

# QUERATITIS POR ACANTHAMOEBA. INFECCIÓN OCULAR EMERGENTE. REPORTE DE CASOS.

ACANTHAMOEBA KERATITIS. EMERGING OCULAR INFECTION. CASE REPORTS.

*CERATITE POR ACANTHAMOEBA. INFECÇÃO OCULAR EMERGENTE. RELATÓRIO DOS CASO.*

## Resumen

Desde que se publicaron los primeros casos de queratitis causados por *Acanthamoeba* spp., en 1974, la cifra fue en aumento. Esta patología está relacionada con el uso de lentes de contacto y las cirugías refractivas, aunque no de manera excluyente, ya que el protozoo puede contraerse de fuentes de agua contaminadas, como lagunas y estanques.<sup>1,2,5,8,10</sup> El crecimiento de las amebas de vida libre se ve favorecida por el aumento de la temperatura del agua producto del calentamiento global y la tropicalización del clima. En el presente trabajo, se informan 11 casos de queratitis asociados al uso de lentes de contacto y cirugías refractivas y el caso de un paciente que adquirió los protozoos en su tarea laboral limpiando un aljibe. Para el diagnóstico de laboratorio se realizó raspado corneal para llevar a cabo el parasitológico directo y la siembra en medio de cultivo. Todas las muestras cultivadas resultaron positivas para *Acanthamoeba* spp. Esta entidad nosológica se caracteriza por generar un cuadro clínico caracterizado por fuertes dolores oculares y disminución de la capacidad visual. En el examen oftalmológico, se puede confundir con una infección herpética. Si la infección no se diagnostica y se trata de manera oportuna, puede conducir a la perforación de la córnea y a la pérdida del ojo.

**Palabras Clave:** Queratitis, *Acanthamoeba*, Córnea, Protozoos.

\*Roque A. Mafrand<sup>1</sup>,  
\*\*\* Rogelio Daniel Pizzi<sup>2</sup>,  
\*\*\* Mirtha G. Páez R.<sup>2</sup>,  
\*\*\*Axel Tomas<sup>2</sup>,  
\*\*\*\*Carola M. Mafrand,  
\*\*Hugo Luis Pizzi<sup>2</sup>.

\*Profesor Titular Cátedra de Clínica Oftalmológica.  
\*\*Profesor Titular Plenario Cátedra de Parasitología y Micología Médicas.  
\*\*\*Profesores Cátedra de Parasitología y Micología Médicas. \*\*\*\* Médica oftalmóloga, FCM. UNC.

<sup>1</sup>Roque Alejandro Mafrand. Belgrano 511. Córdoba, Argentina. 0351-4218863. roquemaftrand@gmail.com

<sup>2</sup>Departamento Publicaciones del Centro de Enfermedades Tropicales y Cátedra de Parasitología y Micología Médicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Santa Rosa 1085, Córdoba, Argentina. 0351-4332018.

Trabajo recibido: 05 de setiembre 2018.  
Aprobado: 30 de noviembre 2018.

## Abstract:

Since the first cases of keratitis caused by *Acanthamoeba* spp. were published in 1974,<sup>3</sup> the number of cases has been increasing. This pathology is related to the use of contact lenses and refractive surgeries, not exclusively, however; since the protozoan can be contracted from contaminated water sources, such as ponds and lagoons.<sup>1,2,5,8,10</sup> The growth of free-living amoebas is favored by the increase in water temperature as a result of global warming and the weather becoming more tropical. In this work, 11 cases of keratitis associated with the use of contact lenses and refractive surgeries are reported, as well as the case of a patient who acquired the protozoa at work, when cleaning a water well. For the lab diagnosis, corneal scraping was performed for direct parasitological analysis and sowing in culture medium. All the cultivated samples were positive for *Acanthamoeba* spp. This nosological entity is characterized by generating a clinical condition presenting strong eye pain and decreased visual acuity. In the ophthalmological examination, it can be confused with herpetic infection. If the infection is not diagnosed and treated in a timely manner, it can lead to perforation of the cornea and vision loss.

**Key Words:** Keratitis, *Acanthamoeba*, Cornea, Protozoan.

## Resumo:

A partir da publicação dos primeiros casos de ceratite causada por *Acanthamoebaspp*, em 1974, 3 o número deles foi aumentando. Esta patologia tem relação com o uso de lentes de contato e cirurgias refrativas, ainda que de maneira não exclusiva, já que o protozoário pode ser contraído em fontes de água contaminadas, tais como lagos e lagoas<sup>1,2,5,8,10</sup>. O crescimento de amebas de vida livre é favorecido pelo aumento da temperatura d'água devido ao aquecimento global e à tropicalização do clima. Neste trabalho, 11 casos de ceratite associados com o uso de lentes de contato e cirurgia refrativa e um deles, o paciente que foi infectado por protozoários em seu trabalho durante a limpeza de uma cisterna. Para o diagnóstico laboratorial, realizou-se raspagem corneana para o teste parasitológico direto e sementeira em meio de cultura. Todas as amostras cultivadas foram positivas para o *Acanthamoebaspp*. Essa entidade nosológica é caracterizada por gerar um quadro clínico que emerge com uma forte dor ocular e diminuição da acuidade visual. No exame oftalmológico, pode ser confundido com uma infecção herpética. Se a infecção não for oportunamente diagnosticada e tratada, pode levar à perfuração da córnea e à perda do olho.

**Palavras chave:** Ceratite, *Acanthamoeba*, Córnea, Protozoários.

## Introducción

La queratitis por *Acanthamoebaspp*. es una patología producida por protozoarios que puede llevar a pérdida total de la visión sino se la diagnóstica oportunamente y se inicia tratamiento. La patogenicidad del género *Acanthamoebaspp*. fue comunicada recién en 1958, por Culbertson y en 1972 para humanos; constituyen un grupo de protozoos oportunistas de la Familia *Acanthamoebidae*, formado por tres géneros: *Acanthamoeba*, *Naegleria* y *Valkanphia*. Según estudios taxonómicos, el género *Acanthamoeba* está compuesto por 16 especies clasificadas en tres grupos.<sup>1,3,5</sup> Se conoce la implicación de varias especies de *Acanthamoeba* en enfermedades humanas, incluyendo *A. astronyxis*, *A. culbertsoni*, *A. polyphaga*, *A. hatchetti*, no obstante muchos aspectos de la taxonomía de *Acanthamoeba* a nivel de especie faltan esclarecer. Se trata de agentes de vida libre y oportunistas capaces de generar queratitis amebiana y encefalitis amebiana granulomatosa.<sup>1,2,5,8,10,23</sup> Los primeros casos por queratitis amebiana se comunican en 1974,<sup>3</sup> luego se señalan reportes en distintos países del mundo la mayoría en EE.UU y luego en Inglaterra,

Holanda, Alemania, Bélgica y en Asia, África y Oceanía.<sup>1, 2, 3, 8, 10</sup>

*Acanthamoeba* spp. se encuentra en la naturaleza y es el protozoo más prevalente en el medio ambiente, sus especies se ubican en el suelo húmedo, salitroso, en el agua de mar; aguas residuales; piscinas; lentes de contacto y sus soluciones; unidades de tratamiento dental; máquinas de la diálisis; sistemas de calefacción, ventilación y aire acondicionado; en cultivos de células de mamífero y alimentos (verduras). Además, se han descrito en fosas nasales y garganta de humanos y en cerebro, piel y pulmón de humanos y animales. Más aún, también se han aislado en laboratorios y áreas destinadas al lavado de ojos para emergencias, donde representan un peligro para las personas con córnea dañada.<sup>1, 2, 5, 6, 8, 10</sup>

Se distingue de *Naegleria fowleri*, otra ameba que causa infecciones muy peligrosas, en que su ciclo de vida tiene 2 estadios, uno como quiste y otro como trofozoito, y no tiene formas flageladas. Los quistes y los trofozoitos ingresan al organismo por diversos medios, entre éstos, a través de los ojos, las vías nasales e incluso úlceras en la piel. La infección se ve favorecida por traumatismos oculares, cuerpos extraños en el ojo y la exposición a fuentes de agua contaminadas con las amebas.<sup>1, 2, 3, 8, 29</sup> El ingreso al ojo por parte de *Acanthamoeba* spp. puede ocasionar una grave queratitis en personas sanas, especialmente en usuarios de lentes de contacto. Estos protozoarios atacan la córnea a través de las formas evolutivas de trofozoito y quiste mediante fagocitosis y producción de enzimas.<sup>1, 5, 8, 14</sup> Los trofozoitos miden entre 15 a 50 µm, tienen pseudópodos de forma de espina, son pleomórficos con una vacuola contráctil, núcleo central y nucléolo grande. Los quistes miden entre 10-25 µm, son esféricos, tienen poros, núcleo central y grande, doble pared, la externa lisa con proteínas, lípidos y la interna poligonal, estelar o globular con carbohidratos (celulosa). Los quistes son las formas resistentes y pueden permanecer por años en el estroma corneal y originar las recidivas de la patología.<sup>1, 2, 8, 17</sup>

Diferentes estudios se enfocan en conocer más en detalle aspectos de la biología de estas especies de amebas de vida libre y de sus mecanismos de infección. En este sentido, autores como Thomas et al. (2010) evaluaron el papel de las amebas de vida libre, entre éstas, especies de *Acanthamoeba*, para favorecer a la infección en seres humanos de otros microorganismos. Por otra parte, se ocuparon de estudiar cómo lograr el control de las amebas de vida libre en el medio ambiente (por ejemplo, en los sistemas de agua potable para consumo humano). Khan (2008) revisa los mecanismos de acción patógena de la infección de *Acanthamoeba* en seres humanos, y el tránsito de estos microorganismos hasta alcanzar, invadir y dañar el sistema nervioso central.

El 85% de aislamientos de *Acanthamoeba* spp. se obtienen por cultivos luego de biopsias corneales en pacientes que utilizan lentes de contacto blandas o semi-blandas, hay que citar como factores de riesgo además, la incorrecta limpieza de las lentes o el empleo de agua de la red clorada.<sup>8, 24</sup> En la misma dirección, se han aislado amebas en las soluciones salinas utilizadas para las lentes de contacto, y en estas últimas luego de prácticas acuáticas sin limpieza posterior.<sup>21</sup>

No solo la utilización de lentes de contacto se señala como antecedente de los casos de queratitis, en nuestra experiencia, las cirugías oculares refractivas previas tendrían un rol, ya que el tejido cicatricial sería propicio para la colonización de estos agentes.

La omisión diagnóstica por la impericia asociada al desconocimiento de esta patología conduce a formas graves de queratitis con daño residual que puede representar la pérdida total y definitiva de la visión.

En 1984, se publica el primer caso de queratitis relacionado con el uso de lentes de contacto, desde este momento los reportes hablan de un aumento significativo de esta patología en todo el mundo, remarcando esta asociación.<sup>28</sup>

El objetivo del trabajo es difundir y compartir conocimiento sobre once casos de queratitis por *Acanthamoeba*, de pacientes concurrentes al Servicio de Clínica Oftalmológica del Hospital Nacional de Clínicas de la ciudad de Córdoba, Argentina.

PRESENTACIÓN DE LOS CASOS

Se presentan 11 casos de queratitis amebiana. El motivo de consulta fue dolor ocular, intenso, fotofobia, sensación de cuerpo extraño, prurito, lagrimeo e irritación. 10 pacientes eran usuarios de lentes de contacto, 2 registraban una cirugía refractiva, un paciente tenía como antecedente la limpieza de un aljibe y la queratitis fue bilateral; otro había sufrido un traumatismo con astilla de árbol, otros 3 habían tomados baños de inmersión en estanques y otro paciente sufrió traumatismo por entrada de arena en sus ojos en un día ventoso. En todos los casos, la consulta fue dolor ocular intenso con la flexión de la cabeza y oclusión con la mano del ojo afectado, actitud característica que refiere al cuadro doloroso tan propio de esta patología.

En el examen oftalmológico se pudo comprobar la lesión de la córnea (úlceras) en todos los pacientes y 10 de ellos presentaban infiltrado del estroma en forma anular (Fig.1 Fig.2, Fig.3. Fig.4). Un paciente presentó un absceso a punto de perforarse con necrosis de toda la córnea, caso que derivó en la pérdida del ojo (Fig.Nº5). Además de los síntomas señalados más arriba, los pacientes contaban con largo tiempo de consultas y tratamientos previos, con empeoramiento y grave compromiso oftalmológico en la mayoría de los casos. Todos son oriundos de zonas rurales del interior de Córdoba y 6 provenientes de la ciudad de Córdoba, Argentina.

En cuadros oculares asociados al uso de lentes de contacto, cirugía refractiva o tareas que impliquen contacto con aguas estancadas (aljibes, lagunas, estanques etc.) que se presenten con dolor ocular, queratitis dendritiforme, queratopatía, perineuritis radial, infiltrado estromal en anillo con evolución no supurativa y sin respuesta a tratamientos previos con antibióticos o antivíricos, debe considerarse la queratitis por amebas y llevar adelante el diagnóstico.

En estos casos, se procedió al raspado corneal para realizar el examen parasitológico directo, previa coloración con Giemsa para visualización con microscopio 40x. El total de las muestras se dividieron en 2 partes, con la primera, se llevó a cabo el examen directo con esta última coloración y con la segunda se inoculó en el medio de cultivo Agar ordinario sin agregado de nutrientes. De igual modo, se recolectó material proveniente de las lentes y de la solución conservante del estuche de guardado. Se identificó la presencia de trofozoitos de Acanthamoebaspp al examen parasitológico directo con Giemsa, en 7 pacientes, lo que arrojó porcentajes aproximados al 63 % y el cultivo de la córnea fue positivo en el 100 % de los pacientes. En cuanto a las muestras de las lentes, en 4 casos fueron positivas al examen directo con 4 cultivos positivos; en la solución conservante, 5 muestras resultaron positivas al examen directo y en 6 se visualizaron los protozoarios en el medio de cultivo. Se produjo el diagnóstico en 11 pacientes de queratitis por Acanthamoeba spp.



Fig.Nº 1 Queratitis amebiana

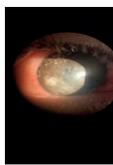


Fig.Nº 3 Queratitis amebiana



Fig.Nº 4 Queratitis amebiana

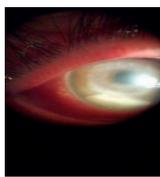


Fig. N° 2 Queratitis amebiana



Fig.Nº5. Absceso de córnea a punto de perforarse

## Discusión

La patología más frecuente causada por *Acanthamoeba* spp. en el hombre es la queratitis. De acuerdo a las referencias revisadas, hay una asociación entre el protozoo y el uso de lentes de contacto y según nuestra experiencia, el antecedente de cirugías refractivas; pero el protozoo puede contraerse además por actividades como bañarse o tomar contacto con aguas cálidas, incluso templadas de lagunas o estanques en porcentajes que rondan el 10-15%. En otros casos se registran traumatismos oculares previos.<sup>1,2,6,8</sup>

La verdadera incidencia de queratitis por *Acanthamoeba* spp., no se conoce, se estima que representa menos del 5% de las queratitis entre portadores de lentes de contacto y del 13% en el total de queratitis infecciosas.<sup>13,34</sup>

Además, el riesgo se amplifica si sumamos la deficiente limpieza de las lentes y la omisión de la utilización de las soluciones oftalmológicas estériles.<sup>20,21</sup>

Es bueno destacar que, el aislamiento de *Acanthamoeba* spp. en las lentes no implica necesariamente infección por el protozoo, ya que el mismo se puede determinar en 0-7 % de portadores asintomáticos.<sup>33</sup>

Hay que considerar y es una posibilidad que conspira contra la detección precoz de este protozoo, que el cuadro clínico semeja al de la queratitis por Herpes simplex, bacterias u hongos.<sup>25, 26</sup> Debido a esto, los profesionales oftalmólogos recurren al tratamiento antivírico, antibiótico o antifúngico de manera previa, retrasando el diagnóstico de la queratitis amebiana, lo que lleva a un agravamiento del cuadro clínico y a la posibilidad de daño irreversible de las estructuras oculares. La totalidad de los pacientes presentados, habían recibido tratamiento previo con estos fármacos.

Dentro de la clínica presentada, 10 de los pacientes que concurrieron a la consulta, lo hicieron con infiltración del estroma en forma anular de 360°, un paciente se presentó con un absceso corneal a punto de perforarse, lo que habla de la evolución prolongada de la afección. Otros autores reportan además de esta infiltración anular del estroma, perforación de la córnea, lesiones de las estructuras del ojo, cataratas, elevación de la presión intraocular, escleritis y pérdida de la visión.<sup>25,26, 29</sup>

La infiltración del estroma en forma de anillo es una lesión similar a la de una queratitis herpética, especialmente cuando se acompaña del estroma anterior y necrosis,<sup>26</sup> por lo que es muy importante el diagnóstico diferencial entre ambas patologías, el dolor ocular intenso es un elemento muy importante para esta diferenciación. El retraso del diagnóstico precoz conlleva la progresión y el aumento del daño producido por *Acanthamoeba* spp.<sup>31</sup> En consonancia con otros autores, el infiltrado anular del estroma es característico de la infección tardía, los pacientes de la serie estudiada, tenían varias semanas y meses de evolución, tal como refiere Bacon,<sup>29</sup> este infiltrado es más denso en la periferia y se compone de concurrencia por quimiotaxis de leucocitos polimorfonucleares por precipitación antígeno-anticuerpo.<sup>30</sup>

Otra lesión que puede aparecer por amebas es la queratitis punteada, se trata de una lesión inespecífica que se presenta por otras entidades nosológicas y debe pensarse en *Acanthamoeba* spp. cuando no responde a otros tratamientos y puede presentarse en cualquier momento evolutivo de la patología.<sup>29</sup>

## Conclusión

El desconocimiento sobre esta patología y su alcance en el mundo, incentiva al equipo de investigación a compartir la casuística entre los años 2012-2017 mediante este reporte.

Es indudable que se trata de una infección subvalorada y en la mayoría de los casos no diagnosticada precozmente lo cual permite la evolución del cuadro clínico y la presentación de sus graves complicaciones.

La queratitis por *Acanthamoeba* spp. es una entidad de difícil diagnóstico y tratamiento; el

enfoque debe estar puesto en las medidas de prevención y de superarse esta etapa se debe diagnosticar lo antes posible para evitar su grave evolución, que incluye pérdida de la visión e incluso del propio globo ocular. Es una patología emergente y el aumento de casos, se cree tiene relación con el cambio climático, que lleva a la elevación de la temperatura en hábitats como lagunas o estanques, sitios donde proliferan estos patógenos.

#### RECOMENDACIONES:

La sospecha clínica debe notificarse al equipo del laboratorio para incluir esta patología dentro de los diagnósticos diferenciales y así aumentar las chances para su hallazgo; teniendo sobre el horizonte la posibilidad de la gravedad del cuadro clínico, ya que el pronóstico está en función de la rapidez con que se instaura el tratamiento adecuado.

En vistas a la asociación reportada de queratitis amebiana y usuarios de lentes de contacto, los pacientes deben conocer la importancia de su lavado con soluciones comerciales de suero fisiológico estéril. No deben utilizar agua corriente y se deben limpiar y frotar las superficies internas del estuche con el limpiador de las lentes de contacto y éstas deben desinfectarse con calor o peróxido de hidrógeno. La desinfección regular del estuche con agua muy caliente ayudará a matar los trofozoitos y los quistes, y una vez concluido este procedimiento el mismo se secará al aire.

#### Bibliografía

1. Martínez A, Visvesvara GS. Free living amphizoic and opportunistic Amebas. *Brian Pathol*(1997); 7: 58-98.
2. Visvesvara GS, Stehr-Green JK. Epidemiology of the free-living amoeba infection. *J Protozool*(1990); 37: 25s-33s.
3. NagingtonJ, WatsonPG, PlayfairTJ, McGillJ, JonesBR, Steel ADM. Amoebic infection of the eye. *Lancet*, 2 (1974), pp. 1537-1540.
4. De Jonckheere JF. Ecology of Acanthamoeba. *Rev Infect Dis*, 13(Supl) (1991), pp. 385-387.
5. Brandt FH, Ware DA, Visvesvara GS. Viability of Acanthamoebacysts in ophthalmic solutions. *ApplEnvironMicrobiol*(1989); 33: 1144-6.
6. Ibrahim, WY, Boozy LD, Cree IA. Factores que afectan la epidemiología de la queratitis por Acanthamoeba. *Epidemiología oftálmico*.(2007), 14.2, 53-60.
7. Kong, HH. Phylogeny molecular de Acanthamoeba. *El diario Coreano de Parasitología*. (2009), 47(suppl), S21.
8. Khan, AN. Acanthamoeba: Biología y creciente importancia en la salud humana. *Comentarios de la microbiología FEMS*. (2006), 30.4, 564-595.
9. Khan, NA. Acanthamoeba y la barrera hemato - encefálica: el avance. *Diario de la microbiología médica*.(2008),57(9), 1051-1057.
10. Schuster FL, Visvesvara GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *Int J Parasitol*, Aug 2004;34(9):1001-1027.
11. Visvesvara, GS, H. de MouraySchuster FL. Amebas amebas de vida libre patógenas y oportunistas: Acanthamoebaspp., Naegleriafowleri, los mandrillaris de Balamuthia y Sappiniadiploidea. *Inmunología FEMS y microbiología médica*. (2007), 50(1), 1-26.
12. Schuster FL, Visvesvara GS. Amebae and ciliated protozoa as causal agents of waterborne zoonotic disease. *Vet Parasitol*, 2004;126 (1-2 SPEC.ISS.), pp. 91-120.
13. MorletN, DuguidG, RadfordC, MathesonM, Dart J. Incidence of Acanthamoeba keratitis associated with contact lens wear. *Lancet*, 350 (1997), pp. 414.
14. Centers for Disease Control. Acanthamoeba keratitis associated with contact lenses United States. *MMWR*, 35 (1986), pp. 405-408.

15. Chynn EW, Talamo JH, Seigman MS. Acanthamoeba keratitis: is water exposure a true risk factor? *CLAO J* 1997; 23:55-6.
16. Pizzi HL, Sánchez RJ, Huck GA, Tomas AF; Artrópodos. Calentamiento global. Nuevos desafíos. Control de plagas. Córdoba, Argentina. Edit. Rotagraf. (2012), pp. 19-41.
17. Pizzi HL, Sánchez RJ, Tomas AF, Páez MG. Un mundo microscópico de asesinos seriales, los protozoarios. Córdoba, Argentina. Editorial Premat.(2016), pp. 183-194.
18. Moore MB, McCulley JP. Acanthamoeba keratitis associated with contact lenses: six cases of successful management. *Br J Ophthalmol*, 73 (1989), pp. 272-275.
19. Rubio G, Urra E, Hernández JL, Martínez R, Barrón J, Urberuaga M. Queratitis en portador de lentes de contacto. *EnfInfecc MicrobiolClin*, 11 (1993), pp. 223-224.
20. Queratitis por Acanthamoeba. En: Durn de la Colina JA, editor. Complicaciones de las lentes de contacto. Ponencia DXXIV SEO 1998; 263-278.
21. Stehr-Green JK, Bailey TM, Brandt FH, Carr CH, Bond WW, Visvesvara GS. Acanthamoeba keratitis in soft contact lens wearers. *JAMA*, 258 (1987), pp. 57-60.
22. Stehr-Green JK, Bailey TM, Visvesvara GS. The epidemiology of Acanthamoeba keratitis in United States. *Am J Ophthalmol* (1989); 107: 331-6.
23. Marciano-Cabral, F& Cabral G. Acanthamoeba spp. como agentes de enfermedad en los seres humanos. *Comentarios de microbiología clínica*. (2003), 16, 273-307.
24. Martínez AJ, Visvesvara GS. Laboratory diagnosis of pathogenic free-living amoebas. *Naegleria, Acanthamoeba, Leptomixid*. *Clin. Lab. Med* (1991); 11:861-72.
25. Elander TR, Goldgerg MA, Salinger Clet al. Microbial changes in the ocular environment with contact lens wear. *CLAOS* 1992, 18: 53-5.
26. Bueler PO, Schein OD, Stamler JF et al. The increased risk of ulcerative keratitis among disposable soft contact lens wear. *Arch Ophthalmol*(1992), 110: 1555-8.
27. Linquist TD. Treatment of Acanthamoeba keratitis. *Cornea* 1998, 17: 11-6.
28. Samples JB, Binder PS, Luibel FJ, Font RL, Visvesvara GS, Peter CR. Acanthamoeba keratitis possibly from a hot tub. *Arch Ophthalmol*, 102 (1984), pp. 707-710.
29. Bacon AS, Frazer DG, Dart JK, Matheson M, Ficker LA, Wright P. A review of 72 consecutive cases of Acanthamoeba keratitis, 1984-1992. *Eye*, 7 (1993), pp. 719-725.
30. Scully RE, Mark ES, McNeely BU. Case records of the Massachusetts General Hospital: weekly clinicopathological exercises: case 10 -1985. *N Engl J Med*, 312 (1985), pp. 634-641.
31. Mathers WD, Sutphin JE, Lane JA, Folberg R. Correlation between surface water contamination with amoeba and the onset of symptoms and diagnosis of amoeba-like keratitis. *Br J Ophthalmol*, 82 (1998), pp 1143-1146. Medline.
32. Illingworth CD, Cook SD, Karabatsas CH, Easty DJ. Acanthamoeba keratitis: Risk factors and outcome. *Br J Ophthalmol*, 79 (1995), pp 1078-1082.
33. Devonshire P, Munro FA, Abernethy C, Clark BJ. Microbial contamination of contact lens cases in the west of Scotland. *Br J Ophthalmol*, 77 (1993), pp. 41-45.
34. Schein OD, Glynn RJ, Poggio EC, Seddon JM, Kenyon KR and the Microbial Keratitis Study Group. The relative risk of ulcerative keratitis among users of daily-wear and extended-wear soft contact lenses. *N Engl J Med*, 321 (1989), pp 773-77.