

Comunicações Curtas e Casos Clínicos

# Queratite por acantamoeba – Revisão de 6 casos clínicos. Centro Hospitalar Lisboa Central

Rita Anjos<sup>1</sup>, André Vicente<sup>1</sup>, Luisa Vieira<sup>1</sup>, Vitor Maduro<sup>2</sup>, Nuno Alves<sup>2</sup>, João Feijão<sup>2</sup>, Pedro Candelária<sup>3</sup>, Miguel Trigo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Interno de Oftalmologia do Centro Hospitalar Lisboa Central;

<sup>2</sup>Assistente Hospitalar de Oftalmologia do Centro Hospitalar Lisboa Central;

<sup>3</sup>Assistente Hospitalar Graduado de Oftalmologia do Centro Hospitalar Lisboa Central;

<sup>4</sup>Director do Serviço de Oftalmologia do Centro Hospitalar Lisboa Central

## RESUMO

**Objectivo:** Determinar os factores de risco, características clínicas e desfecho da queratite por acantamoeba.

**Métodos:** Os autores revêm os casos de queratite por acantamoeba em 6 doentes (3 do sexo masculino e 3 do sexo feminino) com idades compreendidas entre os 18 e os 41 anos, vigiados no Departamento de Córnea do nosso Hospital. As suas características e curso clínicos foram estudados retrospectivamente.

**Resultados:** Todos os doentes eram portadores de lentes de contacto. Quatro dos 6 casos tiveram início do quadro entre final de Maio e Julho. A suspeita inicial de queratite bacteriana, fúngica ou viral precedeu o diagnóstico final de queratite por acantamoeba em todos os doentes. O diagnóstico foi feito através de observação clínica, PCR (*polymerase chain reaction*) ou microscopia confocal. Em todos os casos a terapêutica dirigida foi iniciada com propamidina, com adição de clorohexidina em um doente. Em 3 doentes verificou-se necessidade de realização de queratoplastia penetrante: um caso por incapacidade de controlo da infecção e por sequelas noutros dois.

**Conclusão:** É necessário um grande nível de suspeita de infecção por acantamoeba em indivíduos utilizadores de lente de contacto e falência inicial à terapêutica antimicrobiana ou antiviral. A microscopia confocal é um auxiliar importante no diagnóstico da queratite por este microrganismo.

## Palavras-chave

Queratite, Acantamoeba, Lentes de Contacto, Microscopia Confocal, Desfecho.

## Acanthamoeba Keratitis – A case series

Department of Ophthalmology, Centro Hospitalar de Lisboa Central, Lisbon, Portugal

## ABSTRACT

**Purpose:** To determine the characteristics of acanthamoeba keratitis (AK).

**Methods:** Retrospective case series of 6 patients diagnosed with acanthamoeba keratitis from June 2007 to July 2012. The main parameters were demographic data, medical history, contact lens use, initial and final visual acuity, slitlamp biomicroscopy, diagnostic procedures and clinical course.

**Results:** All patients were contact lens users. Four patients had symptoms onset on late Spring

or Summer. In all cases, an initial suspicion of bacterial, fungal or viral keratitis preceded AK diagnosis. Final diagnosis was achieved by clinical criteria, polymerase chain reaction or confocal microscopy. All patients were started on propamidine, with addition of chlorhexidine in one patient. Three patients had indication for penetrating keratoplasty: one due to uncontrolled infection and two due to sequels.

**Conclusion:** A great level of suspicion of AK is needed in contact-lens users with failure to initial therapy. Confocal microscopy is an important tool for the AK diagnosis.

**Key-words**

Keratitis, Acanthamoeba, Contact Lens, Confocal Microscop, Outcome.

**INTRODUÇÃO**

A acantamoeba é um protozoário de vida livre, ubíquo no ar, solo, poeira e água (doce e salobra)<sup>1,2,3</sup>. Pode ser isolada no trato respiratório dos seres humanos e cerca de 50-100% dos indivíduos têm anticorpos contra este microorganismo<sup>4</sup>.

Existe sob duas formas: trofozoítos e quistos. Os trofozoítos (25-50 μm) têm uma forma amebóide, são móveis e representam a forma infecciosa do protozoário. No meio ambiente alimentam-se de outros microorganismos e, postula-se que na córnea dos queratócitos. Os quistos (15-30 μm), forma responsável pela persistência da doença, são esféricos, de parede dupla e permitem ao microorganismo sobreviver em ambientes adversos (incluindo o défice nutricional e a exposição a químicos e tóxicos como na queratite)<sup>1,3,2</sup>.

A queratite por acantamoeba (QA), foi descrita pela primeira vez em 1974, reconhecida como uma forma extremamente rara de queratite infecciosa que ocorria após trauma. Durante os anos 80, com o crescimento exponencial de utilizadores de lentes de contacto (LC), observou-se um aumento dramático na incidência desta patologia<sup>1,3,5,6</sup>.

Neste estudo apresentamos 6 casos de QA vigiados no serviço de oftalmologia do Centro Hospitalar Lisboa Central.

**MÉTODOS**

Estudo retrospectivo de 6 casos de QA vigiados no nosso hospital entre 2009 e 2012. Foram consultados os registos clínicos destes doentes com recolha e análise dos seguintes parâmetros: idade, género, factores de risco predisponentes, diagnóstico inicial, tratamento antes do diagnóstico de QA, intervalo de tempo que mediou entre o início de sintomas e diagnóstico de QA, acuidades visual (AV) iniciais, sintomas e sinais. Foram registado o método utilizado para o diagnóstico, os resultados de microbiologia, o tratamento dirigido para acantamoeba, as complicações, as AV finais e o desfecho clínico.

**RESULTADOS**

**Características demográficas**

Todos os doentes foram referenciados ao nosso serviço já medicados para queratite infecciosa. Quatro casos foram diagnosticados durante os meses de Verão. As características demográficas, antecedentes pessoais e oftalmológicos dos 6 doentes encontram-se descritos no quadro 1.

**Quadro 1 | Características demográficas.**

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
<b>Idade</b>	31	18	42	35	35	25
<b>Sexo</b>	Masculino	Feminino	Feminino	Feminino	Masculino	Masculino
<b>Olho</b>	Direito	Direito	Direito	Esquerdo	Direito	Direito
<b>AP</b>	Irrelevantes	Irrelevantes	Atopia	Asma bronquica	Irrelevantes	Irrelevantes
<b>AOft</b>	Miopia LC	Afaquia Nistagmo horizontal LC	Miopia LC	Miopia Astigmatismo LC	Miopia Astigmatismo LC	Miopia LC

AP – Antecedentes pessoais; AOft – Antecedentes oftalmológicos; LC – Lentes de contacto

**Quadro 2 |** Factores de risco e características das lentes de contacto.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
<b>Lentes</b>	Diárias	RPG	Quinzenais Acue-vue®	Anuais B&L®	Mensais Pure V&L®	Mensais
<b>Lavagem das LC</b>	Soro Fisiológico	Boston B&L® + AT	Renu B&L®	B&L®	Solução multiuso	Solução multiuso
<b>Lavagem da caixa</b>	---	Boston B&L® + AT	Renu B&L® + AT	AT	AT	AT
<b>Horário</b>	---	8 h	12 h	---	10 h	12 h
<b>Ínio</b>	7 anos	6 anos	20 anos	---	10 anos	10 anos

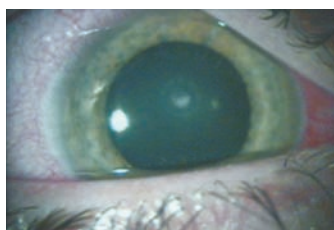
RPG – Rígidas permeáveis a gás; B&L – Bauch & Lomb; LC- Lentes de contacto; --- - Sem registo; AT – Água da torneira

**Factores de risco**

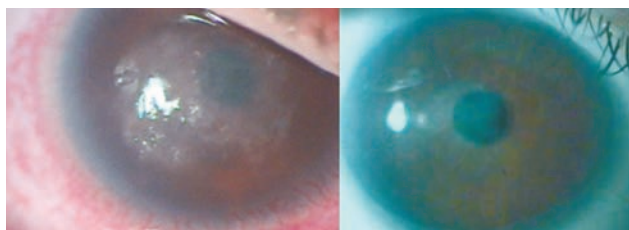
Todos os doentes eram utilizadores de LC. As características das LC, hábitos de higiene e padrão de utilização estão especificados no quadro 2.

**Características clínicas**

A dor no início do quadro foi caracterizada como intensa em 4 casos, moderada num e ligeira noutra. Todos os doentes foram inicialmente diagnosticados e medicados como queratite bacteriana, tendo quatro efectuado concomitantemente terapêutica para queratite fúngica e dois para queratite vírica. Três doentes tinham uma AV na altura da apresentação inferior a 2/10 e um superior a 2/10. As características clínicas no início do quadro são apresentadas no quadro 3. As biomicroscopias do segmento anterior realizadas no nosso departamento estão exemplificadas nas imagens 1 a 8.



**Fig. 1 |** Fotografia de segmento anterior do Caso 1 na 1ª semana após o Início do quadro.

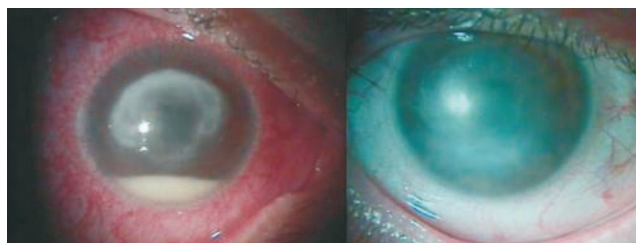


**Fig. 2 |** Fotografia de segmento anterior do Caso 2 na 3ª semana e no 10º mês após o Início do quadro.

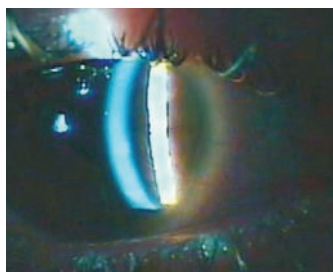
**Quadro 3 |** Características clínicas de apresentação.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
<b>Suspeita inicial</b>	Bacteriana	Bacteriana	Bacteriana Fúngica	Bacteriana Fúngica Vírica	Bacteriana Fúngica Vírica	Bacteriana Fúngica
<b>AvI</b>	MM	MM	---	---	CD a 1 metro	6/10
<b>Descrição da úlcera</b>	Pequena úlcera central com infiltrado estromal superficial	Pequena úlcera central	---	---	Infiltrado dendrítico	Lesão epitelial com infiltrado periférico
<b>Evolução da úlcera</b>	1ª semana Lesão central com halo circundante denso	2ª semana Cornea turva com ponteados pseudo-dendríticos	2º mês úlcera central 5mm e hipópion	Esclerite Defeito epitelial (evolução lenta)	2º mês Abscesso de úlcera	Melhoria progressiva mas lenta

AvI – Acuidade visual inicial; MM – Movimentos de mão; --- - Sem registo; CD – Conta dedos



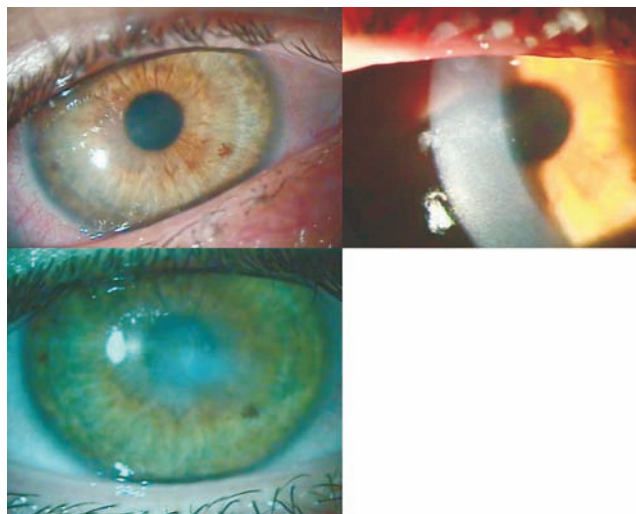
**Fig. 3 |** Fotografia de segmento anterior do Caso 3 no 2º e 14º mês após o início do quadro.



**Fig. 6 |** Fotografia de segmento anterior do Caso 6 ao 15º mês após o início do quadro.



**Fig. 4 |** Fotografia de segmento anterior do Caso 4 ao 40º mês após início do quadro.



**Fig. 5 |** Fotografia de segmento anterior do Caso 5 na 3ª semana (visão global e em fenda) e ao 20º mês após o início do quadro.

### Diagnóstico

O intervalo de tempo que mediou o início do quadro e a suspeita de QA foi inferior ou igual a 3 semanas em três doentes. O método diagnóstico utilizado foi a microscopia confocal em 5 casos e a *Polymerase Chain Reaction* (PCR) em um. Obteram-se exsudados no início do quadro clínico em 4 doentes, com isolamento de um *Staphylococcus Aureus* metilicina-sensível. No quadro 4 encontram-se descritos os métodos de diagnóstico utilizados. As imagens de microscopia confocal realizadas no nosso serviço estão exemplificadas na figura 7.

### Complicações, terapêutica e desfecho

A terapêutica médica foi iniciada antes das 3 semanas em 2 casos. Cinco doentes foram medicados com propamida por um período de tempo superior a 5 meses; no caso 4 não foi possível apurar o tempo de terapêutica. A clorexidina foi instituída em 1 caso.

Quatro doentes desenvolveram complicações durante a evolução do quadro, três dos quais com catarata.

Num caso verificou-se uma sobre-infecção com evolução para abscesso de córnea ao segundo mês. No caso 4 foi realizada queratoplastia penetrante por progressão incontrolável. A existência de um defeito epitelial persistente motivou a realização de recobrimento com membrana amniótica e tarsorrafia. Posteriormente, por não resolução do quadro, foi realizada nova queratoplastia penetrante (combinada com extracção de catarata). Apesar da cura clínica de infecção por acantamoeba, desenvolveu queratites

### Quadro 4 | Métodos diagnósticos.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
<b>Suspeita QA</b>	4º dia	2ª semana	6ª semana	5 meses	3ª semana	4ª semana
<b>Método Dx</b>	Confocal	Confocal	Confocal	PCR	Confocal	Confocal
<b>Exsudados</b>	SAMS	Negativo	Negativo	Negativo	---	---

PCR – Polymerase Chain Reaction; SAMS - Staphylococcus aureus metilicina-sensível; --- - Sem registo

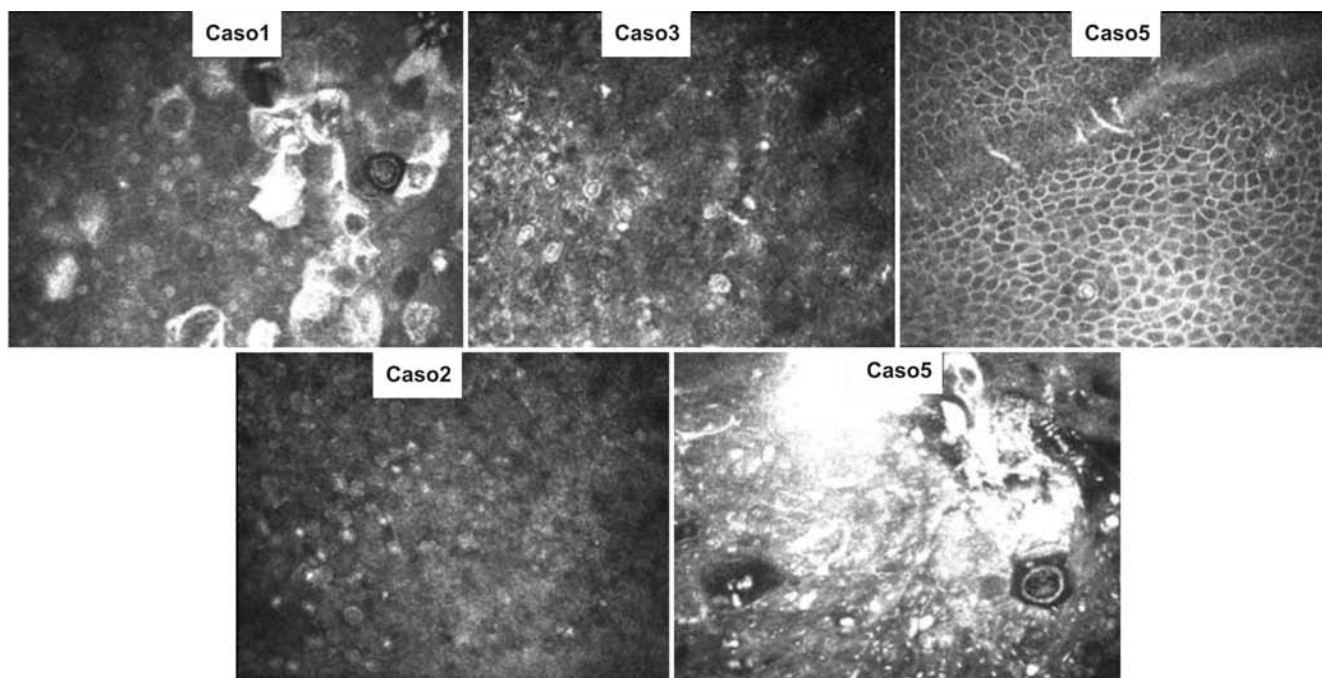


Fig. 7 | Imagens de microscopia confocal.

herpéticas de repetição nos anos seguintes. No caso 2 foi realizado desbridamento duas semanas após o início de terapêutica médica. Nenhuma destas intervenções foi realizada na nossa instituição.

Quatro doentes apresentavam uma acuidade visual igual ou inferior a dois décimos. Três doentes aguardam queratoplastia óptica e dois cirurgia de catarata. Dois doentes apresentaram uma AV final  $\geq 9/10$ .

## DISCUSSÃO

A QA é uma patologia rara potencialmente devastadora com um curso prolongado, que pode levar a perda visual significativa e morbidade ocular. Nas últimas décadas tem-se verificado um aumento da sua incidência; no entanto, sendo uma entidade rara, é necessário um grande nível de suspeita clínica de forma a otimizar o seu diagnóstico e início de terapêutica precoce.

Tal como constatado na nossa série, ocorre tipicamente em indivíduos jovens (com uma média de idade de 35 anos), de forma unilateral e tem um aumento de frequência durante os meses de verão<sup>3,7</sup>.

A utilização de LC é o factor de risco mais frequentemente reportado nos países desenvolvidos (até 85% dos casos), encontrando-se presente em todos os nossos doentes<sup>2,8,9,5</sup>. Foi demonstrado que uma minoria de utilizadores

de LC têm contaminação com acantamoeba e pensa-se que a predisposição à infecção será o resultado de microtraumatismos resultantes do seu uso<sup>10</sup>. Na maioria das séries<sup>9,2,5,11,12</sup> as LC de substituição planeada são as mais frequentemente associadas a esta patologia, havendo no entanto casos descritos de infecção em utilizadores de lentes diárias como se verificou num dos nossos casos<sup>1</sup>. Apesar de não ser consensual, pensa-se que as lentes gás-permeáveis têm uma menor associação a este patógeno comparativamente às hidrófilas<sup>2,13</sup>.

Todos os doentes com lentes de substituição planeada utilizavam uma solução multi-usos ou água da torneira em algum passo da sua higiene diária de lentes. Postula-se que as propriedades químicas de certas soluções de limpeza possam desempenhar um papel na susceptibilidade na queratite por amibas<sup>14</sup>. Alguns surtos têm sido associadas a soluções multi-usos, e estudos *in-vitro* demonstram que a espécie acantamoeba é resistente à maioria de soluções disponíveis no mercado<sup>15,8</sup>. A exposição ocular a ambientes aquosos não estéreis parece ser o factor de risco mais importante, logo após o uso de LC<sup>11,9,2,13</sup>.

Estabelecer o diagnóstico de QA é desafiante. O quadro clínico sobrepõe-se com o de outras queratites infecciosas, levando a que, tal como se verificou em todos nossos doentes, cerca de 90% dos casos sejam inicialmente diagnosticados como uma infecção viral, fúngica ou bacteriana<sup>2,6,7,12</sup>. Uma das características que auxilia o diagnóstico é a dor

**Quadro 5 | Terapêutica.**

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
<b>Início TxQA</b>	1,5 semanas	2,5 semanas	2 meses	5 meses	1 mês	1 mês
<b>Terapêutica</b>	Brolene® (> 6 meses)	Brolene® Clorexidina (1 mês) Desbridamento Goldeneye® Clorexidina (8 meses)	Brolene® (> 1 ano)	Brolene® (?) QP	Brolene® (1 mês) Goldeneye® (4 meses)	Brolene® (1 semana) Goldeneye® (6 meses)
<b>Complicações</b>	SC	Mácula central	Neovasos Sinéquias Catarata	Esclerite Defeito epitelial persistente Catarata	Abcesso de córnea Catarata	SC
<b>AvF</b>	9/10	2/10	MM	1/10	1/10	10/10
<b>Seguimento</b>	Bem	Aguarda decisão clínica de QP	Aguarda QP + Cx Catarata	Fez 2 QP + Cx Catarata	Aguarda QP + Cx Catarata	Bem

TxQA – Terapêutica para queratite a acantamoeba; QP – queratoplastia penetrante; SC – Sem complicações; AvF – Acuidade visual Final; MM – Movimentos de mão; Cx – Cirurgia

intensa, desproporcional aos sinais clínicos, provavelmente devida ao dano preferencial dos nervos corneanos (observados como infiltrados perineurais). Uma apresentação indolor como ocorrida no caso 2, não invalida a hipótese diagnóstica de QA, tendo já sido descrita na literatura<sup>16</sup>.

Vários estudos têm-se debruçado sobre os factores preditores de um pior desfecho. Uma baixa AV inicial<sup>7</sup>, uma apresentação tardia<sup>7,17</sup> e um diagnóstico e início de terapêutica após as 3 semanas<sup>2</sup> têm sido indicados como factores de mau prognóstico. Tu *et al*<sup>17</sup> referem que doentes com envolvimento estromal extenso ou infiltrados em forma de anel apresentam um aumento de dez vezes de probabilidade de uma AV inferior a 8/10.

Doentes que se apresentam com uma baixa AV, como verificado na maioria dos nossos doentes, têm uma maior probabilidade de doença prolongada e mais severa, estando associado na literatura a um pior desfecho<sup>18</sup>.

Vários achados típicos de QA foram observados durante a evolução da doença. No caso 1, uma pequena úlcera evoluiu para infiltrado estromal em forma de anel, sinal apenas presente em cerca de 20% dos doentes numa fase inicial mas comum na doença avançada<sup>6,2</sup>. Nos casos 2 e 5 foi descrito inicialmente uma aparência dendritiforme, que pode ser encontrada em mais de metade dos casos em alguma fase da doença<sup>6</sup>. Esta apresentação pode levar a confusão com infecção herpética, pois ambas são geralmente unilaterais, acompanham-se de uma diminuição da sensibilidade corneana, podem ter uma resposta inicial a agentes antivirais e podem progredir para doença estromal<sup>16,8</sup>. Um dos

sinais distintivos da QA é a ausência de bulbos terminais. Esta patologia está usualmente associada a uma querato-uveíte moderada como observado no Caso 3. A incidência de hipopion na altura da apresentação é variável, sendo rara nos doentes com menos de um mês de evolução, estando presente na maioria dos casos após os 2 meses<sup>6,19</sup>. Os infiltrados estromais são muito comuns no evoluir do quadro e, quando profundos como observado nesta doente, são típicos de doença avançada<sup>6</sup>. A epiteliopatia da córnea é um sinal precoce em cerca de metade dos casos, tendo sido a apresentação inicial à biomicroscopia inicial do caso 6<sup>19,2</sup>.

O tempo médio entre a observação por um oftalmologista e o início de terapêutica específica é de cerca de 4 semanas; e, apenas quando a doença progride significativamente e outras terapêuticas falham, é que o diagnóstico de QA é considerado<sup>9</sup>. Na nossa casuística, apesar de em três casos ter existido uma suspeita precoce, apenas em dois a terapêutica foi iniciada antes das 3 semanas.

A microscopia confocal é a técnica diagnóstica de eleição em alguns centros. Tem uma elevada sensibilidade e especificidade (superior a 90% em alguns estudos), apresentando no entanto uma grande variabilidade inter-observador<sup>5,20,19</sup>. Alguns autores defendem que um diagnóstico definitivo apenas pode ser obtido com base em cultura, histologia ou pela identificação da presença de ADN amoebico com PCR, sendo que o diagnóstico tecidual permanece ainda o *goldstander*<sup>2</sup>. A microscopia confocal foi o método diagnóstico em 5 casos e a PCR em um. A confocal apresenta-se como uma ferramenta útil, permitindo

identificar quistos arredondados altamente reflectivos com dupla camada (como os observados nos nossos casos) e, menos frequentemente, trofozoítos como estruturas em forma de pera ou cunha irregular<sup>21,20,22</sup>. A co-infecção pode dificultar e atrasar o diagnóstico, com cerca de 25% dos exsudados positivos para outro microorganismo<sup>2</sup>. Na nossa série, houve isolamento de *Staphylococcus Aureus* num exsudado durante a avaliação inicial.

Não existe actualmente nenhum agente anti-infeccioso aprovado para a QA. O objectivo da terapêutica assenta na erradicação de microorganismos viáveis e na rápida resolução do processo inflamatório. Os trofozoítos são sensíveis à maioria dos agentes quimioterapêuticos. No entanto, a infecção persistente é provocada pelos quistos de *Acanthamoeba* contra os quais poucos agentes são eficazes<sup>2</sup>. As biguanidas (biguanida polihexametileno e a clorexidina) e diaminas (propamidina e hexamidina) são actualmente os amoebicidas com eficácia contra os quistos, mais utilizados. Alguns autores advogam a utilização de terapêutica dupla, no entanto, alguns centros utilizam a terapêutica tripla com neomicina, bacitracina e metronidazol, não sendo ainda consensual qual a melhor abordagem<sup>7,9,12</sup>. Em Portugal, nenhum destes agentes está comercialmente disponível, pelo que a sua aquisição é difícil, sendo o motivo pelo qual cinco dos doentes apenas utilizaram um amoebicida no seu esquema terapêutico. Num estudo multicentrico o tempo médio de terapêutica foi de 6 meses<sup>2</sup>, tendo os nossos doentes utilizado um mínimo de 5 meses de terapêutica médica.

O desbridamento, queratoplastia terapêutica e membrana amniótica são opções cirúrgicas que foram pouco utilizadas nesta série e realizadas em outras instituições.

Sendo a QA uma doença recalcitrante com um curso frequentemente prolongado, pode evoluir para formas tardias com abscesso, *melting* e perfuração e para complicações extra-corneanas. Os efeitos dos corticoides, toxicidade medicamentosa e inflamação crónica podem ser factores adicionais na evolução da doença<sup>2</sup>. Metade dos nossos doentes desenvolveram catarata, uma complicação frequente, associada quer à resposta inflamatória quer à toxicidade medicamentosa (principalmente com as biguanidas)<sup>7</sup>. O caso 4 apresentou no decorrer da sua evolução uma esclerite e um defeito epitelial persistente<sup>2</sup>. Apesar de pouco frequente, a esclerite é potencialmente grave e associada a necrose escleral e dor incontrolável. Em casos de doença severa, como o caso 4, é comum a não resolução de defeito epitelial. Após exclusão de infecção persistente, superinfecção ou toxicidade de fármacos, pode ser realizada como último recurso uma queratoplastia lamelar ou recobrimento com membrana amniótica<sup>2</sup> (como aconteceu neste caso). Outra complicação que pode ocorrer nestes doentes, particularmente associada

a terapêuticas prolongadas, é a sobreinfecção<sup>2,7</sup>. Deve ser suspeitada sempre que se verifica um agravamento clínico, como no caso 5, que apesar de uma apresentação inicial favorável terminou com uma AV baixa a aguardar queratoplastia óptica e cirurgia de catarata.

A QA é uma das infecções da superfície ocular associada a pior prognóstico. Na nossa série, quatro doentes apresentavam uma AV igual ou inferior a dois décimos, apesar do baixo potencial do caso 2 devido aos seus antecedentes oftalmológicos. Vários autores recomendam aguardar pelo menos 3 meses de inatividade clínica antes de tentar queratoplastia óptica, devido à elevada taxa de recidiva<sup>12,19</sup>. Foi realizada queratoplastia terapêutica num caso e três aguardam queratoplastia óptica. Um terço dos nossos doentes tiveram um bom desfecho.

Neste artigo foram revistas vários pontos cruciais do diagnóstico e terapêutica da QA. Trata-se de uma patologia recalcitrante, dolorosa e potencialmente devastadora, que pode levar a perda visual significativa e morbidade ocular. Apesar de mimetizar uma infecção por outros organismos, algumas características como os factores predisponentes e certos achados clínicos podem ser essenciais para uma suspeita precoce. A confocal surge como um método de diagnóstico complementar. O início de terapêutica precoce quando a apresentação é ainda inicial é essencial para um bom desfecho.

## BIBLIOGRAFIA

1. Mutoh T, Ishikawa I, Matsumoto Y, Chikuda M. A retrospective study of nine cases of *Acanthamoeba* keratitis. *Clin Ophthalmol* 2010; 21(4): 1189-1192.
2. Dart JK, Saw VP, Kilvington S. *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis and treatment update 2009. *Am J Ophthalmol* 2009 Oct; 148(4): 487-499.
3. Anane S, Ayed NB, Malek I, Nacef L, Kaquech E, Belhadj S, et al. La kératite amibienne : il faut y penser. *Santé* 2008; 18(4): 209-213.
4. Niederkorn JY, Alizadeh H, Leher HF, McCulley JP. The immunobiology of *Acanthamoeba* keratitis. *Springer Semin Immunopathol* 199(2): 147-160.
5. Tanhehco T, Colby K. The clinical experience of *Acanthamoeba* keratitis at a tertiary care eye hospital. *Cornea* 2010 Sep; 29(9): 1005-1010.
6. Patel DV, McGhee CNJ. *Acanthamoeba* keratitis: a comprehensive photographic reference of common and uncommon signs. *Clin Experiment Ophthalmol* 2009; 37: 232-238.
7. Chew HF, Yildiz EH, Hammersmith KM, Eagle RC Jr,

- Rapuano CJ, Laibson PR et al. Clinical outcomes and prognostic factors associated with acanthamoeba keratitis. *Cornea* 2011 Apr; 30(4): 435-441.
8. Thebpatiphat N, Hammersmith KM, Rocha FN, Rapuano CJ, Ayres BD, Laibson PR, Eagle RC, Cohen EJ. Acanthamoeba keratitis - a parasite on the rise. *Cornea* 2007 Jul; 26(6): 701-706.
  9. Kaiserman I, Bahar I, McAllum P, Srinivasan S, Elbaz U, Slomovic AR, et al. Prognostic factors in acanthamoeba keratitis. *Can J Ophthalmol* 2012 Jun; 47(3): 312-317.
  10. Fathallah A, Ben Rayana N, Knani L, Meksi SG, Saghrouni F, Ghorbel M, et al. Acanthamoeba keratitis. Report of 3 cases diagnosed in central Tunisia. *Tunis Med* 2010 Feb; 88(2): 111-115.
  11. Anger C, Lally JM. Acanthamoeba: a review of its potential to cause keratitis, current lens care solution disinfection standards and methodologies, and strategies to reduce patient risk. *Eye Contact Lens* 2008 Sep; 34(5): 247-253.
  12. Qian Y, Meisler DM, Langston RHS, Jeng BH. Clinical experience with acanthamoeba keratitis at the cole eye institute, 1999-2008. *Cornea* 2010 Sep; 29(9): 1016-1021.
  13. Radford CF, Lehmann OJ, Dart JK. Acanthamoeba keratitis: multicentre survey in England 1992-6. National Acanthamoeba Keratitis Study Group. *Br J Ophthalmol* 1998 Dec; 82(12): 1387-1392.
  14. Hiti K, Walochnik J, Maria Haller-Schober E, Faschinger C, Aspöck H. Efficacy of contact lens storage solutions against different acanthamoeba strains. *Cornea* 2006 May; 25(4): 423-427.
  15. Joslin CE, Tu EY, Shoff ME, Booton GC, Fuerst PA, McMahon TT, et al. The association of contact lens solution use and Acanthamoeba keratitis. *Am J Ophthalmol* 2007 Aug; 144(2): 169-180.
  16. Shukla Kent S, Robert MC, Tokarewicz AC, Mather R., Painless acanthamoeba keratitis. *Can J Ophthalmol* 2012 Aug; 47(4): 383-384.
  17. Tu EY, Joslin CE, Sugar J, Shoff ME, Booton GC. Prognostic factors affecting visual outcome in Acanthamoeba keratitis. *Ophthalmology* 2008 Nov; 115(11): 1998-2003.
  18. Oldenburg CE, Keenan JD, Cevallos V, Chan MF, Acharya NR, Gaynor BD, et al. Microbiological cure times in acanthamoeba keratitis. *Eye (Lond)* 2011 Sep; 25(9): 1155-1160.
  19. Clarke B, Sinha A, Parmar DN, Sykakis E. Advances in the Diagnosis and Treatment of Acanthamoeba Keratitis. *J Ophthalmol* 2012; 2012: 1-6.
  20. Tu EY, Joslin CE, Sugar J, Booton GC, Shoff ME, Fuerst PA. The relative value of confocal microscopy and superficial corneal scrapings in the diagnosis of Acanthamoeba keratitis. *Cornea* 2008 Aug; 27(7): 764-72.
  21. Kanavi R, Naghshgar N, Javadi M, Hashemi M. Various confocal scan features of cysts and trophozoites in cases with Acanthamoeba keratitis. *Eur J Ophthalmol* 2012; 22: S46-50.
  22. Al Kharousi N, Wali UK. Confoscan: An Ideal Therapeutic Aid and Screening Tool in Acanthamoeba Keratitis. *Middle East Afr J Ophthalmol*, 2012 Oct; 19(4): 422-425.