

LES KÉRATITES AMIBIENNES

ACANTHAMOEBA KERATITIS

F. Krifa, S. Khochtali,
F. Ben Hadj Hamida

Service d'Ophtalmologie. CHU Farhat Hached, Sousse. Tunisie

Correspondance :

Dr Krifa Fethi
Service d'Ophtalmologie.
Hôpital Farhat Hached.4000 Sousse
Email : fkrifa@voila.fr

Article reçu le 13/07/2010, accepté le 09/11/2010.

Résumé :

L'objectif de cette revue générale est de décrire les caractéristiques des agents responsables des kératites amibiennes, les principes de leur diagnostic positif ainsi que les modalités de leur traitement.

Les kératites amibiennes surviennent dans la majorité des cas chez des porteurs de lentilles de contact. Les manifestations cliniques peuvent être atypiques. Les prélèvements, en particulier cornéens, permettent de rechercher les amibes par des examens directs et des cultures ou d'identifier leur acide désoxyribonucléique par réaction de polymérisation en chaîne, cette dernière technique étant plus sensible. La microscopie confocale, permet par ailleurs, de rechercher in vivo des kystes amibiens. Le traitement médical, peut être institué en cas de forte suspicion clinique du diagnostic. Les protocoles thérapeutiques de première intention se basent sur l'association de collyres présentant une activité kysticide, le plus souvent un biguanide et une diamidine, pendant plusieurs semaines. Le pronostic visuel est lié à la sévérité du tableau initial et au délai de mise en route d'un traitement efficace. Les séquelles visuelles peuvent être invalidantes d'où l'intérêt de porter un diagnostic précoce.

Mots clés : Kératite, Acanthamoeba, lentilles de contact, pronostic visuel.

Abstract:

The purpose of this review is to describe the biology of acanthamoeba, as well as the diagnosis and the treatment strategies of acanthamoeba keratitis.

This infectious disease often occurs in contact lens wearers. The clinical features may not be specific. A final diagnosis is made on the basis of microscopic examination or culture, or by the identification of the presence of amoebic deoxyribonucleic acid by polymerase chain reaction. The latter shows high specificity and sensibility. Confocal microscopy may, in vivo, find cysts in the cornea. The medical treatment is started after taking tissue for diagnosis. A combination of topical agents that are cysticidal, usually biguanides and diamidines, is usually used during several weeks. The severity of disease at presentation and the interval between the onset of symptoms and effective therapy are the most important factors affecting prognosis. Early diagnosis and appropriate therapy are keys to good final visual acuity.

Key words : Keratitis, acanthamoeba, contact lenses, visual outcome

INTRODUCTION

La kératite amibienne (KA) est une infection cornéenne rare pouvant compromettre la fonction visuelle. Cette maladie est de diagnostic relativement récent, puisque les premiers cas ont été rapportés au début des années 1970 [1]. L'objectif de cette revue générale est de décrire les caractéristiques des agents incriminés, les principes du diagnostic positif ainsi que les modalités thérapeutiques des kératites amibiennes.

AGENTS EN CAUSE

Les amibes retrouvées au cours des KA sont du genre *Acanthamoeba*. Les espèces les plus souvent incriminées sont *Acanthamoeba castellanii*, *Acanthamoeba polyphaga* et *Acanthamoeba hatchetti*. Il s'agit de protozoaires libres ubiquitaires retrouvés dans l'air, le sol et l'eau [2]. Les amibes existent sous deux formes : le trophozoïte et le kyste. Le trophozoïte est la forme active, faisant 25 à 50 µm de long, mobile, se nourrissant de petites algues, de bactéries et d'autres protozoaires et se reproduisant par fission binaire [2, 3].

L'enkystement des trophozoïtes permet à ces organismes de survivre dans un environnement hostile. Le kyste est de taille plus petite que la forme active (15 à 30 µm) et présente une paroi double. Il est résistant à la dessiccation, aux températures extrêmes [4] et à la destruction par certains agents chimiques [5, 6]. Le kyste peut rester viable pendant plusieurs années. En présence de conditions favorables, il retrouve sa forme végétative et répliquative [3, 7].

Les amibes du genre *Acanthamoeba* peuvent provoquer différents types d'infections chez l'homme, dont les encéphalites amibiennes, les dermatites à *Acanthamoeba* et les KA. Les encéphalites et les infections cutanées touchent principalement des sujets immunodéprimés. Par contre, la KA touche essentiellement des patients immunocompétents [8].

EPIDEMIOLOGIE

Incidence : L'incidence de la KA est variable d'un pays à l'autre. Elle est de 0,15 par million d'habitants aux Etats Unis d'Amérique et 1,4 par million d'habitants au Royaume Uni [2]. Les deux premiers cas tunisiens ont été rapportés en 2007 [9]. Trois observations de KA diagnostiquées au centre tunisien, avec des prélèvements positifs ont été récemment décrites [10]. Ces différences dans les incidences rapportées sont en partie liées aux différences des taux de port de lentilles de contact (LC), des habitudes de leur entretien, mais également aux techniques diagnostiques disponibles ou utilisées [11].

Facteurs de risque : Le port de LC est noté dans 85 à 88% de cas de KA [10]. Les amibes sont responsables de 5% des infections cornéennes notées chez les porteurs de LC [12]. Les LC le plus souvent incriminées sont les lentilles souples hydrophiles, avec un plus grand risque avec les lentilles souples à renouvellement fréquent (port journalier et décontamination avec stockage la nuit) par rapport aux lentilles jetables journalières [2, 13, 14]. Une hygiène déficiente des lentilles et/ou de leurs boîtiers, l'utilisation de solutions d'entretien mal adaptées, contaminées ou peu renouvelées sont associées au développement de KA [13, 15, 16, 17].

Les facteurs de risque de KA retrouvés chez les non porteurs de LC sont essentiellement le traumatisme cornéen avec contamination par l'eau ou le sol, le traumatisme par agent végétal, et les antécédents de chirurgie de la cornée [2, 18].

PATHOGENIE

Les trophozoïtes d'*Acanthamoeba* expriment une protéine de virulence, mannose-binding protein (MBP), leur permettant d'adhérer à des mannose-glycoprotéines de la surface cornéenne [19, 20]. Ils produisent par la suite une protéine (mannose-induced protein) à l'origine d'une cytolysse de l'épithélium cornéen. La libération de protéases leur permet de passer à travers la membrane basale de l'épithélium et la couche de Bowman [21]. Ainsi, les trophozoïtes infectent les kératocytes du stroma. Si l'action des protéases se poursuit, la cornée s'amincit et risque de se perforer.

Les manifestations oculaires extra-cornéennes seraient le plus souvent de mécanisme immunologique [22]. Deux explications ont été proposées : les cellules présentatrices d'antigènes de la cornée peuvent activer les lymphocytes T à l'origine d'une réponse inflammatoire au niveau des tissus vascularisés de l'œil, ou les amibes induisent une réaction auto-immune par similarité de certains antigènes [23]. Une propagation des amibes au delà de la cornée a été exceptionnellement rapportée: un cas de kératite associée à une uvéite et une méningo-encéphalite, un cas de rétinite après de multiples greffes de la cornée, un cas d'invasion sclérale et un cas d'endophtalmie à *Acanthamoeba* chez un patient qui présentait un syndrome d'immunodéficience acquise [1, 2, 23].

DIAGNOSTIC

Un diagnostic précoce de KA et une mise en route rapide d'un traitement adéquat sont essentiels pour améliorer le pronostic visuel [2, 24]. Ce diagnostic doit être évoqué devant un terrain prédisposant, des signes cliniques caractéristiques ou devant l'échec d'un traitement anti-bactérien ou anti-herpétique donné en première intention. L'isolement d'un autre germe n'élimine pas une co-infection amibienne. En effet, une infection bactérienne est associée à l'infection amibienne dans environ 20% des cas [3, 25].

Aspects cliniques : La présentation clinique des KA est variable. La symptomatologie est souvent très bruyante au début : photophobie, douleur et larmoiement touchant habituellement un seul œil [2, 3]. Les signes cliniques peuvent être peu spécifiques, évoquant une kératite bactérienne, herpétique ou mycosique [26]. Il peut s'agir de micro-érosions épithéliales, de dépôts granuleux intra-épithéliaux, d'infiltrats sous-épithéliaux ou de kératite dendritiforme.

La kératonévrite radiaire est un aspect presque pathognomonique de KA. Elle correspond à une infiltration autour des nerfs cornéens sous-épithéliaux expliquée par le tropisme nerveux du parasite. Elle est plus fréquente à un stade précoce de l'infection puisqu'elle est retrouvée dans 57% des cas au cours du premier mois d'évolution et dans uniquement 29% des cas après 2 mois [27]. De plus, une diminution de la sensibilité cornéenne peut être objectivée.

Par ailleurs, un infiltrat annulaire avec un defect épithélial sus-jacent se voit plutôt tardivement : 19% des cas avant 1 mois et 83% des cas après 2 mois [27]. Les stades avancés de la KA peuvent se manifester également par un ulcère cornéen central, un abcès cornéen profond (figure 1) avec risque de perforation de la cornée et parfois un hypopion. Le développement de néovaisseaux cornéens reste néanmoins modéré [3, 27]. Chez certains patients, des plaques endothéliales ou une réaction disciforme peuvent provoquer un œdème cornéen [2].

L'inflammation peut toucher la sclère. L'atteinte du segment postérieur reste rare. Il peut s'agir notamment d'œdème

papillaire, de neuropathie optique, d'atrophie optique, de décollement de rétine, d'inflammation choroïdienne ou d'ischémie sévère du segment postérieur [23]

L'évolution de la kératite amibienne est lente et dure plusieurs mois. En l'absence de traitement, des épisodes de rémissions spontanées transitoires peuvent être observés.

Cette évolution peut être grevée de complications aiguës dont les surinfections bactériennes ou mycosiques et les perforations cornéennes. Cette infection grave risque de laisser en place des opacités cornéennes séquellaires et donc une acuité visuelle abaissée [3].



Figure 1 : Œil droit rouge et douloureux avec des abcès cornéens à l'examen ophtalmologique à la lampe à fente, dans le cadre d'une kératite amibienne.

Figure 1 : Red and painful right eye with corneal abscess in the eye examination at the slit lamp as part of an amoebic keratitis.

Examens complémentaires : La recherche d'amibes se fait sur des prélèvements cornéens, mais également au niveau des LC, de leurs boîtiers et des solutions d'entretien utilisées. Cependant, la mise en évidence d'amibes, en dehors de la cornée est à interpréter avec prudence. En effet, elles sont retrouvées au niveau des boîtiers des LC de sujets asymptomatiques, dans 5% des cas [28].

Les prélèvements cornéens sont réalisés avant tout traitement, après une fenêtre thérapeutique de 48 heures ou au cours du traitement pour en évaluer l'effet. L'écouvillonnage cornéen est peu sensible pour isoler les amibes. Le prélèvement est, de préférence, fait par grattage cornéen et doit être réalisé en profondeur et en périphérie de la lésion. Une biopsie cornéenne épithéliale et stromale, plus invasive, est souvent réservée aux cas de forte suspicion diagnostique avec une recherche d'amibes négative sur le produit de grattage [24].

L'examen direct est réalisé souvent après coloration au May-Grünwald-Giemsa. L'imprégnation à la Fungiflora Y de sections congelées d'épithélium cornéen obtenu par grattage a été proposée pour une mise en évidence sensible et rapide des kystes amibiens [29]. Les prélèvements sont également cultivés. La culture doit être maintenue jusqu'à deux semaines [21]. Elle permet un diagnostic positif dans environ la moitié des cas [2, 13].

La Polymerase Chain Reaction (PCR), technique d'amplification de l'acide désoxyribonucléique (ADN), utilisant différentes paires d'amorces, permet une détection sensible et rapide d'*Acanthamoeba* même quand leur nombre est faible [30, 31, 32]. D'après Lehmann et al, sa sensibilité est de 84% et sa spécificité est de 100% [30].

La microscopie confocale est une technique, non invasive (sans

prélèvement), donnant in vivo des images de haute résolution de sections de cornées à différentes profondeurs par rapport à la surface oculaire. Des éléments hyper réfléchifs, dont la forme et la taille sont similaires à celles des kystes amibiens, peuvent être identifiés. La répétition de l'examen en augmente la sensibilité [31]. Cet examen est disponible uniquement dans certains centres.

TRAITEMENT

Le traitement est débuté, après les prélèvements tissulaires, en cas de suspicion clinique de KA. Il vise à éradiquer les trophozoïtes et les kystes amibiens, à contrôler la réponse inflammatoire associée et à préserver ou rétablir une bonne fonction visuelle.

Les trophozoïtes sont sensibles à la majorité des molécules thérapeutiques disponibles (antibiotiques, antiseptiques et antifongiques) dont peu sont efficaces sur les kystes amibiens. Les kystes sont souvent résistants in vitro à la néomycine bien qu'elle soit largement utilisée, ainsi qu'aux Imidazolés [34], aux nouveaux antifongiques : la Caspofungine [35] et dans certains cas le Voriconazole [36, 37]. La colimycine, la polymyxine et la rifamycine ont une faible activité kysticide in vitro [38]. Les biguanides et les diamidines sont les deux familles thérapeutiques actives sur les kystes amibiens.

Par ailleurs, la sensibilité in vitro et le résultat clinique du traitement ne sont pas toujours corrélés, puisque l'éradication des trophozoïtes et des kystes requiert, de plus, une bonne concentration du principe actif au niveau du stroma cornéen. Cette condition n'est pas systématiquement remplie même lorsque la concentration du produit à la surface de la cornée dépasse largement ses concentrations minimales kysticides [34].

Les Biguanides sont représentés essentiellement par le polyhexaméthylène biguanide (PHMB) 0,02%, la chlorhexidine 0,02% et la picloxydine (Vitabact)[®] dont l'activité kysticide in vitro est moins importante [38]. Ce sont des antiseptiques qui attaquent sélectivement les phospholipides membranaires des amibes et provoquent une lyse cellulaire [2, 39]. Le PHMB et la chlorhexidine sont peu toxiques sur l'épithélium cornéen. Les concentrations obtenues par les solutions topiques utilisées dépassent largement les concentrations minimales kysticides de ces molécules. Ces deux produits en collyre sont commercialisés uniquement dans certains pays [40]. Dans d'autres, ils sont préparés en pharmacie hospitalière [38].

PHMB et chlorhexidine ont été indiqués en monothérapie, et ont permis de bien contrôler l'infection amibienne de la cornée, à des taux similaires [40]. Cependant, les protocoles thérapeutiques les plus communément utilisés combinent un biguanide et un autre agent, surtout une diamidine [2].

Les diamidines sont des antiseptiques qui agiraient en perturbant par leur structure cationique bipolaire la perméabilité de la membrane cellulaire, puis après leur passage à l'intérieur de la cellule en se liant à l'ADN. Elles sont représentées surtout par l'hexamidine 0,1% (désoméline)[®] et la propamide isothionate 0,1% (Brolène)[®]. La résistance à leur action kysticide est beaucoup plus fréquente qu'avec les biguanides. De ce fait, leur prescription en monothérapie n'est pas recommandée [2]. Ces molécules ont une bonne tolérance bien qu'une kératopathie toxique soit possible en cas de traitement prolongé par la propamide [27].

L'efficacité des biguanides et des diamidines a été démontrée à travers plusieurs séries [27, 39, 40, 41, 42, 43, 44]. Elder MJ et

al. [30] ont rapporté un taux de guérison clinique de 47% avec un traitement à base de propamide et de néomycine. Les échecs de ce traitement ont bien répondu à l'association topique propamide-PHMB. Duguid IG et al, dans une série de 105 cas de KA, en utilisant une association de PHMB 0,02% et de propamide en collyre a obtenu une acuité visuelle finale supérieure ou égale à 5/10 dans 79% avec 9% de recours à une greffe de cornée [42].

La majorité des protocoles actuellement admis se base sur l'association d'un biguanide et d'une diamidine : par exemple PHMB et l'hexamidine. Le traitement est débuté par des instillations toutes les heures, jour et nuit, pendant 48 heures. Des instillations horaires pendant la journée sont recommandées pendant les 72 heures qui suivent. Une administration des gouttes toutes les deux heures est maintenue pendant 3 à 4 semaines. Ensuite, les collyres anti-amibiens à raison de 4 instillations par jours sont donnés pendant plusieurs semaines [2]. La durée moyenne du traitement est comprise entre 3 et 6 mois [2, 14].

Le rôle des corticoïdes topiques est controversé. Ils sont indiqués en cas d'inflammation persistante. Un traitement anti-amibien doit être administré deux semaines avant leur mise en route, maintenu pendant toute la durée de la corticothérapie puis poursuivi quelques semaines après son arrêt [2].

La prise en charge des KA peut nécessiter le recours à la chirurgie. Le débridement épithélial peut être thérapeutique quand l'infection est encore intra-épithéliale. Il permet, par ailleurs, le prélèvement pour la recherche d'amibes ou d'autres germes associés et une meilleure pénétration intra-cornéenne des collyres [25].

La greffe de la cornée est réalisée à chaud en cas de complication à type de perforation cornéenne ou abcès cornéen fulminant réfractaire aux traitements. Un traitement anti-amibien doit encadrer cette greffe de cornée. Il est maintenu plusieurs semaines après la chirurgie afin de limiter le risque de récurrence sur le greffon, à partir de l'anneau cornéen périphérique du receveur [2].

Actuellement, la greffe de la cornée transfixiante ou lamellaire est surtout indiquée à distance de l'épisode infectieux, en présence d'opacités cornéennes séquellaires, pour améliorer la fonction visuelle [45, 46].

PRONOSTIC

Le délai entre le début des symptômes et la mise en route d'un traitement adapté conditionne le pronostic fonctionnel de l'œil atteint. Quand il est inférieur à 3 semaines, les chances de préservation d'une vision satisfaisante sont meilleures [27, 47]. La sévérité de la maladie initiale a été retenue comme facteur pronostique de la KA. En effet, un infiltrat en anneau et une infiltration stromale profonde sont associés à un pronostic visuel défavorable [48]. Dans la série de Tu et al [48] portant sur 72 yeux présentant une KA, une acuité visuelle finale supérieure ou égale à 8/10 a été notée dans 65,6% des cas.

PREVENTION

Le port de LC, avec une hygiène déficiente, constitue le principal facteur de risque des KA. Cette maladie a été associée à l'utilisation de solutions salines faites à la maison pour nettoyer les LC, à une fréquence de désinfection inférieure à celle recommandée, et à la baignade avec les LC [8]. Les deux principaux types de solutions d'entretien actuellement disponibles, sont les solutions multifonction et les systèmes

oxydants. Les solutions d'entretien ont un niveau d'activité sur les kystes d'*Acanthamoeba* qui est variable et parfois insuffisant. Le pouvoir décontaminant sur les amibes est plus important avec les systèmes oxydants, à condition de respecter les temps de trempage recommandés [8]. Il est donc crucial d'éviter la contamination des lentilles de contact par les amibes: pas de rinçage des lentilles ni de leurs boîtiers à l'eau de robinet, pas de baignade avec les LC, renouvellement quotidien de la solution d'entretien dans les boîtiers de stockage, respect des délais de péremption des solutions d'entretien après ouverture du flacon. De plus, les patients doivent être éduqués, pour consulter rapidement en cas de douleur ou de rougeur oculaire, afin de détecter à temps les cas relevant d'une prise en charge spécifique urgente.

CONCLUSION

La KA est une infection cornéenne rare, par des amibes essentiellement du genre *Acanthamoeba*. Son incidence a augmenté avec l'utilisation croissante des LC. Une mauvaise hygiène et un entretien mal adapté des LC sont souvent en cause. Les porteurs de LC doivent être sensibilisés aux risques infectieux encourus et aux précautions nécessaires pour les éviter. La KA menace le pronostic visuel surtout quant le traitement est institué tardivement, d'où l'intérêt de porter un diagnostic précoce en recherchant des signes cliniques d'orientation et en réalisant les examens complémentaires adéquats.

Références

- Jones DB, Visvesvara GS, Robinson NM: *Acanthamoeba polyphaga* keratitis and *Acanthamoeba* uveitis associated with fatal meningoencephalitis. Trans Ophthalmol Soc UK 1975 : 95 ; 221-32.
- Dart JK, Saw VP, Kilvington S. *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis and treatment update 2009. Am J Ophthalmol 2009 : 148 : 487-99.
- Illingworth CD, Cook SD. *Acanthamoeba* keratitis. Surv Ophthalmol 1998 ; 42: 493-508.
- Biddick CJ, Rogern LH, Brown TJ: Viability of pathogenic and nonpathogenic free-living amoebas in long-term storage at a range of temperatures. Appl Environ Microbiol 1984 ; 48 : 859-60.
- Brandt FH, Ware DA, Visvesvara GS: Viability of *Acanthamoeba* cysts in ophthalmic solutions. Appl Environ Microbiol 1989 ; 55 : 1144-6.
- Ludwig IH, Meisler DM, Rutherford I, et al: Susceptibility of *Acanthamoeba* to soft contact lens disinfection systems. Invest Ophthalmol Vis Sci 1986 ; 27: 626-8.
- Mazur T, Hadas E, Iwanicka I: The duration of the cyst stage and the viability and virulence of *Acanthamoeba* isolates. Trop Med Parasitol 1995 ; 46 : 106-8.
- Johnston SP, Sriram R, Qvarnstrom Y, et al. Resistance of *Acanthamoeba* Cysts to disinfection in multiple contact lens solutions. J Clin Microbiol 2009; 47 : 1458-62.
- Ben Salah S, Makni F, Cheikrouhou F, et al. *Acanthamoeba* keratitis: about the first two Tunisian cases. Bull Soc Pathol Exot 2007 ; 100 : 41-2.
- Fathallah A, Ben Rayana N, Knani L, et al. Les kératites à *Acanthamoeba* sp. A propos de 3 cas diagnostiqués au centre tunisien. Tun Med 2010 ; 88 : 111-15.
- Ibrahim YW, Boase DL, Cree IA. Factors affecting the epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis. Ophthalmic Epidemiol 2007 ; 14 : 53-60.
- Acharya NR, Lietman TM, Margolis TP. Parasites on the rise: a new epidemic of *Acanthamoeba* keratitis. Am J Ophthalmol 2007 ; 144 : 292-3.

13. Radford CF, Minassian DC, Dart JK. *Acanthamoeba* keratitis in England and Wales: incidence, outcome, and risk factors. *Br J Ophthalmol* 2002 ; 86 : 536-42.
14. Radford CF, Lehmann OJ, Dart JK. *Acanthamoeba* keratitis : multicentre survey in England 1992-1996. National *Acanthamoeba* Keratitis Study Group. *Br J Ophthalmol* 1998 ; 82 : 1387-92.
15. Kilvington S, Gray T, Dart J, et al. *Acanthamoeba* keratitis: the role of domestic tap water contamination in the United Kingdom. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004 ; 45 :165-9.
16. Joslin CE, Tu EY, Shoff ME, et al. The association of contact lens solution use and *Acanthamoeba* keratitis. *Am J Ophthalmol* 2007 ; 144 : 169-80.
17. Verani JR, Lorick SA, Yoder JS, et al. National outbreak of *Acanthamoeba* keratitis associated with use of a contact lens solution, United States. *Emerg Infect Dis* 2009 ; 15 : 1236-42.
18. Sharma S, Garg P, Rao GN. Patient characteristics, diagnosis, and treatment of non-contact lens related *Acanthamoeba* keratitis. *Br J Ophthalmol* 2000 ; 84: 1103-8.
19. Jaison PL, Cao Z, Panjwani N. Binding of *Acanthamoeba* to mannose-glycoproteins of corneal epithelium: effect of injury. *Curr Eye Res* 1998 ; 17: 770-6.
20. Panjwani N. Pathogenesis of *acanthamoeba* keratitis. *Ocul Surf* 2010 ; 8 : 70-9.
21. Leher H, Silvany R, Alizadeh H, et al. Mannose induces the release of cytopathic factors from *Acanthamoeba castellanii*. *Infect Immun* 1998 ; 66 : 5-10.
22. Lee GA, Gray TB, Dart JK, et al. *Acanthamoeba* sclerokeratitis: treatment with systemic immunosuppression. *Ophthalmology* 2002 ; 109 : 1178-82.
23. Awwad ST, Heilman M, Hogan RN, et al. Severe reactive ischemic posterior segment inflammation in *Acanthamoeba* keratitis: a new potentially blinding syndrome. *Ophthalmology* 2007 ; 114 : 313-20.
24. Cardine S, Bourcier T, Chaumeil C, Zamfir O, Broderie V, Laroche L. Prise en charge clinique et pronostic des kératites amibiennes :  tude rétrospective à propos de 25 cas. *J Fr Ophthalmol* 2002 ; 25 : 1007-13.
25. Sun X, Zhang Y, Li R, et al. *Acanthamoeba* keratitis: clinical characteristics and management. *Ophthalmology* 2006 ; 113 : 412-6.
26. Agla EK, Cornet M, Pierre-Khan V, et al. Kératites stromales amibiennes :  pid miologie et facteurs pronostiques. *J Fr Ophthalmol* 2005 ; 28 : 933-8.
27. Bacon AS, Frazer DG, Dart JKG, et al. A review of 72 consecutive cases of *Acanthamoeba* keratitis, 1984-1992. *Eye* 1993 ; 7 : 719-25.
28. Leluan P, Liotet S, Batellier L, Chaumeil C. Contamination a rienne et bactérienne des  tuis de lentilles de contact en France ( tude de 32 cas de kératite et de 63 porteurs sains). *Contactologia* 1991 ; 13 : 137-41.
29. Shiraishi A, Kobayashi T, Hara Y, Yamaguchi M, Uno T, Ohashi Y. Rapid detection of *Acanthamoeba* cysts in frozen sections of corneal scrapings with Fungiflora Y. *Br J Ophthalmol*. 2009 ; 93 : 1563-5.
30. Lehmann OJ, Green SM, Morlet N, et al. Polymerase chain reaction analysis of corneal epithelial and tear samples in the diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998 ; 39 : 1261-5.
31. Kandori M, Inoue T, Takamatsu F, et al. Two cases of *Acanthamoeba* keratitis diagnosed only by real-time polymerase chain reaction. *Cornea*. 2010 ; 29 : 228-31.
32. Zamfir O, Yera H, Bourcier T, et al. Diagnostic par PCR des kératites   *Acanthamoeba* spp. *J Fr Ophthalmol* 2006 ; 29 : 1034-40.
33. Mathers WD, Nelson SE, Lane LJ, Wilson ME, Allen RC, Folberg R. Confirmation of confocal Microscopy Diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis using polymerase chain reaction analysis. *Arch Ophthalmol* 2000 ; 118 : 178-83.
34. Elder MJ, Kilvington S, Dart JK. A clinicopathologic study of in vitro sensitivity testing and *Acanthamoeba* keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994 ; 35 : 1059-64.
35. Bouyer S, Imbert C, Daniault G, Cateau E, Rodier MH. Effect of Caspofungin on trophozoites and cysts of three species of *Acanthamoeba*. *J Antimicrob Chemother* 2007 ; 59 : 122-4.
36. Schuster FL, Guglielmo BJ, Visvesvara GS. In-vitro activity of Miltefosine and Voriconazole on clinical isolates of free-living amoebas: *Balamuthia mandrillaris*, *Acanthamoeba* spp., and *Naegleria fowleri*. *J Eukaryot Microbiol* 2006 ; 53 : 121-6.
37. Bang S, Edell E, Eghrari AO, Gottsch JD. Treatment with Voriconazole in 3 eyes with resistant *Acanthamoeba* keratitis. *Am J Ophthalmol* 2010 ; 149 : 66-9.
38. Bourcier T, Chaumeil C. Prescrire les collyres antifongiques et antiamibiens. *J Fr Ophtalmol* 2007 ; 30 : 431-5.
39. Larkin DF, Kilvington S, Dart JK. Treatment of *Acanthamoeba* keratitis with polyhexamethylene biguanide. *Ophthalmology* 1992 ; 99 :185-91.
40. Lim N, Goh D, Bunce C, et al. Comparison of polyhexamethylene biguanide and chlorhexidine as monotherapy agents in the treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *Am J Ophthalmol* 2008 ; 145 : 130-5.
41. Seal D, Hay J, Kirkness C, et al. Successful medical therapy of *Acanthamoeba* keratitis with topical chlorhexidine and propamidine. *Eye* 1996 ; 10 : 413-21.
42. Duguid IG, Dart JK, Morlet N, et al. Outcome of *Acanthamoeba* keratitis treated with polyhexamethyl biguanide and propamidine. *Ophthalmology* 1997 ; 104 : 1587-92.
43. Azuara-Blanco A, Sadiq AS, Hussain M, Lloyd JH, Dua HS. Successful medical treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *Int Ophthalmol* 1997 ; 21 : 223-7.
44. Hargrave SL, McCulley JP, Hussein Z. Results of a trial of combined propamidine isethionate and neomycin therapy for *Acanthamoeba* keratitis. *Brolene Study Group. Ophthalmology* 1999 ; 106 : 952-7.
45. Ficker LA, Kirkness C, Wright P. Prognosis for keratoplasty in *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology* 1993 ; 100 : 105-10.
46. Sony P, Sharma N, Vajpayee RB, Ray M. Therapeutic keratoplasty for infectious keratitis: a review of the literature. *CLAO J* 2002 ; 28 : 111-8.
47. Claerhout I, Goegebuer A, Van Den BC, Kestelyn P. Delay in diagnosis and outcome of *Acanthamoeba* keratitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004 ; 242 : 648-53.
48. Tu EY, Joslin CE, Sugar J, Shoff ME, Booton GC. Prognostic factors affecting visual outcome in *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology*. 2008 ; 115 : 1998-2003.