophthalmol*. 2008;18(6):994-7.
16. Rosenberg ME, Tervo TM, Muller LJ. *In vivo* confocal microscopy after herpes keratitis. *Cornea*. 2002;21:265-9.
17. Hideaki Y, Akira K, et al. Mapping of dendritic lesions in patients with herpes Simplex keratitis using *in vivo* confocal microscopy. *Clin Ophthalmol*. 2015;9:1771-7.
18. Moein HR, Kheirkhah A, Muller RT, et al. Corneal nerve regeneration after herpes simplex keratitis: A longitudinal *in vivo* confocal microscopy study. *Ocul Surf*. 2018;16(2):218-25.
19. Adrian S, Dorota T, Michal O, et al. Cytoarchitecture of epithelial inflammatory infiltration indicates the etiology of infectious keratitis. *Acta ophthalmol*. 2017;95:4. DOI: <https://doi.org/10.1111/aos.13363>
20. Chidambaram JD, Prajna NV, Larke NL et al. Prospective study of the diagnostic accuracy of the *in vivo* laser scanning confocal microscope for severe microbial keratitis. *Ophthalmology*. 2016;1:1-9.
21. Chidambaram JD, Prajna NV, Palepu S, Lanjewar S, Shah M, Elakkiya S, Macleod D, Lalitha P, Burton MJ. *In vivo* confocal microscopy cellular features of host and

organism in bacterial, fungal, and *Acanthamoeba* Keratitis. Am J Ophthalmol. 2018;190:24-33.

22. Benítez MC. Microscopia confocal de la córnea. Editorial Ciencias Médicas; 2013. p. 1-8.

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

### **Contribución de los autores**

*María del Carmen Benítez Merino:* Realizó el diseño de la investigación, la recolección de datos, el análisis estadístico y la discusión, así como la redacción del artículo científico.

*Silvia María López Hernández:* Realizó la recolección de datos, el análisis estadístico y la discusión.

*Alexeide de la C. Castillo Pérez:* Trabajó en el diseño, la conducción de la investigación y en las revisiones finales.

*Madelyn Jareño Ochoa:* Laboró en la revisión bibliográfica y en la revisión del artículo.

*Justo Luis Noriega Martínez:* Laboró en la revisión bibliográfica y en la revisión del artículo.

Todos los autores aprueban la versión final presentada.