

# *Acanthamoeba culbertsoni*: sensibilidade aos diferentes métodos de desinfecção de lentes de contacto hidrofílicas<sup>1</sup>

DENISE DE FREITAS<sup>2</sup>; ANNETTE S. FORONDA<sup>3</sup>; ÉLCIO HIDEO SATO<sup>2</sup>; RUBENS BELFORT JÚNIOR<sup>2</sup>; RICARDO URAS<sup>2</sup>

## INTRODUÇÃO

Na década de sessenta, com o relato de casos humanos de grave meningoencefalite causada por amebas de vida livre (A.V.L.), conceitos estabelecidos desde o princípio do século foram modificados<sup>14, 15</sup> tais como o de que *Entamoeba histolytica* constituía-se na única espécie de ameba patogênica para o homem. Outro, que o comprometimento de sistema nervoso central por protozoários deste grupo era raro e sempre secundário à lesão intestinal<sup>21, 11</sup>. Nos casos descritos de infecção por A.V.L., a invasão das meninges e encéfalo era direta, através da mucosa nasal, de natureza primária, portanto.<sup>21, 11-15</sup>

Com base nos conhecimentos adquiridos até agora, pode-se afirmar que as doenças causadas por amebas, ainda imprópriamente chamadas de vida livre, ligam-se a espécies pertencentes a dois gêneros: *Naegleria* e *Acanthamoeba*.<sup>21</sup>

Em *Naegleria*, *N. fowleri* e em *Acanthamoeba*, *A. culbertsoni*, *A. polyphaga*, *A. castellanii*, *A. astronyxis* são espécies consideradas patogênicas para o homem.<sup>11</sup>

*Naegleria fowleri* causa Meningoencefalite Amebiana Primária (M.A.P.), de início súbito e evolução rápida e fatal. *Acanthamoeba spp* causam abscessos e granulomas em vários órgãos e a nível de sistema nervoso, Encefalite Amebiana Granulomatosa (E.A.G.), de caráter oportunista<sup>21</sup>. O número de casos de M.A.P. e E.A.G. está em torno de 160, no mundo todo<sup>12, 13</sup>.

De 1973 para cá, úlceras de córnea por *Acanthamoeba spp* têm sido descritas, em número crescente e com tendência a ultrapassar aquele de M.A.P. e E.A.G.<sup>2</sup>

*Acanthamoeba spp* têm duas formas no ciclo vital: 1-trofófica, de movimentação lenta através de pseudópodes típicos denominados acantopódios, com expansões semelhantes a espinhos; 2-cística, forma de resistência, com paredes duplas, uma delas rugosa, dando-lhe aspecto de estrela. As fontes de infecção podem ser as mais diversas, incluindo-se piscinas,<sup>9, 10</sup> outras coleções de água, solo e ar. Admite-se que as formas de transmissão, quando em coleções líquidas, sejam as vegetativas e, quando em solo e ar, sejam as císticas<sup>12, 13</sup>.

No olho, quando *Acanthamoeba sp* é agente causal de ceratite, esta se caracteriza por infiltrado estromal central ou paracentral, em forma de anel, com progressão lenta, evoluindo com episódios alternados de regressão e recrudescência, acompanhado de severa dor, muitas vezes necessitando de injeção retrobulbar de analgésicos<sup>1, 2, 4, 16, 22-24, 26</sup>. Esta entidade deve ser considerada no diagnóstico diferencial de qualquer ceratite intersticial resistente à terapêutica específica. Muitos casos têm sido erroneamente diagnosticados e tratados como ceratite herpética ou micótica, e só depois da má evolução é aventada a hipótese etiológica de um protozoário<sup>2</sup>.

O diagnóstico laboratorial desta infecção pode ser feito através da pesquisa a fresco do material de raspado corneano, corado por hematoxilina férrica ou Giemsa<sup>12, 13, 27</sup>. Considerando-se que o organismo não tem sido frequentemente isolado na fase aguda, deve-se indicar culturas de raspados ou até mesmo biópsia<sup>2, 4, 5, 16</sup> (as amebas coram-se bem por hematoxilina eosina, P.A.S., tricrômio de Masson e outras)<sup>12, 13, 27</sup>. Recentemente tem-se introduzido o "calcofluor white" como coloração rápida e eficiente, apesar de só corar as formas císticas<sup>27</sup>.

A ceratite por *Acanthamoeba sp* torna-se uma doença preocupante porque, além do aumento progressivo no número de casos, não apresenta um tratamento clínico efetivo<sup>2</sup>, tendo a maioria indicação de ceratoplastia "a quente" com cerca de 30% de recidiva,<sup>4</sup> necessitando de vários transplantes e muitas vezes terminando com a perda da função visual<sup>2</sup>.

A infecção tem sido relacionada com o uso de lentes de contacto hidrofílicas (L.C.H.), desinfecção química, soluções salinas preparadas em casa, exposição à água de piscina e banheiras de hidromassagem aquecidas ("hot tub"), e pequenos traumas corneanos<sup>1, 2, 4, 5, 16, 22-24, 26</sup>.

Têm-se realizado várias pesquisas com o objetivo de avaliar o real papel das L.C.H. como fator desencadeante da ceratite por *Acanthamoeba sp*, tendo sido o tema merecedor de uma sessão no último encontro da "Association for Research in Vision and Ophthalmology" (A.R.V.O.), 1987, U.S.A..

Este estudo teve por objetivo pesquisar a capacidade de *Acanthamoeba culbertsoni* em contaminar L.C.H. novas e usadas e sua susceptibilidade aos diferentes métodos de esterilização disponíveis, contribuindo assim na elucidação da etiopatogenia desta entidade, agora reconhecida com progressiva frequência e inclusive entre nós, onde já houve identificação por exame anátomo-patológico de um botão corneano infectado por *Acanthamoeba sp* (Nosé, W; Burnier Jr; MNN; comunicação pessoal, 1987).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três experimentos para testar a susceptibilidade da *Acanthamoeba culbertsoni* aos vários métodos de esterilização para lentes de contacto hidrofílicas (L.C.H.).

Todo o material utilizado nos experimentos foi previamente esterilizado em autoclave e o manuseio feito em capela de fluxo laminar, modelo vertical.

### A — Obtenção do inóculo:

As amebas foram cultivadas em meio sólido ágar-infusão de soja, desenvolvido segundo metodologia de Foronda, 1979.<sup>11</sup> Repiques seriados foram realizados antes da data

1 Trabalho vencedor do prêmio Gilberto Arruda da Sociedade Brasileira de Lentes de Contacto — 1987 — Apoio financeiro FINEP, CAPES e CNPq.

2 Disciplina de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina.

3 Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

prevista para o início do experimento e a cultura utilizada como fonte de trofozoítos foi de quarenta e oito horas e a de cistos de dezoito dias.

Os inocúlos foram obtidos lavando-se a superfície das culturas com água destilada esterilizada e a contagem dos protozoários feita em câmara de Fuchs-Rosenthal, em microscopia óptica de contraste de fase, sob aumento linear de 400 vezes.

**B — Experimento I:**

Foram utilizadas quinze L.C.H. Soflens® novas (Bausch & Lomb S.A.) com composição de 61.4% de Poli (2-hidroxietilmetacrilato) e 38.6% de água, imersas em solução estéril de cloreto de sódio a 0.9%

**Contaminação das lentes:**

As lentes foram colocadas em placa de Petri com inoculo de 1.6 x 10<sup>5</sup> cistos e 9.7 x 10<sup>5</sup> trofozoítos de *Acanthamoeba culbertsoni*. A placa foi vedada com folhas de polivícil e incubada a 37°C por dezesseis horas.

**C — Experimento II:**

Foram utilizadas quinze L.C.H. já usadas previamente, da marca Hydrosol® (Solótica Indústria e Comércio Ltda.) que apresentavam na sua composição 67.0% de hidroxietilmetacrilato e 37.0% de água, imersas em solução de cloreto de sódio a 0.9%. Estas lentes foram contaminadas seguindo a metodologia do Experimento I, com inoculo de 5.3 x 10<sup>5</sup> cistos e 1.6 x 10<sup>5</sup> trofozoítos da mesma cepa de *Acanthamoeba culbertsoni*. A placa foi vedada da mesma maneira e incubada a 28°C por dezesseis horas.

**D — Tratamento das L.C.H. dos Experimentos I e II:**

Após o período de contaminação, as lentes foram cortadas ao meio, sendo que uma metade era semeada para controle e identificada, e a outra submetida a cada um dos diferentes métodos de desinfecção, posteriormente semeada e identificada. A semeadura das lentes foi realizada em placas de Petri, em meio de cultura ágar-infusão de soja. Todas as placas após semeadura foram embaladas com folhas de polivícil para promover a vedação do cultivo.

Para cada método de desinfecção testado, três L.C.H. foram utilizadas.

Logo após a retirada de todas as lentes da placa onde foram contaminadas, obteve-se uma alíquota do inoculo, examinando-se em seguida sob microscopia de contraste de fase, com aumento linear de 400 vezes, para verificação da presença de trofozoítos e cistos de amebas.

**A esterilização térmica constou de:**

— Fervura simples: a lente de contacto contaminada era colocada dentro de um estojo plástico de dois centímetros de diâmetro, com fenestração de cinquenta milímetros (flutuador) e mantida em fervura por dez minutos.

— Assepsização com aparelhos, onde foram testados os Asseptizadores Contact Lens e Hydroset, salientando-se que no primeiro as lentes eram mantidas em água destilada e no segundo em soro fisiológico (segundo especificações dos fabricantes), cumprindo-se o ciclo completo de esterilização proposto para cada aparelho.

**Dois sistemas de esterilização química foram utilizados:**

— Flexcare® — Alcon Laboratórios (clorexidina a 0.005%);

— Hidrocare® — Allergan Farmacêutica (cloretodietrianol alquil amonio miramide).

O sistema químico incluiu a limpeza prévia da lente por vinte segundos com seus respectivos xampus (Polyclens® e Clinensol®), enxágue com cinco mililitros de solução fisiológica estéril livre de preservativos (Unisol® — Cooper Vision) e depois imersão por um período de quatro horas para Flexcare® e oito horas para Hidrocare®, seguindo-se estritamente a orientação cedida pelo fabricante de cada produto.

Tanto as placas semeadas com as lentes controles, como as tratadas, foram colocadas em estufa, sendo que as do

Experimento I deixadas a 37°C e as do Experimento II a 28°C.

Os exames para controle do crescimento amebiano foram realizados diariamente, sem abertura das placas, até o décimo segundo dia após a realização dos experimentos, utilizando-se microscopia óptica, sob aumento linear de 100 vezes.

**E — Experimento III:**

Em decorrência dos resultados obtidos nos Experimentos I e II, realizou-se o Experimento III, que constou da contaminação de seis L.C.H. Soflens® novas e seis L.C.H. Hydrosol® usadas com inoculo de 2.3 x 10<sup>5</sup> trofozoítos e 1.3 x 10<sup>5</sup> cistos da mesma cepa de *Acanthamoeba culbertsoni* dos experimentos anteriores, obtido de cultura de quarenta e oito horas e de dezoito dias respectivamente.

Ao final do período de contaminação, as lentes foram cortadas ao meio, sendo que uma metade era semeada em placa para controle e a outra submetida aos dois métodos de desinfecção química, salientando-se que não foi realizada lavagem prévia com xampu e enxágue.

Para cada método de desinfecção testado, três lentes novas e três usadas foram avaliadas. Após cumprido o tempo em que as lentes ficaram imersas nas soluções desinfetantes (quatro horas para o Flexcare® e oito horas para o Hidrocare®, estas foram semeadas em placas e vedadas, e, com seus respectivos controles, colocadas em estufa a 37°C para as lentes novas e 28°C para as usadas. Os exames para controle do crescimento amebiano foram realizados seguindo-se metodologia dos Experimentos I e II.

**RESULTADOS**

**A — Experimento I:**

Houve crescimento amebiano das quinze L.C.H. novas utilizadas como controle.

Não houve crescimento amebiano nos cinco grupos compostos de três L.C.H. novas submetidas aos diferentes métodos de desinfecção.

**B — Experimento II:**

Houve crescimento amebiano das quinze L.C.H. usadas identificadas como controles.

Não houve crescimento amebiano nos cinco grupos compostos de três L.C.H. usadas submetidos aos diferentes métodos de desinfecção.

**C — Experimento III:**

Houve crescimento amebiano das doze L.C.H. novas e usadas identificadas como controle.

Não houve crescimento amebiano nos quatro grupos compostos de três L.C.H. novas e usadas submetidos aos diferentes métodos de desinfecção.

Ver tabela 1 e figuras 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

	EXPERIMENTO I	EXPERIMENTO II	EXPERIMENTO III	
	L.C.H. novas 37°C	L.C.H. usadas 28°C	L.C.H. novas	L.C.H. usadas
CONTROLES	+	+	+	+
FLEXCARE	—	—	—	—
HYDRO CARE	—	—	*	*
FERVURA	—	—	*	*
CONTACT LENS	—	—	*	*
HYDROSET	—	—	*	*

Tabela 1: Resultado do crescimento amebiano nos Experimentos I, II e III em função das desinfecções aplicadas a L. C. H. novas e usadas.  
+ Crescimento amebiano positivo  
— Crescimento amebiano negativo  
\* Método de desinfecção não testado

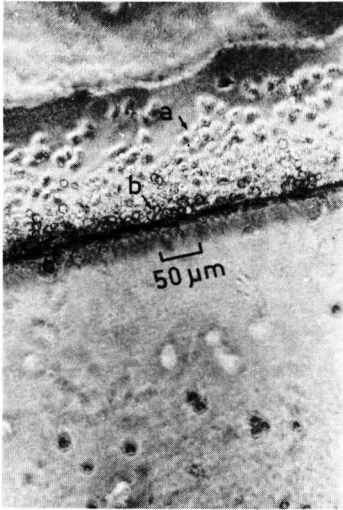


Fig. 1 — Crescimento amebiano em lente de contacto hidrofílica controle. Bordo da lente observado em contraste de fase, com objetiva 10 vezes. Notar grande número de trofozoitos (a) e de cistos (b).

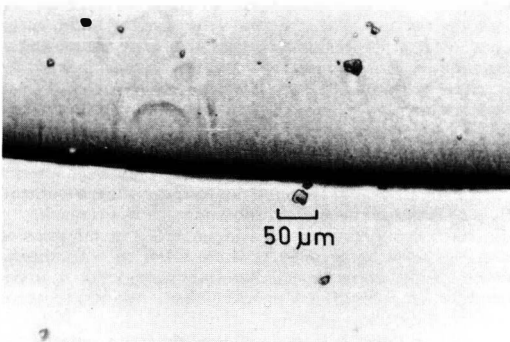


Fig. 2 — Lente de contacto hidrofílica sem crescimento amebiano (tratada).

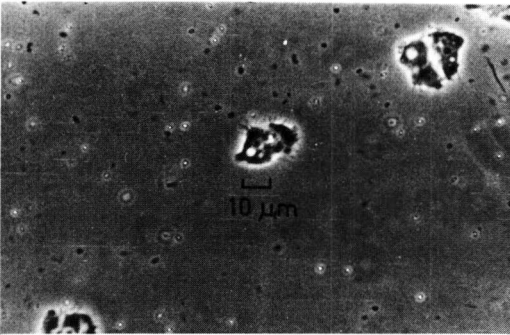


Fig. 3 — *Acanthamoeba culbertsoni*: forma trofozoítica. Preparação a fresco, observada em contraste de fase, com objetiva de 40 vezes. Notar pseudópodos, tipo acantopódios.

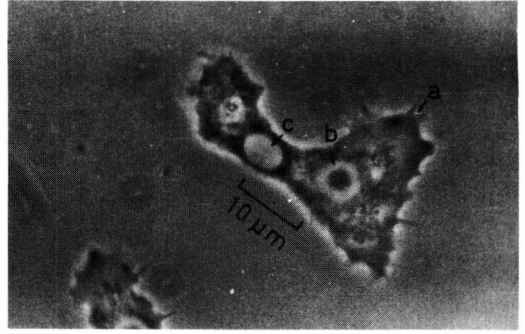


Fig. 4 — *Acanthamoeba culbertsoni*: forma trofozoítica. Preparação a fresco, em gota pendente, observada em contraste de fase, com objetiva de 100 vezes. Notar acantopódios (A), núcleo e nucléolo (B) e vacúolo contrátil (C).

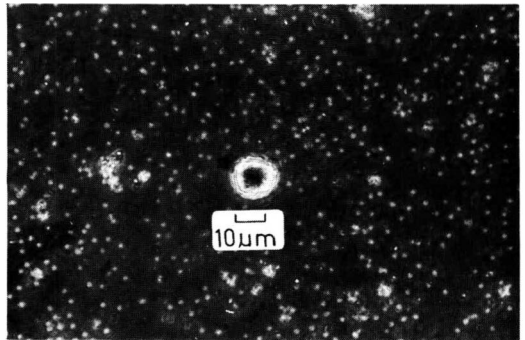


Fig. 5 — *Acanthamoeba culbertsoni*: Forma cística. Preparação a fresco, observada em contraste de fase, com objetiva de 40 vezes. Notar dupla parede, a externa rugosa.

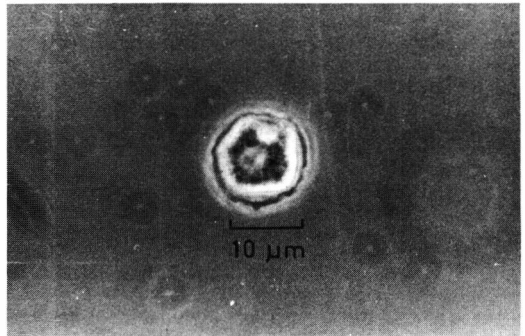


Fig. 6 — *Acanthamoeba culbertsoni*: forma cística. Preparação a fresco, em gota pendente, observada em contraste de fase, com objetiva de 100 vezes.

## DISCUSSÃO

O primeiro relato de caso de ceratite por *Acanthamoeba* sp foi publicado em 1973 por Jones e até 1986 sessenta e três casos foram diagnosticados<sup>5</sup>.

Todos os casos ocorreram em indivíduos saudáveis e, como a meningoencefalite amebiana, com maior frequência em climas quentes ou meses de verão<sup>21, 17</sup>.

Vários fatores têm sido relacionados com a etiopatogenia da infecção tais como: — pequenos traumas, abrasões ou queimaduras corneanas, onde o paciente como primeiro socorro ou mesmo no uso diário, lava os olhos com água corrente presumivelmente contaminada pelo protozoário<sup>16, 26</sup>,

— trauma com vegetais, onde a forma cística pode estar presente<sup>1</sup>;

— uso prévio de banheiras de hidromassagem aquecidas ("hot tub")<sup>24</sup>;

— soluções salinas preparadas em casa com água corrente, filtrada ou destilada<sup>23</sup>;

— exposição à água de piscina<sup>9, 10</sup>;

— desinfecção química de L.C.H.<sup>2</sup>.

Atualmente, ceratite por *Acanthamoeba* sp vem sendo descrita com frequência alarmante em usuários de L.C.H.<sup>23</sup>. De trinta e cinco casos descritos na literatura, dezessis ocorreram em associação com usuários de lentes de contacto, sendo que duas eram rígidas e o restante gelatinosas<sup>2</sup>. Segundo estudos de Cohen e col., em 1987, em trinta e sete casos estudados, dezesseis estavam associados ao uso de L.C.H. e um com lente de contacto rígida<sup>4</sup>. Em outras pesquisas esta associação tem alcançado até 80% de incidência<sup>3</sup>.

O papel das lentes de contacto na patogênese desta desordem é incerto, mas é provável que funcionem como fonte de contaminação ou propiciem uma porta de entrada ao organismo por abrasão corneana<sup>19</sup>.

Segundo Moore e col., em 1986, a etiologia da infecção seria por provável contaminação das soluções salinas utilizadas no manuseio das L.C.H.<sup>23</sup>. Donzis e col., em 1987, realizaram cultivo das soluções utilizadas em lentes de contacto rígidas e gelatinosas, e encontraram 15% e 25% de contaminação respectivamente, que se constituiu basicamente de bacilos gram (—) e *Staphylococcus coagulans* negativa; *Acanthamoeba* spp não foram isoladas<sup>6</sup>. Lustbader pesquisou 100 soluções de estoque de lentes de contacto e encontrou que 50% estavam contaminadas com bactérias e fungos, mas nenhuma foi positiva para *Acanthamoeba* sp.<sup>20</sup>. Brockman inoculou *Acanthamoeba polyphaga* em várias soluções para manutenção de L.C.H. e observou que inicialmente havia redução no número de microorganismos, o que ocorria, porém, era o encistamento e, com o tempo, a proporção aumentava<sup>3</sup>. Estes estudos induzem a conclusão de que *Acanthamoeba* sp não é um contaminante comum destas soluções, mas cabe aqui ressaltar que protozoários deste gênero têm sido demonstrados por citologia e cultivo em estoques de lentes de contacto de portadores de ceratite amebiana<sup>22</sup>.

Vários estudos têm sido realizados no sentido de avaliar a indicação dos diferentes métodos de desinfecção das L.C.H. no desenvolvimento da ceratite por *Acanthamoeba* sp.

Até a última reunião da A.R.V.O., somente um trabalho testando a susceptibilidade da *Acanthamoeba* sp aos sistemas de desinfecção destas lentes havia sido publicado<sup>19</sup>. Nele, Ludwig e col. concluíram que a desinfecção térmica é efetiva para eliminar cistos e trofozoítos de duas espécies de *Acanthamoeba*; a química com hexidine (Flexcare<sup>®</sup>) foi efetiva para *A. castellanni* mas não para *A. polyphaga*, enquanto que na com cloridrato de amônio trietanol alquil (Hydrocare<sup>®</sup>) não houve eliminação de nenhuma das duas espécies. Nesse estudo, cistos e trofozoítos, em número previamente conhecido, foram colocados em contacto com o produto químico, testando-se assim sua susceptibilidade. Concordamos que o experimento é válido para avaliar uma das etapas destes sistemas de desinfecção mas achamos que ele foge da situação real do paciente que utiliza este tipo de sistema como um todo, que consiste em lavagem prévia da lente ("aspepsia mecânica") e contacto prolongado com

o produto desinfetante, além de não se ter conhecimento da capacidade da ameba em aderir e contaminar as L.C.H.

Em nosso estudo, além de avaliarmos a esterilização química por etapas (Experimento III) seguindo as normas da "United States Food and Drug Administration", procuramos avaliá-la como um todo, padronizando as variáveis de tempo de lavagem e enxágue. Além disso, todo o procedimento foi realizado por um mesmo observador para não haver variações quanto à técnica utilizada em cada lente.

Lindquist e col. estudaram quatro perfis de contacto de pacientes infectados com *Acanthamoeba* sp quanto aos sistemas de desinfecção térmica, peróxido de hidrogênio e amônio quaternário e somente a desinfecção térmica foi efetiva. O autor não descreve se foi ou não realizada lavagem prévia da lente testada<sup>15</sup>.

Com metodologia semelhante a anterior, Silvano e col. estudaram o efeito esterilizante das várias soluções e concluíram que o timerosal a 0.001% e 0.004% e o ácido sorbico quando usados como preservativos em soluções aquosas são inadequados; entretanto, quando o timerosal é usado em combinação com edetato de sódio mostra-se efetivo para matar *Acanthamoeba* sp. Em vinte e quatro horas de incubação o clorexidine e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> também são efetivos no controle dos protozoários<sup>25</sup>.

Quanto à esterilização térmica, a "United States Food and Drug Administration" estipula que as unidades de desinfecção térmicas alcancem e mantenham 80°C por, no mínimo, dez minutos<sup>19</sup>. Os dois aparelhos por nós testados (Hydrosset<sup>®</sup> e Contact Lens<sup>®</sup>) alcançaram esta temperatura por volta de oito e três minutos respectivamente, e a mantiveram por mais de vinte minutos no primeiro e por quinze minutos no segundo, mostrando que estes estavam aptos para testar a resistência das amebas a altas temperaturas (medidas realizadas pelo Laboratório Allergan). Estudos de cepas de *Hartmannella-Acanthamoeba* tem mostrado que os trofozoítos toleram temperaturas altas como 50°C por duas horas, ocorrendo morte imediata à temperatura de 57°C; algumas cepas têm requerido 70°C para morte imediata<sup>8</sup>.

Baseados em revisão da literatura, a desinfecção térmica parece ser mais efetiva em destruir formas císticas e trofozoíticas de *Acanthamoeba* sp do que a química. Pelos resultados do nosso experimento a eficácia de ambos os métodos se mostrou semelhante. Não se pode saber se o comportamento de diferentes cepas e diferentes espécies de *Acanthamoeba* possam interferir nos resultados, impondo-se novas pesquisas com este objetivo.

De grande valor seria a avaliação de cepas isoladas das próprias lesões oculares, de comprovada ação patogênica, pois parece interessante discutir o fato de que a A.V.L. não têm ainda uma verdadeira relação parasita-hospedeiro já que parecem estar em transição para a vida parasitária. O estudo de fatores ligados aos protozoários, ao meio em que vivem e ao hospedeiro, sejam gerais ou locais, a nível do olho, poderia elucidar muitos aspectos da interação *Acanthamoeba*-homem, pois estas amebas estão utilizando a córnea como o seu próprio ambiente, nem sempre adequado, como demonstrado pelo encistamento que só ocorre em condições adversas. Experimentos na busca de fatores interferentes podem ser de grande valia<sup>11</sup>.

Cabe aqui ressaltar que o nosso estudo é o primeiro a testar a susceptibilidade de *Acanthamoeba culbertsoni* aos métodos de desinfecção.

Procuramos ainda desenvolver algumas variáveis dentro do experimento, visando testar lentes de contacto novas contra aquelas usadas previamente por pacientes, baseados em informações de Duran e col., em 1987, de que a deterioração, ruptura das lentes e depósitos protéicos podem predispor a adesão e crescimento bacteriano e fúngico<sup>7</sup>. Em nosso estudo, entretanto, não houve diferença nos resultados obtidos após o tratamento das lentes, independente de serem novas ou usadas.

A escolha de diferentes faixas de temperatura no delineamento deste trabalho prendeu-se, de um lado, ao fato de as espécies patogênicas crescerem melhor em temperaturas mais elevadas (37°C)<sup>15</sup>, e de outro, a procura de reproduzir as condições reais do ambiente do usuário de lente de contacto (28°C), condições estas acrescidas do fato de serem lentes já usadas previamente. Por nossas observações, no entanto, estes fatos não interferiram nos resultados, sempre negativos em todas as situações.

Gostaríamos de chamar a atenção para o fato de que o trabalho visou pesquisar a capacidade de esterilização dos diferentes métodos e não só a assepsia (diminuição do número de patógenos), pois a nosso ver qualquer crescimento amebiano seria de valor na etiopatogenia da doença.

Concluímos que os métodos de desinfecção de lentes de contacto hidrofílicas contaminadas com *Acanthamoeba culbertsoni* avaliados em nosso trabalho, desde que corretamente utilizados, parecem ser eficazes na eliminação do protozoário.

#### RESUMO

Desde 1973, úlceras de córnea por *Acanthamoeba spp* têm sido descritas em número crescente e muitas vezes relacionados com o uso de lentes de contacto hidrofílicas (L.C.H.).

Neste estudo foi testada a sensibilidade da *Acanthamoeba culbertsoni* aos diferentes métodos de desinfecção química (Hidrocare® — Trietanol alquilamonio miramide e Flexcare® — Clorexidina) e térmica (fervura simples por dez minutos com flutuador e aparelhos de assepsização — Contact Lens® e Hydroset®).

Foram utilizadas 36 L.C.H. novas Soflens® (Bausch & Lomb) e 36 L.C.H. usadas Hydroset® (Solótica) que foram contaminadas com cistos e trofozoítos de *Acanthamoeba culbertsoni* por 12 horas. Após este período as lentes foram cortadas ao meio, ficando uma das metades semeada para controle e a outra submetida aos diferentes métodos de desinfecção, salientando-se que as lentes foram lavadas previamente com xampu apropriado por 20 segundos e enxaguadas com 5 ml de solução fisiológica não preservadas.

As placas semeadas com as lentes eram observadas diariamente sob microscopia óptica para detectar a passagem da forma cística para a trofozoítica, o que traduziria a viabilidade do parasita.

Todos os resultados foram negativos. Todos os métodos testados se mostraram eficientes.

Concluímos que os métodos de desinfecção testados, desde que corretamente utilizados, são eficazes na eliminação da *Acanthamoeba culbertsoni*.

#### SUMMARY

Since 1973 corneal ulcers by *Acanthamoeba spp* have been recognized in increasing number and in association with soft contact lens wearers.

In this study, susceptibility of *Acanthamoeba culbertsoni* to different types of chemical (Hidrocare® — Trietanol — ammonium chloride and Flexcare® — Chlorixidine) and thermal (boiling for ten minutes and heat disinfections units — Contact Lens® and Hydroset® soft contact lens disinfection) was tested.

Thirty six new soft lens Soflens® and thirty six worn Hydroset® were contaminated with cysts and trophozoites of *Acanthamoeba culbertsoni*. Each lens was cut in the middle and one half served as control and the other was washed with surfacting cleaner for twenty seconds and rinsed with five ml of non preserved saline solution and then tested to different types of heat and chemical disinfection. The lens were plated and observed daily by optical microscopy for the presence of motile trophozoites, which represent parasite viability.

All tested systems have been proved efficient. All results were negative.

These systems, since properly used, are effective to kill cysts and trophozoites of *Acanthamoeba culbertsoni* from infected soft contact lens.

#### BIBLIOGRAFIA

- ASHTON, N.; STAMM, W. — Amoebic infection of the eye. A clinical-pathological report. *Trans Ophthalmol Soc U K*, 95: 214-20, 1975.

- AURAN, J. D.; STARR, M. B.; JAKOBIEC, F. A. — *Acanthamoeba keratitis*. A review of the literature. *Cornea* 6(1): 2-26, 1987.
- BROCKMAN, R. J.; ROAT, M. I.; THOFT, R. A.; SYKOLA, J. L.; KELETE, G. — Survival of *Acanthamoeba* in contact lens rinse solutions. *Supplement to Investigative Ophthalmology and Visual Science* 28(3): 370-72, 1987.
- COHEN, E. J.; PARLATO, C. J.; ARENTSEN, J. J.; GENVERT, G. I.; EAGLE JR., R. C.; LAIBSON, P. R. — Medical and Surgical treatment of *Acanthamoeba keratitis* *Am J Ophthalmol* 103 (5): 615-25, 1987.
- C. D. C.: *Acanthamoeba keratitis* associated with contact lens *United States Morbidity Mortality Weekly Rep* 35: 405-8, 1986.
- DONZIS, P. B.; MONDINO, B. J.; WEISSMAN, B. A.: Microbial contamination in contact lens wearers. *Supplement to Investigative Ophthalmology and Visual Science* 28 (3): 370-72, 1987.
- DURAN, J. A.; REFOJO, M. F.; GIPSON, I. K.; KENYON, K. R.: Pseudomonas attachment to new hydrogel contact lenses. *Arch Ophthalmol* 105: 106-9, 1987.
- DUMA, R. J.: Primary amoebic meningoencephalitis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Science* 3: 163-192, 1972.
- FORONDA, A. S.; BAZITO FILHO, O.; ROCHA, A. A.; BRANCO, S. M.: Aspectos ecológicos de amebas de vida livre em piscinas de São Paulo. Trabalho apresentado na I Reunião da Sociedade Brasileira de Protozoologia e no IX Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1985.
- FORONDA, A. S.; CHAVES, C. M.; ROCHA, A. A.: Pesquisa de amebas de vida livre em piscinas de Campo grande, M. S., Brasil. Trabalho apresentado no VI Congresso da Federação Latino Americana de Parasitologia, VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia e V Jornada Paulista de Parasitologia, em 1983.
- FORONDA, A. S.: Observações sobre amebas de vida livre potencialmente patogênicas. São Paulo, 1979. Tese de doutoramento, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- FORONDA, A. S.; CAMPOS, R.: *Amebas de Vida Livre* IN: VERO-NESI, R.: Doenças Infecciosas e Parasitárias. Rio de Janeiro Guanabara Koogan. (Edição a ser publicada).
- FORONDA, A. S.: Meningoencefalite por Amebas de Vida Livre IN: AMATO NETO, V.: Doenças Transmissíveis. São Paulo Atenue. (Edição a ser publicada).
- FOWLER, M. B. & CARTER, F.: Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba sp* *Br Med J* 2: 740-42, 1965.
- GRIFFIN, J. L.: Temperature tolerance of pathogenic and non-pathogenic free-living amoebas. *Science* 178: 869-70, 1972.
- JONES, D. B.; ROBINSON, N. R.; VISVESVARA, G. S.: *Acanthamoeba polyphaga keratitis* and *Acanthamoeba uveitis* associated with fatal meningoencephalitis. *Trans Ophthalmol U K* 95: 221-32, 1975.
- KYLE, D. E.; NOBLET, G. P.: Seasonal distribution of thermo-tolerant free-living amoeba. *Willard's Pond J Protozoa* 33: 422-34, 1986.
- LINDQUIST, T. D.; DOUGHMAN, D. J.; RUBESTEIN, J. B.; MOORE, J. W.: *Acanthamoeba*-infected hydrogel contact lenses: susceptibility to disinfection. *Supplement to Investigative Ophthalmology and Visual Science* 28 (3): 370-72, 1987.
- LUDWIG, I. H.; MEISLER, D. M.; RUTHERFORD, J.; BICAN, F. E.; LANGSTON, R. H. S.; VISVESVARA, G. S.: Susceptibility of *Acanthamoeba* to soft contact lens disinfection systems. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 626-8, 1986.
- LUSTBADER, J. M.; STARK, W. J.; KRACHER, G. P.; CHARACHE, P.; HAROWITZ, T. H.: *Acanthamoeba*, Bacterial and Fungal contamination of contact lens storage solutions. *Invest Ophthalmology Vis Sci (Supplement)* 28 (3): 370-72, 1987.
- MARTINEZ, A. J.: *Free-living Amoebas: Natural History, Prevention, Diagnosis, Pathology and treatment of Disease*, 1985 by CRC Press Inc.
- MOORE, M. B.; McCULLLEY, J. P.; LUCKENBACH, H.; GELENDER, H.; NEWTON, C.; McDONALD, M. B.; VISVESVARA, G. S.: *Acanthamoeba keratitis* associated with soft contact lenses. *Am J Ophthalmol* 100: 396-70, 1985.
- MOORE, M. B.; McCULLLEY, J. P.; KAUFMAN, H. E.; ROBIN, J. B.: Radial keratoneuritis as a presenting sign in *Acanthamoeba keratitis* *Ophthalmology* 93: 1310-15, 1986.
- SAMPLES, J. R.; BINDER, P. S.; LUIBEL, F. J.; FONT, R. L.; VISVESVARA, G. S.; PETER, C. R.: *Acanthamoeba keratitis* possibly acquired from a hot tub *Arch Ophthalmol* 102: 707-10, 1984.
- SILVANY, R. E.; WOOD, T. S.; BOWMAN, R. W.; McCULLLEY, J. P.: The effect of preservatives in contact lens solutions on two species of *Acanthamoeba*. *Supplement to Invest Ophthalmol Vis Sci* 28 (3): 370-72, 1987.
- THEODORE, F. M.; JAKOBIEC, F. A.; JUECHTER, K. B.; TROUTMAN, R. C.; PANG, P. M.; IWAMOTO, T.: The diagnostic value of a ring infiltrate in *Acanthamoebic keratitis*. *Ophthalmology* 92: 1471-97, 1985.
- WHELMUST, R. R.; OSATO, M. S.; FONT, R. L.; ROBINSON, N. M.; JONES, D. B.: Rapid Diagnosis of *Acanthamoeba keratitis* using calco fluor white. *Arch Ophthalmol* 104: 1309-12, 1986.