

Κερατίτιδα από *Acanthamoeba* σε μη χρήστες φακών επαφής

Κ. Τζανέτου,¹ Δ. Μιητσακάκης,²
Σ. Αλημίση,² Ε. Δοθαψάκη,¹ Ε. Μιχαηλίδου,¹
Ε. Λαμπρινίδου,¹ Ε. Μαθάμου-Λαδά¹

¹Μικροβιολογικό Εργαστήριο

²Κρατική Οφθαλμολογική Κλινική, Περιφερειακό Γενικό
Νοσοκομείο Αθηνών «Γ. Γεννηματάς»

Acanthamoeba keratitis in non-contact lens wearers

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου: *Acanthamoeba*, Κερατίτιδα, Μη χρήστες
φακών επαφής

Οι αμοιβάδες που ζουν ελεύθερα και ανήκουν στα γένη *Acanthamoeba*, *Naegleria* και *Balamuthia* είναι παθογόνα πρωτόζωα για τον άνθρωπο και τα ζώα.

Η *Naegleria fowleri* είναι το αίτιο της πρωτοπαθούς αμοιβαδικής μηνιγγοεγκεφαλίτιδας, μιας ταχέως εξελισσόμενης θανατηφόρου νευρολογικής νόσου, η οποία παρατηρείται σε νεαρούς ανοσοεπαρκείς ενήλικες.

Η *Acanthamoeba* spp και η *Balamuthia mandrillaris* προκαλούν λοιμώξεις, κατά προτίμηση δέρματος, κόλπων και κεντρικού νευρικού συστήματος (κοκκιωματώδης αμοιβαδική εγκεφαλίτιδα), κυρίως σε ανοσοκατασταλμένους.

Υποβλήθηκε 7.7.2000

Εγκρίθηκε 8.11.2000

Η *Acanthamoeba* spp προκαλεί κερατίτιδα σε ανοσοεπαρκή υγιή άτομα, τα οποία φορούν φακούς επαφής, ενώ μικρός αριθμός περιπτώσεων αναφέρεται σε άτομα με τραύμα του κερατοειδούς ή έκθεση σε μολυσμένα ύδατα.¹

Το γένος *Acanthamoeba* παρουσιάζει ένα διφασικό κύκλο ζωής, το βλαστικό στάδιο του τροφοζώιτη και το στατικό στάδιο της κύστης, έχει δε απομονωθεί από μια ποικιλία πηγών (ύδωρ, έδαφος, κοπρανώδες υλικό κ.λπ.). Μετά την πρώτη ανακάλυψη της κερατίτιδας από *Acanthamoeba* το 1973,² ο αριθμός των περιπτώσεων έχει αυξηθεί, ιδίως τα τελευταία 20 χρόνια, λόγω της ευρείας ενημέρωσης, της ακριβούς διάγνωσης και της αύξησης του αριθμού των ατόμων που φορούν φακούς επαφής. Η *Acanthamoeba* δεν εισέρχεται μόνο μετά από τοπικό μικροτραυματισμό στον κερατοειδή, αλλά μπορεί να προσκολλάται και να διαιτηραίνει ακέραιο επιθήλιο του κερατοειδούς και να προκαλεί φλεγμονή.^{3,4}

Η πρώιμη διάγνωση της λοίμωξης είναι μεγάλης σπουδαιότητας για την αποτελεσματική θεραπευτική αντιμετώπιση, γιατί οι τροφοζώιτες, οι οποίοι επικρατούν στο αρχικό στάδιο, είναι περισσότερο ευαίσθητοι στη θεραπεία από τις κύστεις, που ακολουθούν.

Αν και η υποψία και η πρώιμη διάγνωση της νόσου σε άτομα με φλεγμονή του κερατοειδούς, που φορούν φακούς επαφής, δεν είναι πλέον δύσκολη λόγω της αυξημένης συχνότητας, δεν θα πρέπει να διαφεύγουν της πρώιμης διάγνωσης και οι σπάνιες εκείνες περιπτώσεις κερατίτιδας από *Acanthamoeba* που δεν συνδέονται με τη χρήση φακών επαφής, αλλά έχουν άλλες πηγές μόλυνσης.

Στην εργασία αυτή αναφέρουμε δύο περιπτώσεις κερατίτιδας από *Acanthamoeba*, μια σε ασθενή με τραύμα του κερατοειδούς και άγνωστη πηγή μόλυνσης και μια δεύτερη σε ασθενή με ακέραιο επιθήλιο κερατοειδούς

και πηγή μόλυνσης το στάσιμο νερό δεξαμενής πλοίου που χρησιμοποιούσε για καθημερινή πλύση, με σκοπό την υποψία της λοίμωξης και την πρώιμη διάγνωση, που είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική θεραπεία και σε μη χρήστες φακών επαφής.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΩΝ

Κατά τη διάρκεια 5 ετών (1995–2000), 2 από 32 επιβεβαιωμένες με καλλιέργεια περιπτώσεις κερατίτιδας από *Acanthamoeba* διαγνωστήκαν σε άτομα που ουδέποτε είχαν χρησιμοποιήσει φακούς επαφής.

1η περίπτωση

Άνδρας ηλικίας 50 ετών προσήλθε στα ιατρεία της Κρατικής Οφθαλμολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου μας με ιστορικό μονόπλευρης κερατίτιδας διάρκειας >1 μήνα. Η αρχική διάγνωση ήταν ερπητική κερατίτιδα από τον ιό του απλού έρπητα (HSV), για την οποία ελάμβανε acyclovir. Ο ασθενής προσήλθε με ολική δακτυλιοειδή διήθηση του στρώματος και ποικίλες αλλοιώσεις του υπερκειμένου επιθηλίου. Η καλλιέργεια των ξεσμάτων του κερατοειδούς για βακτήρια και μύκητες ήταν αρνητική. Αν και ο ασθενής δεν έκανε χρήση φακών επαφής αλλά ανέφερε τραύμα από κλαδί δένδρου, το χαρακτηριστικό για προχωρημένη λοίμωξη από *Acanthamoeba* κλινικό εύρημα οδήγησε τον οφθαλμίατρο στην υποψία της νόσου και τη λήψη ξεσμάτων κερατοειδούς για καλλιέργεια σε μη θρεπτικό άγαρ (non-nutrient agar).

Επειδή η καλλιέργεια των ξεσμάτων μετά από παρακολούθηση 7 ημερών ήταν αρνητική για τροφοζώιτες και κύστει του πρωτοζώου, ελήφθη τεμάχιο ιστού με βιοψία και στάλθηκε για καλλιέργεια. Το αποτέλεσμα της καλλιέργειας ήταν θετικό για *Acanthamoeba* και αρνητικό για βακτήρια και μύκητες. Αμέσως έγινε έναρξη τοπικής θεραπείας με propamidine isethionate (Brolene 0,1 %) και Neosporine (neomycin-polymyxin B-gramicidin). Μετά από μακρά θεραπευτική αντιμετώπιση της κερατίτιδας ο ασθενής δεν παρουσίασε βελτίωση και υποβλήθηκε τελικά σε διαμπερή κερατοπλαστική, με τελική κατάληξη την ατροφία του οφθαλμικού βολβού.

2η περίπτωση

Ναυτικός ηλικίας 35 ετών προσήλθε με μονόπλευρη στρογγύλη κεντρική διήθηση του κερατοειδούς έκτασης 6x6 mm και τήξη του στρώματος. Τα συμπτώματα είχαν αρχίσει πριν από 35 ημέρες με κνησμό, πόνο και κόκκινο μάτι. Αρχικά, η λοίμωξη αντιμετωπίστηκε ως βακτηριακή επιπεφυκίτιδα και 10 ημέρες αργότερα ως ερπητική κερατίτιδα. Στο ιστορικό του ο ασθενής ανέφερε καθημερινό πλύσιμο του προσώπου με νερό από μια μικρή δεξαμενή του πλοίου, το οποίο παρέμενε στάσιμο για μήνες χωρίς καμία ανανέωση ή κλωρίωση. Από την καλλιέργεια των ξεσμάτων του κερατοειδούς σε μη θρεπτικό άγαρ απομονώθηκε *Acanthamoeba* spp (εικόνες 1–3), ενώ η καλλιέργεια για βακτήρια και

μύκητες ήταν αρνητική. Λίγες ημέρες αργότερα διαπιστώθηκε η πηγή μόλυνσης, από καλλιέργεια δείγματος νερού της δεξαμενής (250 mL περίπου) για *Acanthamoeba*, βακτήρια και μύκητες. Η συμπύκνωση του νερού έγινε με φυγοκέντρηση όλης της ποσότητας και καλλιέργεια του ιζήματος, από το οποίο απομονώθηκε *Acanthamoeba* spp (εικ. 4) και ένας *Bacillus* spp. Περαιτέρω τυποποίηση με ισοενzymική ανάλυση ή μοριακές τεχνικές, για να διαπιστωθεί ταύτιση του είδους της *Acanthamoeba* που απομονώθηκε από τα ξεσμάτα του κερατοειδούς και το νερό της δεξαμενής, δεν ήταν μέσα στις δυνατότητες του Εργαστηρίου μας. Ο ασθενής έλαβε για θεραπεία συνδυασμό ενός κατιονικού αντισηπτικού παράγοντα, chlorhexidine 0,02%, και μιας αρωματικής διαμιδίνης, hexamidine di-isethionate (Desomedine) 0,1%. Η καθυστέρηση στη διάγνωση και την έναρξη της τοπικής θεραπείας είχε ως αποτέλεσμα την αποτυχία της φαρμακευτικής αγωγής και τη διενέργεια, στη συνέχεια, διαμπερούς κερατοπλαστικής. Ο ασθενής βρίσκεται υπό παρακολούθηση.

ΣΧΟΛΙΟ

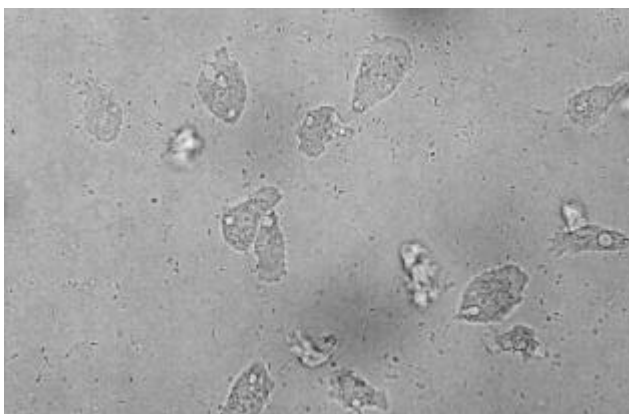
Η κερατίτιδα από *Acanthamoeba* είναι μια σοβαρή λοίμωξη του κερατοειδούς, η οποία τυπικά προσβάλλει τα άτομα που φορούν φακούς επαφής. Η συχνότητα της λοίμωξης έχει αυξηθεί κατά τη διάρκεια της προηγούμενης δεκαετίας, η αύξηση δε αυτή στις ΗΠΑ είναι παράλληλη με την αύξηση της χρήσης φακών επαφής.⁵ Η σύνδεση της ανωτέρω κερατίτιδας με τους φακούς επαφής έχει τονισθεί τόσο πολύ, ώστε οι οφθαλμίατροι να αναμένουν την κατάσταση αυτή μόνο σε όσους κάνουν χρήση φακών επαφής, ενώ οι άλλοι παράγοντες κινδύνου, όπως ο τραυματισμός από ξένο σώμα ή η επαφή με μολυσμένο ύδωρ, να αγνοούνται, με αποτέλεσμα οι περιπτώσεις αυτές κερατίτιδας από *Acanthamoeba* να μην περιλαμβάνονται στη διαφορική διάγνωση των κερατιτίδων που απαντούν σε μη χρήστες φακών επαφής.

Στο παρελθόν, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις κερατίτιδας από *Acanthamoeba* μετά από ήπιο τραύμα κερατοειδούς με φυτική ύλη, είσοδο εντόμου στο μάτι, επαφή με μολυσματική ύλη μεταφερόμενη με τον άνεμο ή με μολυσμένο ζεστό νερό μπάνιου.³ Η έκθεση του τραυματισμένου επιθηλίου του κερατοειδούς στους τροφοζώιτες ή τις αμοιβαδικές κύστει οδηγεί στην προσκόλληση και την είσοδο του παρασίτου, αν και η *Acanthamoeba* είναι ένα παθολόγο ικανό να εισβάλλει σε άθικτο επιθήλιο του κερατοειδούς και να εγκαταστήσει λοίμωξη και φλεγμονή.⁴

Στην πρώτη περιγραφόμενη περίπτωση μας, ο ασθενής ανέφερε τραυματισμό από κλαδί δένδρου, η δε πηγή μόλυνσης θα μπορούσε να ήταν η ίδια η φυτική ύλη ή η επαφή με μολυσμένη σκόνη ή με μολυσμένο νερό. Στη δεύτερη περίπτωση, δεν αναφερόταν τραυματισμός αλλά καθημερινή πλύση με το μολυσμένο νερό της δεξαμενής, από το οποίο απομονώθηκε και η *Acanthamoeba*. Η είσο-



Εικόνα 1. Τροφοζώιτες *Acanthamoeba* spp σε μη θρεπτικό άγαρ, τη 2η ημέρα καλλιέργειας ξεσμάτων κερατοειδούς του δεύτερου ασθενούς (x100).

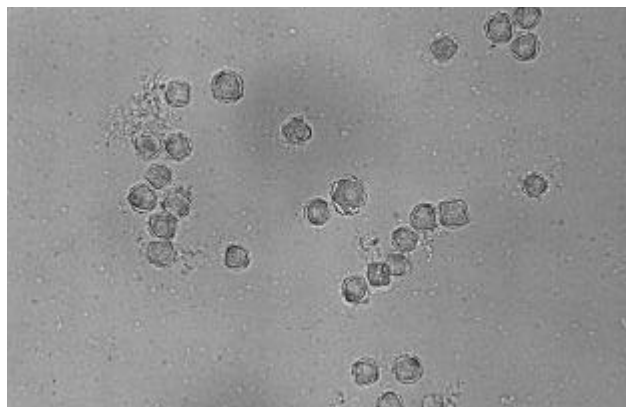


Εικόνα 2. Τροφοζώιτες σε νωπό παρασκεύασμα από καλλιέργεια 2 ημερών σε μη θρεπτικό άγαρ. Σε κάποιους διακρίνονται τα ακανθοπόδια (x400).

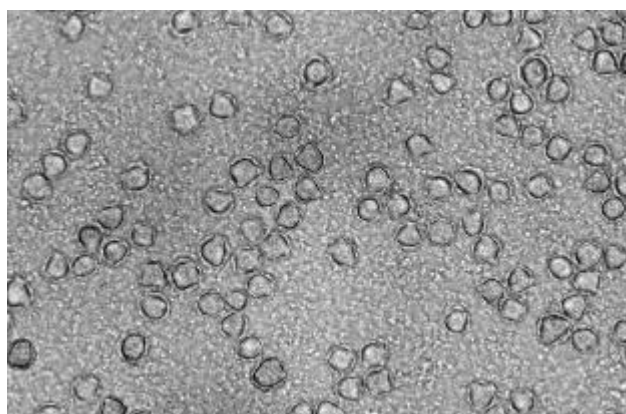
δος του παρασίτου στον κερατοειδή φαίνεται ότι έγινε μέσω ακέραιου επιθηλίου, χωρίς να προηγηθεί μικροτραυματισμός.

Η πιο πρώιμη εκδήλωση της κερατίτιδας από *Acanthamoeba* είναι η δενδριτικού τύπου (dendritiform) επιθηλιοπάθεια. Η δενδριτικού τύπου κερατίτιδα μπορεί να αντιπροσωπεύει λοίμωξη του επιθηλίου προτού αναπτυχθεί οποιαδήποτε συμμετοχή του στρώματος. Στο στάδιο αυτό της λοίμωξης, μετά από ευρύ επιθηλιακό καθαρισμό, ο οποίος προμηθεύει το εργαστήριο με επαρκές υλικό για καλλιέργεια και ευνοεί την είσοδο των φαρμάκων μετά την τοπική τους εφαρμογή, παρατηρείται ταχεία υποχώρηση των συμπτωμάτων. Η επιτυχία της θεραπείας εξαρτάται από την έναρξη της φαρμακευτικής αγωγής νωρίς κατά την πορεία της νόσου. Μελέτες έχουν δείξει ότι διάγνωση και θεραπεία μέσα στον 1ο μήνα από την έναρξη των συμπτωμάτων οδηγεί σε χαμηλότερη νοσηρότητα και σε καλύτερη οπτική έκβαση.⁶

Η δενδριτικού τύπου κερατίτιδα από *Acanthamoeba* μπορεί να εξηγηθεί το λόγο για τον οποίο η πλειονότητα



Εικόνα 3. Κύστες σε νωπό παρασκεύασμα από καλλιέργεια 7 ημερών σε μη θρεπτικό άγαρ. Διακρίνονται το διπλό τοίχωμα, το ρυτιδωμένο εξωτερικό τοίχωμα (εκτοκύστη) και το πολυγωνικό εσωτερικό τοίχωμα (ενδοκύστη) (x400).



Εικόνα 4. Κύστες *Acanthamoeba*, σε μη θρεπτικό άγαρ, την 8η ημέρα καλλιέργειας ιζήματος νερού της δεξαμενής του πλοίου (x400).

των ασθενών, ενώρις κατά την πορεία της νόσου, υποβάλλεται σε θεραπεία για ερπητική κερατίτιδα. Οι δενδριτικού τύπου αλλοιώσεις της κερατίτιδας από *Acanthamoeba* δεν μιμούνται ακριβώς τους κλασικούς δενδρίτες του απλού έρπητα (HSV), καθώς ο τελευταίος σχηματίζει αληθινό έλκος του κερατοειδούς, ενώ η αμοιβαδική κερατίτιδα προκαλεί μια οίδηματώδη και νεκρωτική εμφάνιση του εμπλεκόμενου επιθηλίου.⁷

Και στις δύο περιπτώσεις μας, η αρχική διάγνωση και θεραπεία έγιναν για ερπητική κερατίτιδα, με αποτέλεσμα η ορθή διάγνωση της κερατίτιδας από *Acanthamoeba* να τεθεί μετά τον πρώτο μήνα από την έναρξη των συμπτωμάτων και η κατάλληλη αντιαμοιβαδική θεραπεία να χορηγηθεί σε προχωρημένο στάδιο της λοίμωξης.

Η φλεγμονή του προσθίου τμήματος μπορεί να προκαλέσει αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης και καταρράκτη. Έντονη φλεγμονή του προσθίου τμήματος είναι δυνατό να παράγει υπόπυον.⁸

Η ακτινωτή κερατονευρίτιδα αποτελεί ένα άλλο σημείο κερατίτιδας από *Acanthamoeba*^{9,10} Χαρακτηρίζεται από γραμμική ακτινωτή, διακλαδίζομενη διήθηση από τα παράσιτα κατά μήκος των νεύρων του κερατοειδούς στο πρόσθιο στρώμα και ευθύνεται για την πρόκληση σοβαρού πόνου. Ο έντονος πόνος χαρακτηρίζει γενικά τη νόσο, ιδίως όταν η κερατίτιδα γίνει χρόνια.

Η δακτυλιοειδής διήθηση του στρώματος είναι χαρακτηριστικό προχωρημένης λοίμωξης και σχεδόν παθολογικό σημείο κερατίτιδας από *Acanthamoeba*.¹¹ Αυτή η δακτυλιοειδής διήθηση μπορεί να είναι τμηματική ή περιφερειακή, προοδευτική και συχνά περιλαμβάνει λέπτυνση ή αυλάκωση του στρώματος και ποικίλες βλάβες του υπερκείμενου επιθηλίου. Η τοξοειδής ή δακτυλιοειδής διήθηση παράγεται από τα πολυμορφοπύρνα λευκοκύτταρα λόγω χημειοταξίας μετά την καθίζηση αντιγόνου-αντισώματος.

Ο ασθενής της πρώτης περίπτωσης προσήλθε με τη χαρακτηριστική αυτή δακτυλιοειδή διήθηση του στρώματος, γεγονός που προκάλεσε την υποψία του οφθαλμιάτρου, ο οποίος περιέλαβε την *Acanthamoeba* στη διαφορική διάγνωση (εικ. 5).

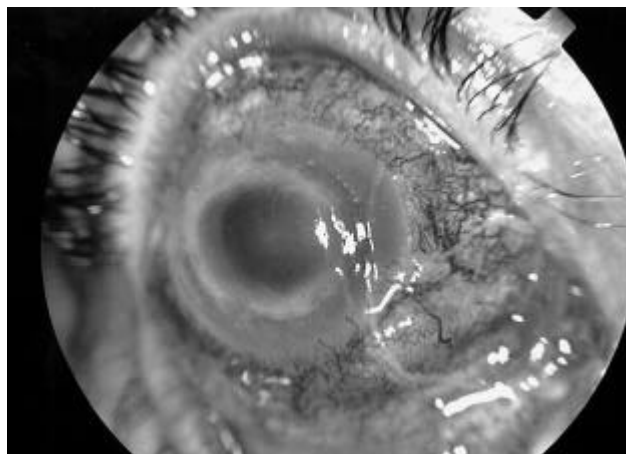
Ο δεύτερος ασθενής είχε μεν ευρήματα προχωρημένης λοίμωξης αλλά όχι τυπική εικόνα κερατίτιδας από *Acanthamoeba*. Το ιστορικό και η αποτυχία της θεραπείας για βακτηριακή λοίμωξη και στη συνέχεια για ερπητική, οδήγησαν τον οφθαλμίατρο στην αναζήτηση της *Acanthamoeba* ως αιτίου της νόσου.

Η έναρξη της κατάλληλης χημειοθεραπείας σε προχωρημένο στάδιο λοίμωξης και στους δύο ασθενείς είχε ως αποτέλεσμα την κακή οπτική έκβαση και τη διενέργεια, στη συνέχεια, διαμπερούς κερατοπλαστικής, με δυσάρεστες συνέπειες για τον ασθενή της πρώτης περίπτωσης.

Οι δύο περιπτώσεις κερατίτιδας από *Acanthamoeba* σε άτομα που δεν φορούσαν φακούς επαφής είναι οι πρώτες που αναφέρονται στην Ελλάδα (η πρώτη περίπτωση περιελήφθη σε μια μελέτη 14 περιπτώσεων κερατίτιδας από *Acanthamoeba* σε άτομα που έκαναν χρήση φακών επαφής).¹⁰

Η συχνότητα της κερατίτιδας από *Acanthamoeba* σε μη χρήστες φακών επαφής είναι πολύ μικρή, 6,25% (2 από 32) του ολικού αριθμού των περιπτώσεων κατά τη διάρκεια 5 ετών. Το υπόλοιπο ποσοστό, 93,75% (ανέκδοτα αποτελέσματα), αφορά χρήστες φακών επαφής.

Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται λίγες ανάλογες περιπτώσεις, χωρίς να έχει απομονωθεί η *Acanthamoeba* από καμία από τις υποτιθέμενες πηγές μόλυνσης.¹² Μικρές σειρές κερατίτιδας από *Acanthamoeba* σε μη χρήστες φακών επαφής, μετά από τραυματισμό ή πλύσιμο με μολυσμένο νερό, αναφέρονται και από άλλους συγγραφείς.¹³ Σύμφωνα με μια μελέτη από το Centers for Disease Control, 15% των ασθενών με κερατίτιδα από *Acan-*



Εικόνα 5. Δακτυλιοειδής διήθηση του στρώματος στον ασθενή της πρώτης περίπτωσης, παθολογικό σημείο κερατίτιδας από *Acanthamoeba*.

thamoeba δεν φορούσαν φακούς επαφής.¹⁴ Η μεγαλύτερη σειρά κερατίτιδας από *Acanthamoeba* σε μη χρήστες φακών επαφής, με προδιαθεσικούς παράγοντες το τραύμα ή το μολυσμένο νερό, αναφέρθηκε πρόσφατα στην Ινδία.¹⁵

Η κερατίτιδα από *Acanthamoeba*, αν και σπάνια στη χώρα μας, μπορεί να συμβεί και σε μη χρήστες φακών επαφής. Η διάγνωση καθώς και η έναρξη της θεραπείας μπορεί να καθυστερήσουν, με δυσάρεστες συνέπειες για τον ασθενή, αν ο οφθαλμίατρος ή ο γενικός ιατρός δεν λάβει υπόψη τους μείζονες παράγοντες κινδύνου, που, εκτός από τους φακούς επαφής, είναι το τραύμα του κερατοειδούς και η έκθεση σε μολυσμένο νερό. Σε ασθενείς με τυπική ή όχι κλινική παρουσίαση κερατίτιδας από *Acanthamoeba* και ιστορικό έκθεσης σε έναν από τους παράγοντες κινδύνου, εκτός από τη χρήση φακών επαφής, θα πρέπει να γίνεται λήψη ξεσμάτων κερατοειδούς για καλλιέργεια και σε μη θεραπευτικό άγαρ (non-nutrient agar 1,5%) ή λήψη ιστού με βιοψία, όταν η καλλιέργεια των ξεσμάτων είναι αρνητική.

ABSTRACT

***Acanthamoeba* keratitis in non-contact lens wearers**

K. TZANETOU,¹ D. MILTSAKAKIS,² S. ALIMISI,²
E. DOLAPSAKI,¹ E. MICHAELIDOU,¹
E. LAMBRINIDOU,¹ E. MALAMOU-LADA¹

¹Laboratory of Microbiology,

²Department of Ophthalmology, "G. Gennimatas"
District General Hospital of Athens, Athens, Greece
Archives of Hellenic Medicine 2000, 17(6):615-619

This is a report of 2 cases of culture-proven *Acanthamoeba* keratitis, in non-wearers of contact-lenses, diagnosed during the last 5 years. Both patients presented with symptoms and signs of advanced infection, of at least one

month's duration. The first patient presented with a ring-shaped stromal infiltrate and had a history of corneal trauma from a tree branch. The second was a seaman with a central round infiltration who had a history of daily exposure to contaminated reservoir water. *Acanthamoeba* was isolated from biopsy material and corneal scrapings by culture on non-nutrient agar overlaid with *Escherichia coli*, as well as from the reservoir water in the second case. Topical therapy (a combination of Brolene 0.1% and Neosporine or Chlorhexidine 0.02% and Desomedine 0.1%) failed, because of delayed diagnosis and treatment initiation, and both patients subsequently underwent penetrating keratoplasty. In conclusion, non-wearers of contact lenses with symptoms of keratitis and a history of exposure to one of the known risk factors (trauma, contact with contaminated water) should also be investigated for *Acanthamoeba* infection, so that early diagnosis investigated and initiation of effective treatment can be ensured.

Key words: *Acanthamoeba*, Keratitis, Non-wearers of contact lenses

Βιβλιογραφία

1. STEHR-GREEN JK, BAILY TM, VISVESVARA GS. The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *Am J Ophthalmol* 1989, 107:331-336
2. NAGINGTON J, WATSON PG, PLAYFAIR TJ. Amoebic infection of the eye. *Lancet* 1974, ii:1547-1550
3. AURAN JD, STARR MB, JAKOBIEC FA. *Acanthamoeba* keratitis: a review of the literature. *Cornea* 1987, 6:2-26
4. MOORE MB. *Acanthamoeba* keratitis and contact lens wear; the patient is at fault. *Cornea* 1990, 9(Suppl 1):S33-S35
5. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. *Acanthamoeba* keratitis associated with contact lenses. *United States MMWR* 1986, 35:405-408
6. BACON AS, DART JK, FICKER AL, MATHESON MM, WRIGHT P. *Acanthamoeba* keratitis: The value of early diagnosis. *Ophthalmology* 1993, 100:1238-1243
7. LINDQUIST TD. Treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *Cornea* 1998, 17:11-16
8. MANNIS MJ, TAMARU R, ROTH AM, BURNS M, THIRKILL C. *Acanthamoeba* sclerokeratitis: determining diagnostic criteria. *Arch Ophthalmol* 1986, 104:1313-1317
9. MOORE MB, McCULLEY JP, KAUFMAN HE, ROBIN JB. Radial keratoneuritis as a presenting sign of *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology* 1986, 93:1310-1315
10. ΤΖΑΝΕΤΟΥ Κ, ΑΛΗΜΙΣΗ Σ, ΜΙΑΤΣΑΚΑΚΗΩ Δ, ΜΑΝΙΚΑ Ζ, ΔΟΛΑΨΑΚΗ Ε, ΜΑΡΚΟΜΙΧΕΛΑΚΗΣ Ν ΚΑΙ ΣΥΝ. Κερατίτιδα από *Acanthamoeba*. *Ιατρική* 1998, 73:329-334
11. THEODORE FH, JACOBIEC FA, JUECHTER KB, PEARL MA, TROUTMAN RC, PANG PM ET AL. The diagnostic value of a ring infiltrate in *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology* 1985, 92:1471-1479
12. SHARA S, SRINIVASAN M, GEORGE C. *Acanthamoeba* keratitis in non-contact lens wearers. *Arch Ophthalmol* 1990, 108:676-678
13. CHANG PT, KAZ SOONG H, MICH A. *Acanthamoeba* keratitis in non-contact lens wearers. *Arch Ophthalmol* 1991, 109:463-464
14. STEHR-GREEN J, BAILEY TM, VISVESVARA GS. The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *Am J Ophthalmol* 1989, 107:331-336
15. SHARMA S, GARG P, RAO GN. Patient characteristics, diagnosis, and treatment of non-contact lens related *Acanthamoeba* keratitis. *Br J Ophthalmol* 2000, 84:1103-1108

Corresponding author:

K. Tzanetou, Laboratory of Microbiology, "G. Gennimatas" District General Hospital of Athens, GR-156 69 Athens, Greece