

НОВИ ТЕРАПЕВТИЧНИ ВЪЗМОЖНОСТИ ПРИ ЛЕЧЕНИЕТО НА АКАНТАМЕБЕН КЕРАТИТ ПРИ ПАЦИЕНТИ, ИЗПОЛЗВАЩИ МЕКИ КОНТАКТНИ ЛЕЩИ

Мирела Димитрова¹, Йордан Йорданов²

¹Очна клиника „Св. Николай Чудотворец“ – Варна

²Университет „Проф. д-р Асен Златаров“, бул. „Проф. Яким Якимов“ 1, Бургас 8010

Резюме: Акантамебният кератит (АК) през последните години се превърна в клинично значим проблем поради широкото използване на контактна корекция, която е основен рисков фактор. АК може да има тежко протичане, водещо до значителна загуба на зрение. Причинява се от вида *Acanthamoeba* от протозои, потенциално водеща до трайна загуба на зрението. АК изисква бърза диагностика и лечение с цел запазване на зрителната острота. Тежестта често е свързана със забавена диагноза и/или неовладяно заболяване. Лечението му представлява значителни трудности поради сходството на клиничните прояви с кератит от друг произход (бактериален, херпесен, гъбичен), което често води до късна диагноза, както и образуването на резистентни към лекарства кисти от патогени. Понастоящем няма универсално специфично химиотерапевтично лекарство, подходящо за монотерапия с Ак. Използва се комбинация от 2 агента (обикновено хлорхексидин и полихексаметилен бигуанид) и е ефективна както срещу трофозоити, така и срещу цисти на *Acanthamoeba*. При необходимост (тежест на лезията, липса на ефективност) е възможно допълнително предписване на диамидини (пропамидин и аналози), микостатици (флуконазол, итраконазол), някои антибиотици (неомицин), йодни препарати (повидон-йод). Използването на кортикостероиди се счита за неоправдано поради риска от стимулиране на прогресията на процеса (поради нарушен локален имунитет, както и провокиране на ексцестиране на патогена). При десцеметоцеле и перфорация на роговицата може да се наложи кератопластика, но нейните резултати са по-лоши от тези при други кератити поради високия риск от усложнения (иридоциклит, вторична глаукома, рецидивиращ АК на трансплантата). В някои случаи са успешни минимално инвазивните операции - механично изстъргване на епитела, пластика с автоконюнктива и криоконсервирана амниотична мембрана, ексимер лазерна фототерапевтична кератектомия, крослинкинг. В бъдеще е възможно да се разработи генна терапия за Ак, както и специфична химиотерапия.

Ключови думи: акантамеба, акантамеба кератит, контактни лещи, проникваща кератопластика, фототерапевтична кератектомия с ексимер лазер, крослинкинг.

NEW THERAPEUTIC OPPORTUNITIES IN THE TREATMENT OF ACANTHAMOEBA KERATITIS IN PATIENTS USING SOFT CONTACT LENSES

Mirela Dimitrova¹, Yordan Yordanov²

¹Eye Clinic "St. Nicholas the Wonderworker" Varna

²University "Prof. Dr. Asen Zlatarov", 1 "Prof. Yakim Yakimov" blvd., 8010 Burgas

Abstract: *In recent years, Acanthamoeba keratitis (AK) has become a clinically significant problem because of the broad use of contact lenses that are the major risk factor of the disease. AK can have a severe course leading to significant vision loss. It is caused by the Acanthamoeba species of protozoa, potentially leading to permanent vision loss. AK requires prompt diagnosis and treatment to preserve visual acuity. Severity is often associated with delayed diagnosis and/or uncontrolled disease. The treatment presents considerable difficulties due to similarity of clinical manifestations of AK to other keratitis (bacterial, herpetic, and fungal), which often leads to late diagnosis and formation of drug-resistant cysts. There is currently no specific drug universally suitable for monotherapy of AK. Instead, 2 agents (usually chlorhexidine and polyhexamethylen biguanide) are used that, if combined, are effective against both trophozoites and cysts. If necessary (severe keratitis, insufficient treatment effect), diamidines (propamidine and its analogs), antifungals (fluconazole, itraconazole), certain antibiotics (Neomycinum), and iodine-containing medications (povidone-iodine) can be prescribed. The use of corticosteroids is considered unjustified because of the risk of rapid progression (due to disturbance of local immunity and also provocation of excystation of the amoebas). The penetrative keratoplasty may be required, especially if a descemetocoele or corneal perforation occurs, however, its results are generally worse than those in other keratitis because of a higher risk of complications (iridocyclitis, secondary glaucoma, AK recurrence in the graft). In some cases, good results are achieved with minimally invasive surgeries, such as mechanical epithelial debridement, conjunctivoplasty and cryopreserved amniotic membrane transplantation, excimer laser phototherapeutic keratectomy, and cross-linking. In the future, gene therapy and specific chemotherapy of AK may well be developed.*

Keywords: *Acanthamoeba, Acanthamoeba keratitis, contact lenses, penetrative keratoplasty, excimer-laser phototherapeutic keratectomy, cross-linking.*

1. Въведение.

Акантамебният кератит (АК) е познат на офталмолозите от 1973 г. [21]. Първоначално заболяването се разглежда като изключително рядка, но особено тежка патология на роговицата. Въпреки това широкото използване на контактни лещи, които са основният провокиращ фактор за развитието на АК, направи проблема клинично значим.

Акантамебният кератит (АК) е роговична инфекция, причинена от вида *Acanthamoeba* от протозои [1]. Той може да доведе до цикатрикси или перфорация на роговицата и ако не се лекува, води до трайна загуба на зрението [2,3]. Симптомите на АК включват чувство за чуждо тяло в окото, болка, зачервяване, замъглено зрение, фотофобия и епифора [4,5].

Acanthamoeba spp. често се срещат в околната среда, особено във водоизточници като чешмяна вода, плувни басейни, горещи вани и почва [6,7]. Открити са най-малко 24 известни вида *Acanthamoeba* [8]. Въпреки че обикновено са безвредни, те могат да причинят инфекции при контакт с окото, Контаминирането обикновено става чрез използване на замърсена вода и при пациенти носещи контактни лещи [1,9,10]. Заболяване може да възникне при всеки, но носенето на контактни лещи изглежда е основен рисков фактор за АК, особено при пациенти носещи меки контактни или ортокератологични лещи [11,12,13].

Повишената информираност за АК доведе до все по-голямо разпознаване на заболяването в световен мащаб [14,15,16,17,18]. Няма глобален систематичен метод за лечение на АК, което води до широко разпространени вариации по света [19]. Повсеместното му разпространение води до вариации в рисковите фактори и микробната епидемиология в различните региони [11,20]. В резултат на това различията в патогенезата на заболяването могат да доведат до регионални различия в ефективността на лечението. Някои от антимикробните средства и диагностични методи не са универсално достъпни [19].

Acanthamoeba съществува в две основни форми по време на своя жизнен цикъл: трофозоит и циста. Като трофозоит, организъмът е в своя активен стадий и може директно да нахлуе в роговицата и да причини инфекция. Цистната форма, въпреки че не е активно инфекциозна, е от решаващо значение за предаването и устойчивостта на *Acanthamoeba* в околната среда. Цистната форма е по-трудна за таргетиране и ликвидиране поради защитната си клетъчна стена, метаболитна неактивност и по-ниска чувствителност към антимикробни средства. Цистите могат да се трансформират обратно в трофозоитна форма и да започнат инфекция, когато условията станат по-благоприятни. Овлавяването на АК може да се окаже трудно, като се имат предвид морфологичните вариации на *Acanthamoeba*, продължителните курсове на лечение, както и трудностите при унищожаване на цистната форма на организма.

Необходимостта от нови възможности за лечение на АК произтича от ограничените настоящи възможности, потенциала за тежки увреждания, развиващите се рискови фактори и предизвикателствата, свързани с резистентността. Иновативните подходи за лечение са от решаващо значение за ефективно управление на инфекцията, предотвратяване на трайни последици и предоставяне на алтернативи на съществуващите лечения. Необходими са персонализирани стратегии за справяне с различни щамове и модели на резистентност. Подобрените интервенции могат да облекчат прекомерната употреба на настоящите терапии и да подобрят резултатите за пациентите.

2. Лечение

Изглежда, че няма нито едно лекарство, което може окончателно да премахне както цистните, така и трофозоитните форми на *Acanthamoeba* [8]. Докато трофозоитната форма се елиминира много по-лесно, цистната форма често е трудна за таргетиране и елиминиране. Ранното разпознаване и бързата диагноза могат да бъдат от решаващо значение при лечението на АК, предотвратявайки засягането на по-дълбоките слоеве на роговицата [12]. Лечението на АК обикновено се състои от антимикробни средства, включително бигуаниди, диамидини, антисептици, антипаразитни средства, антибиотици и противогъбични средства. При резистентно заболяване могат да се използват процедури като трансплантация на амниотична мембрана, фотодинамична терапия или кератопластика.

2.1. Антимикробни агенти

Комбинация от бигуаниди, *Полихексаметилен бигуанид (PHMB)* и *Хлорхексидин* са най-честата първа линия лечение на АК. Те често се използват в комбинация, но могат да се използват и поотделно. *Chlorhexidine* и *PHMB* са изключително ефективни срещу *Acanthamoeba*, но се срещат и рефрактерни случаи. Тези агенти са неспецифични и имат цитотоксичност срещу епителните клетки на роговицата и кератоцитите в клинично значими дози. Най-често използваната концентрация на *PHMB* и *Хлорхексидин* е 0,02%. Клинично значимите дози могат да варират от 0,02 до 0,06% за *PHMB* и 0,02 до 0,2% за *Хлорхексидин*, като употребата на по-високи концентрации се съобщава при рефрактерни

случаи ^[4]. Доскоро относителната ефикасност на различните концентрации беше неизвестна. През 2023 г. Дарт и сътр. публикуват рандомизирано контролирано проучване, което демонстрира, че монотерапията с *РНМВ* 0,08% е ефективна при лечение на АК, със степен на излекуване от >86% и с подобна ефикасност като комбинирана терапия с *РНМВ* 0,02% и *Пропамидин* 0,1%.

Съединения, съдържащи гуанидини, могат да проявят подобни антиакантамебни свойства, като *Полихексаметилен гуанидин (РНМГ)*, *Полиаминопропил бигуанид (РАРВ)* и *Гуазатин*, въпреки че не са тествани клинично. Антимикробни средства, включително диамидини, като *Пропамидин изетионат* и *Хексамидин*, също са използвани. Предвид ограничения достъп до *Пропамидин изетионат*, *Пентамидин изетионат* е обещаващ като алтернатива, като се има предвид, че е показал инхибиторни ефекти върху *Acanthamoeba trophozoites* и цисти *in vitro*.

След неуспешно лечение с лекарства от първа линия, перорален *Милтефозин*, антипаразитен агент, е използван като допълнителна терапия с обещаващи резултати. Разработването на устройства за контактни лещи, отделящи *Милтефозин*, може да позволи продължително освобождаване на медикамента. Трябва да се отбележи, че пероралният милтефозин е свързан с тежки възпалителни реакции и може да изисква съпътстваща, разумна употреба на локални и перорални кортикостероиди. Необходими са допълнителни изследвания, за да се оцени по-добре неговата ефикасност.

Противогъбичните средства също са показали цистицидни ефекти срещу *Acanthamoeba*. *Амфотерицин* и *Натамицин* исторически са били използвани като допълнителна терапия при АК, но напоследък са използвани азолите. Азолите са клас противогъбични средства, които са насочени към стерол 14а деметилазата (СУР51). Тъй като *Acanthamoeba* СУР51 има 31-35% от идентичността на последователността на гъбичния СУР51, азолите могат да имат мощни амебицидни и цистицидни свойства. Те включват имидазоли (*Клотримазол*, *Миконазол* и *Кетоконазол*) и триазоли (*Итраконазол*, *Флуконазол* и *Вориконазол*). Въпреки че няма консенсус относно най-ефективната азолна терапия за АК, се съобщава за прилагане на комбинация от перорални и локални препарати. *Позаконазол* и *Вориконазол* изглежда имат най-голямо проникване през роговицата както при локални, така и при орални форми. Докато локалните препарати трябва да бъдат специално приготвени, оралните форми са лесно достъпни в търговската мрежа. Друг азол, демонстриращ обещаващ ефект при лечението на АК, беше открит в едно *in vitro* проучване, което установи, че *Изавуконазол* е в състояние да убие трофозоитите в рамките на 24 часа и предотвратява трансформацията на неактивни цисти на *Acanthamoeba* в техните активни трофозоитни форми.

2.2. Кортикостероиди

Използването на кортикостероиди (КС) при лечението на АК е предмет на противоречия. Въпреки че стероидите могат да намалят възпалението и да облекчат симптомите, те също носят рискове, включително потенциално обостряне на инфекцията, маскиране на симптомите, увеличаване на риска от пенетрираща кератопластика, влошаване на зрителния резултат и насърчаване на оцеляването на паразита. КС също могат да доведат до усложнения като повишено вътреочно налягане и развитие на катаракта. Решението за използване на кортикостероиди при АК трябва да се вземе внимателно и да бъде съобразено с конкретната клинична ситуация.

Проучване на Рандаг и сътр. от 2019г. при 224 пациенти показва положителна корелация между употребата на кортикостероиди и неуспеха на лечението. Когато употребата на КС е в резултат на погрешна диагноза на АК, тежестта на заболяването може сериозно да се влоши. Въпреки че локалните и пероралните стероиди играят роля в намаляването на тежестта на заболяването от АК чрез намаляване на възпалението, те

трябва да се използват с повишено внимание и при установяване на окончателна диагноза и оптимизирана антиамебна терапия.

2.3. Случаи, резистентни на лечение

След неуспешни резултати с антиамебна терапия са използвани други техники за овладяване на АК. Те включват кератопластика, трансплантация на амниотична мембрана и крослинкинг.

2.3.1. Кератопластика в случай на АК: Кератопластика се обмисля, когато инфекцията е причинила значително увреждане на роговицата и заболяване, което не може да бъде ефективно повлияно само с медикаментозно лечение. Прилага се в напреднали случаи, когато други възможности за лечение са били неуспешни. Проучване на Лаурик и сътр. от 2019г. установява, че пенетриращата кератопластика (РКР) в рамките на 5,3 месеца след първите симптоми на резистентна на терапия АК може да доведе до подобрена зрителна острота (BCVA) в сравнение със забавената хирургия.

Проучване на Ди Заззо и сътр. от 2022г., сравняващо клиничните резултати между терапевтична пенетрираща кератопластика (ТРК), терапевтична дълбока предна ламеларна кератопластика (TDALK) и оптично проникваща кератопластика (ОРК) върху общо 359 АК очи, установява, че ОРК има най-добър клиничен резултат. Трябва да се отбележи, че ОРК се извършва в невъзпалено око за зрителна рехабилитация, след като инфекцията е била овладяна чрез медикаментозна терапия. В ранните стадии на заболяването може да се опита TDALK, докато по-късните или по-прогресивните стадии изискват РКР. Елиптична дълбока предна ламеларна кератопластика също е извършена за фокално намаляване на тежестта на заболяването в ранните етапи.

Важно е да се отбележат следоперативните усложнения, които могат да възникнат след кератопластика за АК. Проучване на Жанг Т. и сътр. от 2023г. при 59 очи установява, че рисковите фактори за рецидив включват употребата на кортикостероиди преди антиамебна терапия, както и наличието на хипопион. Честите следоперативни усложнения включват отхвърляне на присадката, катаракта и глаукома.

Проучване на Паганони Г. и сътр. от 2021г. предлага на нов метод, който включва извършване на тектонична ламелна кератопластика с голям диаметър (TLK), последвана от централна оптично проникваща кератопластика в рамките на ламелния графт за лечение на случаи на непрозрачност на роговицата с васкуларизация и периферно изтъняване, тъй като традиционната кератопластика може да не е така благоприятна за тези пациенти.

2.3.2. Трансплантация на амниотична мембрана: Трансплантацията на амниотична мембрана (АМТ) е допълнителен подход за лечение на АК. При нея парче от амниотична мембрана се поставя върху инфектираната роговица, за да подпомогне заздравяването, облекчи дискомфорта и намали възпалението. Биоактивните компоненти на амниотичната мембрана подпомагат регенерацията на тъканите и предпазват роговицата от по-нататъшно увреждане и цикатризация.

2.3.3. Фотодинамична терапия/Крослинкинг: Терапия с фотоактивиран хромофор (РАСК-СХЛ) е показала ползи като адювантна терапия за лечение на АК. Установено е, че РАСК-СХЛ с рибофлавин и бенгал роз проявява значителна антиамебна активност. Лечението с РАСК-СХЛ с висок интензитет може също така да води до облекчаване на болката, реепителизация и елиминиране на *Acanthamoeba*. В друго проучване (Кристиан К. и сътр., 2019г.) РАСК-СХЛ спира стапяненето на роговицата при АК.

3. Обсъждане

АК може да има опустошителни последици за очите и често е труден за лечение. Тъй като диагностицирането може да бъде трудно в ранните етапи, АК може да остане нелекуван или неоптимално лекуван до диагностицирането. Нито една настояща стратегия за лечение не може напълно да се справи с тежкия на АК. Появата на нови методи на лечение има потенциала да повлияе значително на справянето с АК.

Последните постижения в терапевтичните възможности за АК имат потенциала да подобрят резултатите при АК с по-достъпно и базирано на доказателства лечение. Стандартната локална терапия за АК остава в застой в продължение на десетилетия до скоро, когато използването на по-нови агенти с антиамебни свойства показват обещаващи резултати. Пероралният *Милтефозин* и локалните и пероралните азолови противогъбични средства са показали клиничен потенциал срещу трофозоити и цисти, въпреки че са необходими допълнителни проучвания. Разработването на локални формули и системи за администриране на лекарства с контролирано освобождаване, които могат адекватно да проникнат през роговицата, има перспективата за подобряване на резултатите от лечението чрез по-голяма бионаличност на лекарството, устойчиви терапевтични нива и намалена честота на дозиране.

Появата на РАСК-СХЛ като адювантна терапия за АК представлява потенциална терапевтична стратегия с подобрение в протоколите за лечение.

Необходими са дългосрочни проучвания, оценяващи ефикасността и безопасността на нововъзникващите лечения, за да се установят основи на доказателства терапевтични насоки. Икономическата осъществимост и достъпност на тези по-нови методи на лечение трябва да се вземе предвид, за да се гарантира тяхната широко разпространена приложимост.

4. Изводи

Броят на случаите на АК се увеличава в световен мащаб всяка година поради широкото използване на контактни лещи за корекция на рефракционни грешки и за козметични цели. Първоначално офталмолозите не разполагаха с лекарства за борба с тази инфекция и терапевтичната проникваща кератопластика беше практически единственият алтернативен метод, то сега лекарствената терапия за АК е възможна и широко използвана. Най-често срещана е комбинираната употреба на бигуаниди - хлорхексидин и полихексаметилен, които имат изразен амебициден ефект (ефективен срещу трофозоити и кисти) и имат ниска токсичност. При необходимост (недостатъчна ефективност, развитие на токсични реакции) е възможно да се използват и други средства - пропамидин, флуконазол, неомицин, повидон-йод. Използването на кортикостероиди при АК се счита за нежелателно поради възможността за повишаване на активността на инфекциозния процес (намален локален имунитет, повишена ексцитация на амеби, поява на резистентност).

Терапевтична кератопластика е средство за избор, ако няма ефект от максимално възможната терапия, както и в случай на развитие на перфорация на роговицата или нейната заплаха, като се има предвид повишеният риск от усложнения, рецидив на АК и по-лоши функционални резултати, отколкото при други заболявания на роговицата. При повърхностни форми на АК е възможно прилагането на минимално инвазивна хирургия - корнеална абразия, конюнктивално покритие, което може да се комбинира с поставяне на криоконсервирана амниотична мембрана. Перспективите за използване на крослинкинг и ексимерна лазерна фототерапевтична кератектомия, които показаха първите обещаващи резултати, изискват допълнителни изследвания. В момента се

разработват методи за генна терапия на АК, както и специфични антиакантамебни лекарства.

Информираността на лекарите и пациентите, съчетана с ранна диагностика на заболяването, се счита за път към по-добри резултати. Патогенезата и клетъчните процеси на развитие на инфекция с акантамеба обаче все още не са напълно известни и изискват допълнителни изследвания.

Библиография

1. Marciano-Cabral F., Cabral G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003;16:273–307. doi: 10.1128/CMR.16.2.273-307.2003. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
2. Durand M.L., Barshak M.B., Chodosh J. Infectious Keratitis in 2021. *JAMA.* 2021;326:1319–1320. doi: 10.1001/jama.2021.0424. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
3. Page M.A., Mathers W.D. *Acanthamoeba* Keratitis: A 12-Year Experience Covering a Wide Spectrum of Presentations, Diagnoses, and Outcomes. *J. Ophthalmol.* 2013;2013:670242. doi: 10.1155/2013/670242. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
4. Dart J.K.G., Saw V.P.J., Kilvington S. *Acanthamoeba* keratitis: Diagnosis and treatment update 2009. *Am. J. Ophthalmol.* 2009;148:487–499.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2009.06.009. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
5. Bacon A.S., Frazer D.G., Dart J.K.G., Matheson M.M., Ficker L.A., Wright P. A review of 72 consecutive cases of *Acanthamoeba* keratitis, 1984–1992. *Eye.* 1993;7:719–725. doi: 10.1038/eye.1993.168. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
6. Visvesvara G.S., Moura H., Schuster F.L. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2007;50:1–26. doi: 10.1111/j.1574-695X.2007.00232.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
7. He Y.G., McCulley J.P., Alizadeh H., Pidherney M., Mellon J., E Ubelaker J., Stewart G.L., E Silvany R., Niederkorn J.Y. A pig model of *Acanthamoeba* keratitis: Transmission via contaminated contact lenses. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1992;33:126–133. [PubMed] [Google Scholar]
8. Cabrera-Aguas M., Khoo P., Watson S.L. Infectious keratitis: A review. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2022;50:543–562. doi: 10.1111/ceo.14113. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
9. Visvesvara G.S. Amebic meningoencephalitis and keratitis: Challenges in diagnosis and treatment. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2010;23:590–594. doi: 10.1097/QCO.0b013e32833ed78b. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
10. Van Klink F., Alizadeh H., He Y., A Mellon J., E Silvany R., McCulley J.P., Niederkorn J.Y. The role of contact lenses, trauma, and Langerhans cells in a Chinese hamster model of *Acanthamoeba* keratitis. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1993;34:1937–1944. [PubMed] [Google Scholar]
11. de Lacerda A.G., Lira M. *Acanthamoeba* keratitis: A review of biology, pathophysiology and epidemiology. *Ophthalmic Physiol. Opt.* 2021;41:116–135. doi: 10.1111/opo.12752. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
12. Hassan F., Bhatti A., Desai R., Barua A. Analysis from a year of increased cases of *Acanthamoeba* Keratitis in a large teaching hospital in the UK. *Contact Lens Anterior Eye.* 2019;42:506–511. doi: 10.1016/j.clae.2019.04.009. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
13. Li W., Wang Z., Qu J., Zhang Y., Sun X. *Acanthamoeba* keratitis related to contact lens use in a tertiary hospital in China. *BMC Ophthalmol.* 2019;19:202. doi: 10.1186/s12886-019-1210-2. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

14. Alves D.d.S.M.M., Gonçalves G.S., Moraes A.S., Alves L.M., Neto J.R.D.C., Hecht M.M., Nitz N., Gurgel-Gonçalves R., Bernardes G., de Castro A.M., et al. The first Acanthamoeba keratitis case in the Midwest region of Brazil: Diagnosis, genotyping of the parasite and disease outcome. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2018;51:716–719. doi: 10.1590/0037-8682-0010-2018. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
15. Zbiba W., Abdesslem N.B. Acanthamoeba keratitis: An emerging disease among microbial keratitis in the Cap Bon region of Tunisia. *Exp. Parasitol.* 2018;192:42–45. doi: 10.1016/j.exppara.2018.05.005. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
16. Nasef M.H., El Emam S.Y., ElShorbagy M.S., Allam W.A. Acanthamoeba Keratitis in Egypt: Characteristics and Treatment Outcomes. *Clin. Ophthalmol.* 2021;15:1339–1347. doi: 10.2147/OPHTH.S301903. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
17. Megha K., Thakur A., Khurana S., Sehgal R., Gupta A. Acanthamoeba keratitis: A 4-year review from a tertiary care hospital in North India. *Nepal. J. Ophthalmol.* 2020;12:83–90. doi: 10.3126/nepjoph.v12i1.24769. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
18. Orosz E., Kriskó D., Shi L., Sándor G.L., Kiss H.J., Seitz B., Nagy Z.Z., Szentmáry N. Clinical course of Acanthamoeba keratitis by genotypes T4 and T8 in Hungary. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 2019;66:289–300. doi: 10.1556/030.66.2019.008. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
19. Wespiser S., Fabacher T., Gomart G., Sauer A., Bourcier T. Practice patterns in the management of fungal and acanthamoeba keratitis: A five-continent survey. *Acta Ophthalmol.* 2021;99:e1250–e1251. doi: 10.1111/aos.14747. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
20. Shah A., Sachdev A., Coggon D., Hossain P. Geographic variations in microbial keratitis: An analysis of the peer-reviewed literature. *Br. J. Ophthalmol.* 2011;95:762–767. doi: 10.1136/bjo.2009.169607. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
21. Jones DB, Visvesvara GS, Robinson NM. Acanthamoeba polyphaga keratitis and Acanthamoeba uveitis associated with fatal meningoencephalitis. *Trans Ophthalmol Soc UK.* 1975;95:221-232.