

真菌性角膜炎的临床研究进展

潘纪阳¹ 陈颖欣²

1. 大连医科大学北部战区总医院研究生培养基地 辽宁大连 116000

2. 北部战区总医院 辽宁沈阳 110016

摘要：真菌性角膜炎是我国角膜盲的重要原因。与其他感染性角膜炎相比，其预后明显更差。真菌性角膜炎在诊断和治疗方面存在诸多问题，包括实验室诊断困难、抗真菌药物的穿透性和生物利用度不足等。近年来，随着实验室检测技术、影像学诊断技术和治疗方法在不断更新进步，真菌性角膜炎的愈后也在不断提高。因此，总结近年来相关研究成果，就真菌性角膜炎的实验室及影像学诊断、药物及手术治疗等方面的新进展进行综述，为真菌性角膜炎的诊断和治疗提供参考依据。

关键词：真菌；角膜溃疡；角膜炎；药物；手术

真菌性角膜炎 (fungal keratitis, FK) 是一种由真菌引起的发病率、致盲率极高的感染性角膜炎，占有感染性角膜炎的 1%~45%，其在发展中国家的发病率最高，也是我国角膜盲首要病因。其主要的危险因素常见于植物外伤史、慢性眼表疾病、局部或全身糖皮质激素的滥用和长期佩戴角膜接触镜等，近些年真菌性角膜炎的发生率呈逐年上升的趋势。一项回顾性研究显示，镰刀菌属是我国真菌性角膜炎的主要病因^[1]。真菌性角膜炎患者常见的临床表现为视力下降、眼红、眼痛、畏光、流泪和眼部分泌物增多等症状，视力下降的程度主要取决于病灶在角膜上浸润的位置和大小、分泌物的存在与前房炎症反应的程度。角膜溃疡可能会导致角膜穿孔和溶解，随着感染的进展可能会导致眼压升高引起继发性的青光眼和视神经的损害，感染向眼球内层延伸引起眼内炎的风险大大提高，向周围扩散也可能导致巩膜炎和全眼炎的发生。因此，真菌性角膜炎病因的预防、快速准确的诊断及早期及时的治疗显得尤为重要。

1 诊断方法

通过对高度怀疑真菌性角膜炎的患者早期进行准确的诊断，为真菌性角膜炎的治愈提供了前提条件。准确的诊断需要以临床表现为依据，实验室检查作为支撑。

1.1 临床特征

真菌性角膜炎的初步临床诊断是根据主要的易感因素，如植物引起的角膜损伤，接触镜的使用和局部/全身抗生素或类固醇的长期治疗，典型的临床表现包括白色浸润物，内皮斑，前房积脓和角膜溃疡，具有苔垢样外观，锯齿状边缘

和卫星灶。Hoffman 等^[2]报道根据与 FK(锯齿状边缘,苔垢样外观,植物外伤史,无鼻泪管阻塞性疾病(NLDO))相关的 4 个临床特征进行评分,如果只有一种体征出现,FK 的概率为 30.1%,而如果四种临床特征都存在,FK 的概率为 96.3%。虽然镜检和培养仍然是诊断的金标准,但利用这些临床体征可以帮助临床医生在没有获得实验室检验结果或在镜检和培养结果为阴性的情况下,向假定的病原学提供指导,从而及时开始适当的治疗。

1.2 传统的实验室诊断方法

传统的诊断方法主要是刮取角膜组织后对临床标本进行染色和培养。角膜病灶的刮除有助于真菌的减灭还能通过对溃疡组织清创从而提高药物的渗透。如果有内皮斑或者深层次的角膜炎,可能还需要前房抽吸。目前真菌性角膜炎的诊断主要依靠真菌培养,该方法对真菌种类的鉴定较为准确。

1.2.1 角膜刮片的染色镜检

用于检测真菌的菌株有革兰氏、吉姆萨(Giemsa)、10% 氢氧化钾(KOH)湿片、台盼蓝、荧光钙白(CFW)、乌洛托品银和过碘酸希夫(PAS)染色。快速染色法是一种直接检测方法,相对简单、快速、价格低廉。KOH 法是真菌病原体直接显微检测最常用的方法之一。浓度为 10~20% 的 KOH 可用于直接显微镜鉴定真菌生长情况。KOH 的作用是溶解人体组织,留下耐碱的结构,从而使真菌可视化。该方法的灵敏度为 72%~91%。但不同人群的敏感程度可能存在较大差异,而个体的镜检经验、角膜溃疡大小和取材

量均可影响该方法的敏感性。

1.2.2 病原菌的分离培养

病原菌的培养仍是诊断真菌性角膜炎的金标准。最常用的培养基为沙氏葡萄糖琼脂 (22 ~ 25 °C 培养) 和血琼脂 (37 °C 孵育)。该方法的优势在于培养的结果具有高度的特异性, 同时缺点有灵敏度低, 培养耗时长和由于标本量不足、取材部位不适宜、既往使用抗生素、角膜深层受累等原因造成结果的假阴性等。传统的实验室检验方法由于其在诊断真菌性角膜炎的准确性和时效性上存在明显的局限性。近年来, 许多研究者正在探索开发更快速、敏感的新型诊断方法。

2 新的实验室诊断方法

2.1 共聚焦显微镜 (IVCM)

IVCM 作为一种非侵入性影像学检查方式, IVCM 的优点包括非侵入性、能够实时快速地识别致病生物并确定感染的深度。这可以指导抗菌药物治疗和协助监测感染。该方法对 FK 诊断阳性率为 91%^[3], IVCM 的缺点包括需要有经验的技师、病人配合、高昂的费用和运动伪影的存在。同时相较于传统病原体的分离培养, IVCM 无法区分不同类型的丝状真菌, 目前仍然不能替代传统实验室检查方法。

2.2 人工智能在真菌性角膜炎中的应用

人工智能 (AI) 是一项很有前途的技术, 可能在所有类型感染性角膜炎的诊断、随访和管理中发挥巨大作用。目前主流的人工智能类型是机器自主学习, 它通过建立算法从数据中获取特征来定义数据中所含的信息。对裂隙灯眼前段照相、IVCM 图像等特征进行提取及自动识别, 可以极大地减少人力, 同时可以客观评价疾病病情。Saini 等^[4]开发了一个基于 AI 的模型, 将角膜溃疡正确分类为真菌和细菌类别。细菌性角膜溃疡的特异性为 76.5%, 真菌性角膜溃疡的特异性为 100%, 准确率为 90.7%, 明显优于临床医生的预测。在过去的几年里, 已经开发了深度学习算法来识别 IVCM 图像上的真菌菌丝。AI 在眼前节疾病的应用上还处于起步阶段, 对于该方法的局限性可能在于眼前节成像方法的标准化比眼底成像更困难。

3 药物治疗

3.1 局部和全身治疗

真菌性角膜炎的治疗旨在根除真菌感染, 最大程度的减少角膜损伤, 并保留视功能。目前, 有三类抗真菌剂用于治疗 FK: 多烯类 (如那他霉素、两性霉素 B) 和三唑类 (如

氟康唑、酮康唑、伏立康唑)。那他霉素是唯一被 FDA 批准用于眼部真菌感染的抗真菌制剂, 临床应用广泛。Prajna 等人^[5]进行的真菌性溃疡局部治疗试验 I (MUTT I) 评价了局部那他霉素和局部伏立康唑治疗丝状真菌性角膜炎的临床结果, 发现那他霉素治疗显示出临床和微生物学结果的显著改善, 特别是针对镰刀菌属。Spierer 等^[6]比较了那他霉素 (5%)、两性霉素 B (0.15%)、氟康唑 (0.2%) 和伏立康唑 (1%) 对人角膜念珠菌属分离物的体外抗真菌活性。结果表明, 100% 的样品在用那他霉素和两性霉素 B 处理后显示出生长抑制, 而氟康唑和伏立康唑的样品总体抑制率分别为 19.6% 和 85%。对于念珠菌性角膜炎, 那他霉素和两性霉素 B 是首选药物, 伏立康唑可能需要更高的浓度来抑制念珠菌治疗念珠菌性角膜炎。那他霉素滴眼液对于真菌性角膜炎有明显治疗作用, 但其相对分子质量大、组织穿透性差, 还可引起结膜水肿、点状角膜炎不良反应; 两性霉素 B 也因其不良反应, 临床使用受限。在非镰刀菌感染的情况下, 伏立康唑比那他霉素可能具有类似或更好的结果, 尤其是在没有上皮缺损的情况下, 因为伏立康唑分子比那他霉素小得多, 具有更好的穿透能力。

全身抗真菌药物, 包括酮康唑、伊曲康唑、氟康唑和伏立康唑, 用于克服局部用药间歇给药的局限性。Prajna 等^[7]进行的真菌性溃疡 MUTT II 试验评估了在常规局部抗真菌药物治疗丝状真菌性角膜炎的基础上, 增加口服伏立康唑对比安慰剂的疗效。该研究显示, 口服伏立康唑并没有获得更好的疗效, 而且伏立康唑组不良事件的发生率明显高于安慰组。然而来自 MUTT-2 试验的一项子分析显示, 镰刀菌角膜炎可能受益于在局部那他霉素的基础上加入口服伏立康唑^[8]。因此, 口服抗真菌药物在真菌性角膜炎中的作用尚无定论, 需要更多的随机对照试验来更清晰的了解。

3.2 靶向给药

抗真菌药物的靶向给药 (包括基质内、前房内和玻璃体腔注射) 可以将药物精确地递送到角膜, 优化治疗效果, 同时尽量减少全身暴露。靶向给药的优点包括增强感染部位的疗效, 降低全身毒性, 提高患者的依从性。

3.2.1 基质内注射

伏立康唑基质内注射浓度为 50 μg/0.1ml, 选择未感染的角膜透明区斜行进针至角膜深基质层, 通常在溃疡周围多点给药, 进而在溃疡周围达到较高药物浓度, 注射总量

以 0.1ml 为宜。白利广等^[9]研究表明在局部滴眼液治疗基础上辅助 基质内注射伏立康唑对不同程度的真菌性角膜炎的愈合均有明显益处。然而，Narayana 等人^[10]的一项随机对照研究评估了在中重度真菌性角膜炎的治疗方案中加入 1% 伏立康唑基质内治疗的有效性，研究发现与局部应用 5% 那他霉素单药相比，并没有明显益处，他们描述了许多并发症，例如注射可能会增加前房积脓的水平或增加青光眼和穿孔的风险。关于最佳给药的剂量、间隔时间和注射的次数，仍需要进一步临床观察和研究。

3.2.2 前房内注射

前房内注射抗真菌药物对严重的基质深层浸润的真菌性角膜炎可能有效，注射应在手术室严格无菌条件下进行。还可以进行前房冲洗，以清除渗出物和前房积脓，但如果感染涉及晶状体前囊膜，冲洗过程中要更加谨慎，以避免囊膜损伤并导致白内障的形成。大部分研究使用的两性霉素 B 剂量为 5 ~ 15 $\mu\text{g}/0.1\text{mL}$ ，部分研究使用的伏立康唑剂量为 50 ~ 100 $\mu\text{g}/0.1\text{mL}$ 。Sharma 等人^[11]研究发现应用两性霉素 B 进行前方冲洗后，超过 80% 的溃疡灶发生了不同程度的愈合。然而，也有一项随机对照试验显示，在局部和口服抗真菌药物的常规治疗中加入前房注射两性霉素 B，在治疗成功率、愈合时间和最终视力方面没有任何益处。

3.2.3 玻璃体腔内注射

当真菌性角膜炎蔓延引起眼内炎时，玻璃体腔抗真菌药物的注射可能是一个有效的治疗手段。尽管美国感染病学学会 2008 年指南建议口服和玻璃体腔注射伏立康唑作为曲霉菌性眼内炎的替代治疗，但许多学者推荐伏立康唑作为一线玻璃体腔药物。Wan 等^[12]对 37 例真菌性角膜炎导致的眼内炎经穿透性角膜移植术、玻璃体切割术或玻璃体腔注射抗真菌药物（伏立康唑或两性霉素 B）中的 30 眼治愈。尚还需更多的临床研究来证明玻璃体腔注射抗真菌药物的有效性和安全性。

4 角膜炎 - 角膜胶原交联光激活生色团 (PACK-CXL)

角膜胶原交联 (CXL) 通过加强角膜基质中胶原束之间的化学键来加强角膜生物力学的稳定性从而阻止圆锥角膜的进展。PACK-CXL 治疗真菌性角膜炎的机制至少有三种：抗菌、抗炎作用和增加角膜组织对酶降解的抵抗力。已有多项研究表明 PACK-CXL 在真菌性角膜炎治疗中的有效性，特别是在病程早期联合抗真菌药物。然而，PACK-CXL

对深部的真菌性角膜溃疡的疗效似乎还存在争议，潘士印等^[13]发现角膜交联术联合那他霉素滴眼液对于真菌性角膜炎的治疗，其获益远远大于单独局部应用那他霉素。虽然 PACK-CXL 在过去几年中得到了广泛的研究，但其方案仍然需要许多修改，以优化紫外线能量水平、照射时间和核黄素浓度。

5 手术治疗

真菌性角膜溃疡即使得到了适当的治疗也可能发生进展，从而引起角膜穿孔。诊断的不及及时和不当的治疗可能导致并发症发生的几率增加。因此，手术仍是治疗真菌性角膜炎的重要方法。目前手术方式主要包括：角膜移植术、羊膜移植术以及结膜瓣遮盖术。治疗性角膜移植术 (TKP) 是最为常用的术式，该方法可能对控制感染、防止更严重的并发症和恢复眼球的解剖完整性至关重要。Mundra 等^[14]通过对 198 例真菌性角膜炎的患者行穿透性角膜移植术进行回顾性分析发现，真菌感染复发风险与浸润物大小有关，而与真菌种类无关。治疗性角膜移植术后，除非临床上感染控制良好，否则应避免局部使用糖皮质激素。激素会通过增加真菌的侵袭性、减少中性粒细胞的浸润和抑制中性粒细胞外陷阱 (NETs) 从而加重真菌性角膜炎，术后缺乏合适的抗炎药物，限制了患者病情康复。大气泡深板层角膜移植术 (DALK) 目前被认为对不涉及内皮层的角膜疾病患者的首选，具有良好的临床结果。然而，大气泡 DALK 目前仍存在相当大的风险，即术中后弹力层 (DM) 的大穿孔。空气辅助手法深板层角膜移植术 (TDALK) 是一种通过向更浅的基质内空气注射进行 DALK 的技术，已有研究表明，TDALK 可能是大气泡 DALK 的替代手术，因为它可以提供动态视野，并且可以保留视力潜力，同时降低术中 DM 穿孔的风险^[15]。但由于 TDALK 术式样本量较少，目前并不能替代大气泡 DALK。

6 结论

综上所述，真菌性角膜炎是致盲的主要原因之一。其治疗仍然是眼科医生所面临的严峻挑战。由于缺乏快速的诊断方法和有效的抗真菌药物，导致其预后较差。近年来，较新的研究工具，如 PCR、IVCM 和人工智能诊断，有助于缩短从临床怀疑到确切诊断之间的时间间隔。在真菌性角膜炎的临床治疗方面，丝状真菌特别是镰刀菌属，首选 5% 那他霉素，非镰刀菌属首选 1% 伏立康唑。对于难治性向深

部浸润的FK联合基质内、前房内注射伏立康唑和两性霉素B会带来更好的收益,当FK伴随真菌性眼内炎的患者选择玻璃体腔注射伏立康唑也是一种有效的辅助治疗手段。这些研究将为眼科医生提供更多的治疗选择,为患有真菌性角膜炎的患者带来希望。

参考文献:

- [1]PEI Y, CHEN X, TAN Y, 等. Microbiological Profiles of Ocular Fungal Infection at an Ophthalmic Referral Hospital in Southern China: A Ten-Year Retrospective Study[J/OL].*Infection and Drug Resistance*,2022(15):3267–3276.
- [2]HOFFMAN J J, YADAV R, SANYAM S D, 等. Microbial Keratitis in Nepal: Predicting the Microbial Aetiology from Clinical Features[J/OL].*Journal of Fungi*,2022,8(2): 201.
- [3]蓝倩倩,陈琦,陈丽妃,等.共聚焦显微镜在真菌性角膜炎诊治中的临床应用[J].*国际眼科杂志*,2019,19(3):523–526.
- [4]SAINI J S,JAINA K, KUMAR S, 等. Neural network approach to classify infective keratitis[J/OL].*Current Eye Research*,2003, 27(2):111–116.
- [5]PRAJNA N V, KRISHNAN T, MASCARENHAS J, 等. The Mycotic Ulcer Treatment Trial[J]. *JAMA ophthalmology*,2013,131(4):422–429.
- [6]SPIERER O, DUGAR J, MILLER D, 等. Comparative antifungal susceptibility analysis of *Candida albicans* versus non-*albicans Candida* corneal isolates[J/OL]. *Cornea*,2015,34(5):576–579.
- [7]PRAJNA N V, KRISHNAN T, RAJARAMAN R, 等. Effect of Oral Voriconazole on Fungal Keratitis in the Mycotic Ulcer Treatment Trial II(MUTT II):A Randomized Clinical Trial[J/OL]. *JAMA ophthalmology*,2016,134(12):1365–1372.
- [8]PRAJNA N V,KRISHNAN T RAJARAMAN R, 等. Adjunctive Oral Voriconazole Treatment of *Fusarium* Keratitis:A Secondary Analysis From the Mycotic Ulcer Treatment Trial II[J/OL].*JAMA ophthalmology*,2017,135(6):520–525.
- [9]白利广,王峰.角膜基质内注射不同浓度伏立康唑治疗真菌性角膜炎[J/OL].*眼科新进展*,2020,40(5): 466–469.
- [10]NARAYANA S, KRISHNAN T, RAMAKRISHNAN S, 等. Mycotic Antimicrobial Localized Injection: A Randomized Clinical Trial Evaluating Intrastromal Injection of Voriconazole[J/OL]. *Ophthalmology*,2019,126(8):1084–1089.
- [11]SHARMA B, KATARIA P, ANAND R, 等. Efficacy Profile of Intracameral Amphotericin B. The Often Forgotten Step[J/OL]. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology (Philadelphia, Pa.)*,2015,4(6):360–366.
- [12]WAN L, CHENG J, ZHANG J, 等. RISK FACTORS, TREATMENT STRATEGIES, AND OUTCOMES OF ENDOPHTHALMITIS ASSOCIATED WITH SEVERE FUNGAL KERATITIS[J/OL]. *Retina*,2019,39(6):1076–1082.
- [13]潘士印,安娜,肖湘华,等.角膜胶原交联方法联合那他霉素抗真菌效果研究[J].*国际眼科杂志*,2019,19(1):14–20.
- [14]MUNDRA J, DHAKAL R, MOHAMED A, 等. Outcomes of therapeutic penetrating keratoplasty in 198 eyes with fungal keratitis[J/OL].*Indian Journal of Ophthalmology*, 2019, 67(10): 1599–1605.
- [15]UCHIO E, SAEKI Y, TSUKAHARA-KAWAMURA T, 等. Clinical outcome after air-assisted manual deep anterior lamellar keratoplasty for fungal keratitis poorly responsive to medical treatment[J/OL].*Clinical Ophthalmology (Auckland, N.Z.)*,2019(13):1913–1919.

作者简介:

潘纪阳(2000—),男,满族,大连医科大学2023级专业硕士研究生,眼科学。